



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA- UESB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE  
E CONSERVAÇÃO

**Avaliação da influência das atividades agrícolas nas características de méis de *Apis mellifera* produzidos no Estado da Bahia utilizando Cromatografia de Íons e Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite**

**MILENA MENDES DE SOUZA**

Jequié – BA

2014

MILENA MENDES DE SOUZA

**Avaliação da influência das atividades agrícolas nas características de méis de *Apis mellifera* produzidos no Estado da Bahia utilizando Cromatografia de Íons e Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.

**Orientador:** Prof<sup>o</sup> Dr. José Soares dos Santos

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Lucia Pires dos Santos

Jequié – BA

2014

## **Dedico**

A minha família maravilhosa, em especial  
ao meu querido filho Lucas, pelo incentivo,  
carinho e amor incondicional.

PPGGGBC

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus e a minha grande e linda família, que estão presente em todos os momentos da minha vida, me apoiando, torcendo e acima de tudo acreditando em mim.

A minha Mãe, Hélia, meu porto seguro, agradeço por todo o seu amor e dedicação, e que sem você eu não teria chegado até aqui. Ao meu pai, Ivan, pelo amor e incentivo de sempre.

Ao meu filho, **LUCAS**, o anjo em minha vida, por ter feito de mim uma mulher sonhadora e guerreira e principalmente pela paciência e pelo amor incondicional de toda uma vida e durante a realização desse curso.

Agradeço imensamente aos meus tios, tias, cunhadas, primos e primas que tanto amo, pelo carinho, incentivo, e pela torcida de sempre, em especial a Laillinha por todo seu apoio e pela ajuda constante, a Laís e tia Lina nos cuidados com Lucas sempre que eu precisava e a meu tio Neto que sempre me incentivou e mostrou a importância desse momento em minha vida. Aos meus queridos irmãos Alisson e Ivan, por me ensinarem o verdadeiro sentido do amor e da amizade e estarem sempre torcendo pela minha vitória.

Agradeço aos meus orientadores José Soares e Maria Lucia pela confiança, que durante todos esses anos no laboratório (e não foram poucos, rs), na qual fizeram com que eu me sentisse sempre em casa, e não pouparam dedicação ao meu amadurecimento e formação profissional.

Ao professor Douglas Gonçalves pelo carinho, incentivo e colaboração de sempre.

Aos amigos do laboratório de Química Analítica, que me ensinaram o verdadeiro significado de grupo, e principalmente pela amizade que será eterna. Agradeço primeiramente a Yane pelo companheirismo e por tudo que vivemos juntas nessa jornada, das nossas viagens à Jequié que vão ficar sempre em nossas lembranças. À Kaique e Karol pela ajuda constante e amizade sincera. A Dui (Luciene), Priscila, Milena Braga e Paloma pelo incentivo, apoio e alegria de sempre. Thales, Marlon (meu companheiro do mel, rs) Wilson, Ezio, Joice, Luiza, Welline, Caio, Kátia, Thalita e Mariana pelo carinho e apoio constante. Jamais esquecerei os nossos lanches alegres e felizes que faziam com que nossas tardes fossem sempre mais prazerosas.

Aos apicultores da região em especial a Artur Pereira Sena, um dos pioneiros em nossa região que até hoje esta em plena atividade demonstrando todo amor a essa atividade.

Ao apicultor Jordans pela disponibilização de amostras e por também demonstrar toda a sua dedicação à apicultura.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, pela bolsa e oportunidade mais uma vez concedida para meu aperfeiçoamento profissional.

Enfim! A todos vocês, que hoje vibram em poder dividir comigo a emoção e felicidade de mais essa conquista em minha vida, agradeço imensamente.

PPGGGBC

“Cabe ao homem compreender que o solo fértil, onde tudo que se planta dá, pode secar; que o chão que dá frutos e flores pode dar ervas daninhas, que a caça se dispersa e a terra da fartura pode se transformar na terra da penúria e da destruição. O homem precisa entender, que de sua boa convivência com a natureza, depende sua subsistência e que a destruição da natureza é sua própria destruição, pois a sua essência é a natureza; a sua origem e o seu fim.”

Elizabeth Jhin – Amor Eterno Amor

## RESUMO

Os parâmetros de qualidade e frescor das amostras de mel foram obtidos com base nos valores de pH, acidez total, condutividade elétrica, açúcar redutor e não redutor, hidroximetilfurfural (HMF), umidade e cor. A influência das atividades agrícolas foi avaliada com base nos teores das espécies iônicas ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$  e  $NO_2^-$ ) utilizando cromatografia de íons e dos elementos traços (Pb, Cu, Fe, Zn e Cd) utilizando espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS). Os valores médios referentes aos parâmetros físico-químicos dos méis avaliados foram: umidade 18,55%, pH 4,04, acidez 38,20 meq  $Kg^{-1}$ , CE 313,88  $\mu S\ cm^{-1}$ , HMF 90,53  $mg\ L^{-1}$ , açúcar redutor com 71,7%, sacarose aparente 5,75% e a cor variando de Branco água à âmbar escuro. Esses resultados demonstraram que grande parte das amostras não se apresentaram de acordo a legislação brasileira vigente para o HMF e açúcar redutor. De acordo os resultados, os íons majoritários que apresentaram maiores concentrações nos méis foram o  $K^+$ ,  $Cl^-$  e  $Na^+$  com valores médios de 1274,5; 965,42 e 272,6  $mg\ Kg^{-1}$  respectivamente. Entre os elementos traços avaliados, o único que não foi detectado com a metodologia utilizada foi o Pb. Já os elementos Cu, Fe, Zn e Cd apresentaram concentrações médias de 0,75; 3,28; 11,83 e 0,00058  $mg\ Kg^{-1}$  respectivamente. Com auxílio da análise de componentes principais (ACP), foi possível observar a influência dos níveis de cobre no agrupamento das amostras oriundas das zonas de cafeicultura, provavelmente devido ao uso de compostos de cobre na produção de café. Neste contexto, faz-se necessário um controle mais efetivo dos méis produzidos e comercializados no estado da Bahia, uma vez que esses valores podem aumentar em reflexo das intensas atividades agrícolas desenvolvidas ao redor dos apiários.

**Palavra chave:** Mel, Cromatografia de íons (CI), GF AAS

## ABSTRACT

The parameters for quality and freshness of the honey samples were obtained based on the pH values, total acidity, electrical conductivity, reducing and non-reducing sugar, hydroxymethylfurfural (HMF), moisture and colour. The influence of the agricultural activities were evaluated based on the content of the ionic species ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$  e  $NO_2^-$ ) using ion chromatography and trace elements (Pb, Cu, Fe, Zn e Cd) using atomic absorption spectrometry in graphite furnace (AAS GF). The mean values referring to the physico-chemical parameters of the honey analyzed were: moisture 18,55%, pH 4,04, acidity 38,20 meq  $Kg^{-1}$ , CE 313,88  $\mu S\ cm^{-1}$ , HMF 90,53  $mg\ L^{-1}$ , reducing sugar with 71,7%, apparent sucrose 5,75% and the colour varying from white water to dark amber. These results demonstrated that most samples did not present according to the current Brazilian legislation for the HMF and reducing sugar. According to the results the major ions which presented higher concentrations in the honey were  $K^+$ ,  $Cl^-$  and  $Na^+$  with mean values of 1274,5; 965,42 and 272,6  $mg\ Kg^{-1}$ , respectively. Among the trace elements evaluated the only one that was undetected by method used was the Pb. The elements Cu, Fe, Zn and Cd presented mean concentrations of 0,75; 3,28; 11,83 e 0,00058  $mg\ Kg^{-1}$ , respectively. With assistance of the principal component analysis (PCA), it became possible to notice the influence on the copper levels in the group of samples arising from the coffee farming zone, probably due to the use of copper compounds in coffee production. In this context it makes necessary a much effective control of the produced and commercialized honey in the state of Bahia, since this values can rise in reflection of more intense agricultural activities taking place around the apiaries area.

**Key-words:** Honey, Ion chromatography (IC), AAS GF.

# SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	II
LISTA DE FIGURAS.....	III
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1. Apicultura: Considerações gerais .....	17
2.2. Abelhas <i>Apis mellifera</i> e a polinização de colheitas agrícolas .....	18
2.3. Definição e Composição do Mel .....	20
2.4. Características físico-químicas do mel .....	22
2.4.1. <i>pH</i> .....	22
2.4.2. <i>Umidade</i> .....	23
2.4.3. <i>Acidez Total</i> .....	23
2.4.4. <i>Condutividade elétrica</i> .....	23
2.4.5. <i>Açúcar redutor e não redutor</i> .....	24
2.4.6. <i>Cor</i> .....	24
2.4.7. <i>Hidroximetilfurfural - HMF</i> .....	26
2.5. Composição mineral e elementos traços .....	26
2.6. Utilização do mel como indicador de contaminação ambiental .....	27
2.7. Técnicas analíticas utilizadas para análise do mel .....	29
2.7.1. <i>Cromatografia líquida de alta eficiência- CLAE</i> .....	29
2.7.2. <i>Cromatografia de íons - CI</i> .....	32
2.7.3. <i>Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite – GF AAS</i> .....	34
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	40
3.1. Objetivo geral .....	40
3.2. Objetivos específicos .....	40
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	41
4.1. Área de estudo .....	41
4.2. Materiais e equipamentos .....	45
4.2.1. <i>Vidrarias e outros materiais</i> .....	45
4.2.2. <i>Reagentes e soluções</i> .....	46
4.2.3. <i>Equipamentos</i> .....	47
4.3. Preparo das amostras .....	47
4.4. Determinação das espécies iônicas .....	48
4.5. Determinação dos Elementos traços .....	50
4.6. Caracterização das amostras de mel .....	52
4.7. Avaliação estatística dos dados.....	54
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	55
5.1. Características físico-químicas e padrão de qualidade dos méis .....	55
5.2. Teores das espécies iônicas nas amostras .....	64
5.2.1. <i>Cátions no mel</i> .....	67
5.2.2. <i>Ânions no mel</i> .....	73
5.3. Teores de Cu, Cd, Zn, Fe, Pb nos méis .....	76
5.4. Resultado da análise multivariada .....	78
5.5. Análise de Componentes Principais .....	79
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	82
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CI**- Cromatografia de íons

**GF AAS** – Espectrometria por Absorção Atômica em Forno de Grafite

**CLAE** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**SPSS** – do inglês —Statistica package for socia sciences (Pacote Estatístico para Ciências Sociais);

**HMF** – Hidroximetilfurfural

**IN** – Instrução Normativa

**CCD**- Colony Collapse Disorder

**MAPA**- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**AR** – Açúcar redutor

**ARN** – Açúcar não redutor

**CE** – Condutividade elétrica

**ACP** – Análise de componentes principais

**AAH** – Análise por agrupamento hierárquico

**CP1** – Componente Principal 1

**CP2** – Componente Principal 2

**CP3** – Componente Principal 3

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> – Composição básica do mel .....	20
<b>Tabela 2</b> – Parâmetros físico-químicos de qualidade do mel .....	22
<b>Tabela 3</b> – Conteúdo dos minerais em méis claro e escuro .....	24
<b>Tabela 4</b> – Classificação da cor do mel de acordo a escala Pfund. ....	25
<b>Tabela 5</b> – Programa de aquecimento do forno de microondas .....	46
<b>Tabela 6</b> – Programa de aquecimento do GFAAS utilizado para análise do Pb, Cd, Cu, Zn e Fe .....	51
<b>Tabela 7</b> – Resultados das análises físico-químicas em 38 amostras de méis <i>Apis mellifera</i> , produzidos no estado da Bahia.....	55
<b>Tabela 8</b> – Resultados das determinações dos cátions e ânions (média ± desvio-padrão, n=3) obtidos nas amostras de méis de diferentes regiões da Bahia.....	66
<b>Tabela 9</b> – Resultados das análises dos elementos traços em 38 amostras de méis <i>Apis mellifera</i> produzidos no estado da Bahia.....	76

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema das fontes de contaminação ambiental no mel.....	28
<b>Figura 2:</b> Componentes básicos do CLAE .....	30
<b>Figura 3:</b> Colunas para cromatografia líquida .....	31
<b>Figura 4:</b> Partes que compõe um cromatógrafo de íons .....	33
<b>Figura 5:</b> Coluna de cátions (a) e ânions (b) utilizados para separação dos íons .....	34
<b>Figura 6:</b> Lâmpada de cátodo oco- HCL. ....	35
<b>Figura 7:</b> Tubos de aquecimento integrados com a plataforma de L'vov (a) longitudinal e (b) transversal .....	35
<b>Figura 8:</b> Etapas do programa do GF AAS. ....	36
<b>Figura 9:</b> Mapa das mesorregiões da Bahia.....	41
<b>Figura 10:</b> Mapa referente aos locais de coleta dos méis avaliados .....	42
<b>Figura 11:</b> Amostras de mel <i>Apis mellifera</i> analisados .....	45
<b>Figura 12:</b> Equipamento de Cromatografia iônica. ....	49
<b>Figura 13:</b> Cromatogramas referente ao padrão de 20 mg L <sup>-1</sup> (a) e a uma amostra de mel (b) na análise de cátions e ânions.....	50
<b>Figura 14:</b> Equipamento de espectrometria de absorção atômica por forno de grafite-GFAAS (a) e o carrossel com as amostras (b) .....	51
<b>Figura 15:</b> Lâmpadas de cátodo oco utilizadas no GF AAS .....	51
<b>Figura 16:</b> Cromatografia Líquida de Alta Eficiência- CLAE(a), Coluna C18(b) .....	53
<b>Figura 17:</b> Percentual da umidade encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente. ....	56
<b>Figura 18:</b> Percentual da acidez encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente .....	57
<b>Figura 19:</b> Percentual da condutividade elétrica encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente .....	58
<b>Figura 20:</b> Percentual do pH encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente.....	59
<b>Figura 21:</b> Percentual de açúcar redutor encontrada nos méis estudados considerando a legislação vigente .....	60
<b>Figura 22:</b> Percentual de açúcar não redutor encontrada nos méis estudados considerando a legislação vigente. ....	61
<b>Figura 23:</b> Distribuição percentual das cores encontradas nos méis estudados. ....	62
<b>Figura 24:</b> Curva analítica do HMF, construída pela injeção da solução padrão nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg L <sup>-1</sup> . ....	63
<b>Figura 25:</b> Cromatogramas obtidos pela análise de solução padrão de 20 mg L <sup>-1</sup> de HMF(a), amostra de mel com a presença do HMF(b).....	63
<b>Figura 26:</b> Comparação entre as médias de HMF encontrados em diferentes amostras de mel . ....	64
<b>Figura 27:</b> Comparação entre as médias de K encontradas em diferentes amostras de mel. ....	67
<b>Figura 28:</b> Comparação entre as médias de Ca encontradas em diferentes amostras	

de mel .....	69
<b>Figura 29:</b> Comparação entre as médias de $\text{Na}^{2+}$ encontrados em diferentes amostras de mel .....	70
<b>Figura 30:</b> Comparação entre as médias de $\text{NH}_4^+$ encontradas em diferentes amostras de mel .....	71
<b>Figura 31:</b> Comparação entre as médias de $\text{Mg}^{+2}$ encontradas em diferentes amostras de mel. ....	72
<b>Figura 32:</b> Comparação entre as médias de $\text{Cl}^-$ encontradas em diferentes amostras de mel . ....	73
<b>Figura 33:</b> Comparação entre as médias de $\text{NO}_3^-$ e $\text{NO}_2^-$ encontradas em diferentes amostras de mel. ....	74
<b>Figura 34:</b> Comparação entre as médias de $\text{PO}_4^{-2}$ e $\text{SO}_4^{-2}$ encontradas em diferentes amostras de mel. ....	74
<b>Figura 35:</b> Dendograma de análise de cluster entre as variáveis e amostras estudadas .....	79
<b>Figura 36:</b> Dendograma com o agrupamento entre as variáveis.....	79
<b>Figura 37:</b> Resultado da ACP apresentado no gráfico das escores dos metais estudados e o comportamento das variáveis em relação às três componentes principais, respectivamente.....	80

# 1. INTRODUÇÃO

---

A demanda pelo consumo e uso terapêutico do mel tem crescido exponencialmente nos últimos anos. Um dos fatores que favorecem tal crescimento é a divulgação dos benefícios dos alimentos naturais e dos chamados “orgânicos”, aliado ao fato do mel ser um produto natural originado do néctar das flores com alto valor nutritivo, rico em açúcares e com sabor e aroma peculiar (TERRAB *et al.*, 2011; WELKE *et al.*, 2008). Além disso, na sua produção, as abelhas realizam uma tarefa vital de polinização de aproximadamente 73% das espécies cultivadas no mundo (FAO, 2004).

Considerada uma das atividades econômicas mais antigas e importantes que se tem conhecimento, a apicultura configura como uma boa alternativa na geração de emprego e renda em diferentes regiões da Bahia (RISSATO *et al.*, 2006). Entretanto, no ano de 2012, houve uma queda na produção do alimento devido à falta de florada causada pela seca prolongada que ocorreu na região. Isso afetou a produção de mel no estado, que até então ocupava posição de destaque na produção de mel e produtos apícolas a nível regional e nacional (VIDAL, 2013). Outro fator que vem contribuindo para a redução da produção de mel e para a diminuição de abelhas que tanto vem sendo uma preocupação mundial é a poluição ambiental provocada pelas atividades industriais e agrícolas (TILLER *et al.*, 1989; CELLI *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2008).

Os produtos da apicultura, especialmente o mel, são materiais que estão sendo bastante utilizados para monitorar a poluição ambiental de um dado local, já que as abelhas forrageiam em lugares diversos e interagem fortemente com o ambiente que cerca a colmeia como a água, o solo, ar e as plantas (RISSATO *et al.*, 2006; MAGALHÃES *et al.*, 2010). Desta forma, a determinação de metais e outros minerais presentes no mel podem disponibilizar informações importantes sobre as condições ambientais causados por fatores químicos, físicos e biológicos de uma dada região, pois as abelhas estão sempre expostas a contaminantes presentes ao redor do apiário (RIBEIRO, 2010). Essas informações podem subsidiar o desenvolvimento de manejos agrícolas apropriados próximos aos apiários, e servir de alerta para a população dos danos que a poluição ambiental, mesmo em pequenas quantidades, pode trazer à saúde.

A cobertura vegetal das regiões em estudo apresenta uma grande diversidade florística, dando origem a méis com cor, sabor e características nutricionais diferentes. Muitos méis são provenientes de áreas florestais também denominadas silvestres, bem como as áreas de cafeicultura, fruticultura irrigada, área de reserva florestal e pastagem abundante, presente em boa parte das regiões.

Devido à disponibilização de uma vegetação excelente para as abelhas forragear, a apicultura tornou-se uma fonte de renda suplementar para muitos produtores de café e de frutas irrigadas. Esses produtores utilizam grandes quantidades de diferentes fertilizantes nos procedimentos tradicionais de cultivos, dentre eles os fosfatados e os nitrogenados. Ao acrescentar esses fertilizantes minerais no solo, irá liberar as principais fontes de macronutrientes (por exemplo, Ca, Mg, N, P e K) e micronutrientes (por exemplo, S, Fe, Mn, Cu, B e Zn) necessários para a nutrição e crescimento da planta. No entanto, podem conter impurezas tóxicas, como, por exemplo, cádmio e chumbo.

Devido a essa preocupação, faz-se necessário determinar os constituintes químicos presentes no mel, mas isso vem se provando um grande desafio analítico, pelo fato do mel ser um alimento rico em açúcar, apresentando assim interferência da matriz nas análises. Encontra-se na literatura diferentes técnicas de análises, destacando-se a espectrometria por absorção atômica e os métodos cromatográficos.

Dentre as técnicas cromatográficas, a que vem sendo empregada para detectar substâncias iônicas é a cromatografia de íons, técnica de grande importância nas análises de água e alimentos, por ser rápida e eficiente, uma vez que combina a capacidade de separação da cromatografia de troca iônica com a detecção por meio da condutividade elétrica (BULDINI *et al.*, 2001; NOZAL *et al.*, 2000; DIAS, 2010; METROHM, 2007). Um estudo feito por NOZAL *et al.* 2000, demonstrou um método analítico utilizando extração em fase sólida, para determinar nitrato, oxalato e sulfato em méis de diferentes origens florísticas, utilizando essa técnica. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) vem sendo utilizada para determinar diferentes compostos em mel, dentre eles o hidroximetilfurfural (HMF).

Uma das formas de detectar elementos traços que vem sendo bastante utilizada em amostras ambientais, entre elas o mel, é a técnica de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS). Trata-se de uma técnica baseada na atomização da amostra, onde a mesma passa por um programa de aquecimento do forno de grafite, que é constituído pelas etapas de secagem, pirólise, atomização e limpeza, de acordo o analito a ser determinado. Estudos relatam resultados significativos utilizando o GF AAS como é o caso da análise feita

por PAES, 2007 que determinou Cu, Mn e Cd em méis brasileiros e AJTONY e colaboradores (2007) que determinaram As, Cd , Cr , Cu, Pb em méis de diferentes floradas, mostrando ser uma técnica sensível e seletiva para tal análises.

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência das atividades agrícolas em 38 amostras de méis *Apis mellifera*, produzidos em diferentes regiões no estado, utilizando a cromatografia de íons (CI) e a espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS), aplicando análises multivariadas por meio do programa SPSS 15.0 (*Statistical Package for Social Sciences*).

Como estudo complementar, foram determinados alguns parâmetros de qualidade e frescor dos méis: pH, acidez total, condutividade elétrica, açúcar redutor e não redutor, Hidroximetilfurfural (HMF), umidade e cor. Tais parâmetros são indicativos do processo de degradação das amostras, devido ao manuseio e armazenamento inadequado.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

---

### 2.1. Apicultura: Considerações gerais

Usado como alimento desde a pré-história, o mel foi uma das primeiras fontes de açúcar para o homem (ALVES *et al.*, 2005). Por vários séculos foi retirado dos enxames de forma extrativista e predatória, muitas vezes causando danos ao meio ambiente, matando as abelhas. Entretanto, com o passar do tempo, o homem foi aprendendo a proteger seus enxames, instalando-os em colmeias racionais e manejando-os sem causar prejuízo para as abelhas e de forma que houvesse maior produção de mel. Nascia, assim, a Apicultura, a criação racional de abelhas que se constitui em uma das atividades em que se consegue obter bons resultados econômicos, sociais e ecológicos (EVANGELISTA-RODRIGUES *et al.*, 2005).

Foi no século XIX que o imperador Dom Pedro II autorizou a entrada de abelhas vindas da Europa e da Costa da África, trazidas pelo padre Antônio José Pinto, por meio do Decreto nº 72 – de 12 de julho de 1839. As primeiras colônias de abelhas da espécie *Apis mellifera* foram levadas para a Praia Formosa no Rio de Janeiro e foi a partir desse decreto que obtivemos a certidão de nascimento da apicultura da Nação brasileira (BRAGA, 1998).

Essa atividade, desenvolvida ao longo do tempo, vem despertando o interesse de muitos criadores e instituições do Brasil, devido à grande diversidade e riqueza natural que o país oferece. A grande variedade de flora e clima se expressa de forma inconfundível em um mel rico em cores, aromas e sabores, que agrada a todos que o experimentam (BRASIL APÍCOLA, 2008).

Um dos estados de grande importância na produção de mel no país é a Bahia, que apresenta grande potencial apícola em boa parte do seu território, devido à diversidade botânica no semi-árido, apresentando números expressivos de plantas e matas silvestres caracterizadas pela intensidade de floradas naturais e das condições climáticas que muitas vezes são favoráveis à criação das abelhas. Destacam-se como introdutores da apicultura na Bahia os senhores Naason Carvalho e Arthur Pereira Sena, que contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento e expansão da apicultura no estado (BRANDÃO, 1994).

Para LACERDA *et al.*, (2010), a região sudoeste da Bahia apresenta uma flora bastante diversificada, onde se pode obter méis e outros produtos apícolas em quantidades e características diferentes. Esses valores agregados à produção do mel aumentam substancialmente seu valor de mercado, e com isso vem a necessidade de estudos voltados para a sua caracterização, por meio da criação de padrões de qualidade para garantir ao consumidor um produto final autêntico e sem contaminações.

Apesar da Bahia ter potencial para a produção de mel, alguns fatores devem ser levados em conta, como o clima quente e seco que predomina no interior do estado. Esse aspecto pode provocar períodos de secas, que comumente são longas, tendo como consequência a diminuição do florescimento das plantas, comprometendo a produção do mel. Segundo os dados do IBGE (2012) relacionados à produção de mel no Brasil, pôde-se perceber os grandes estragos causados pela seca que afetou o país desde o segundo semestre de 2011. A produção na Bahia que vinha aumentando nos anos de 2010 e 2011 com 38,017 e 41,578 toneladas de mel, respectivamente, teve a sua produção comprometida no ano de 2012, caindo para 33,574 t, sendo reflexo também da queda da produção nas principais regiões produtoras de mel.

Apesar disso, a Bahia hoje ocupa o 7º lugar no ranking nacional, tendo uma grande importância no quadro econômico do país. O Brasil, por sua vez, está em 11º lugar na produção de mel no mundo (IBGE, 2012).

## **2.2. Abelhas *Apis mellifera* e a polinização de colheitas agrícolas**

A introdução da abelha africana *Apis mellifera Scutellata* se deu no ano de 1956, quando, por acidente, essas abelhas escaparam de um apiário experimental e se acasalaram com abelhas de raça europeia, formando um híbrido natural, que hoje é conhecido como abelha africanizada. A abelha *Apis mellifera L.* é a espécie considerada como a principal produtora do mel frequentemente utilizado para consumo humano, e responsável pelo desenvolvimento apícola do país (EMBRAPA, 2003; ALVES *et al.*, 2005).

Além de garantir uma melhoria nas lavouras por meio da polinização das colheitas agrícolas, as *Apis mellifera* são fundamentais para a produção comercial do mel e de outros produtos apícolas (OSTERKAMP, 2009). Para recolher o néctar, a água e o pólen das flores, as abelhas operárias fazem uma média de 10 viagens para explorar aproximadamente 7 Km<sup>2</sup> nas áreas que cercam seu habitat (RISSATO *et al.*, 2006). Desta forma, o mel vem sendo reconhecido como um bom indicador de poluição ambiental, já que as concentrações dos

elementos químicos encontrados nas análises do mel refletem as quantidades presentes em toda a região que a abelha forrageia (CRANE, 1983).

A polinização agrícola é uma atividade ambiental de grande importância em todo o mundo, pois além de estar ligada à manutenção da biodiversidade das plantas nativas, atuam fortemente na propagação de muitas espécies agrícolas que necessitam de insetos polinizadores para aumentar a sua produção (NOCELLI *et al.*, 2012). Contudo, seu uso deve ser de forma sustentável para que as abelhas não sofram com os manejos inadequados por meio do uso desenfreado de agrotóxicos nas lavouras (ROCHA *et al.*, 2012). De acordo SOUZA *et al.*, 2013, os efeitos da aplicação de pesticidas nas lavouras podem gerar não apenas contaminação do mel mas como também, a mutação gênica, morte das abelhas e possível extinção da espécie.

Estudos recentes apontam que a pulverização aérea e localizada de agrotóxicos em lavouras próximas às colmeias vem provocando a morte de milhares de abelhas (AMARO, *et al.*, 2012). Existem situações em que a abelha recebe o veneno de forma direta, fica vulnerável e morre, outras, que comprometem a capacidade de aprendizagem do inseto, mesmo quando aplicado em pequenas doses. O veneno afeta o sistema imunológico das abelhas, fazendo-as perderem o senso de orientação ao sair da colmeia, diminuindo, assim, tanto a polinização como a produção do mel (SANTOS *et al.*, 2008, ROCHA *et al.*, 2012).

Pesquisadores apontam que o uso indiscriminado de pesticidas agrícolas esteja associado ao desaparecimento das abelhas na natureza, provocando um fenômeno também conhecido como Síndrome do Colapso das Colônias (Colony Collapse Disorder-CCD), que vem sendo bastante discutida e é motivo de preocupação para os produtores agrícolas e apicultores do mundo todo. AMARO *et al.* (2012), registra também que essa grande mortalidade de abelhas que ocorreu nos últimos anos tanto em regiões da Europa como nos Estados Unidos, se deve à ausência de fiscalização e cuidados especiais por meio dos fabricantes de pesticidas, discutindo e apontando a necessidade de modificação da situação atual. O mesmo problema foi observado em Portugal, sendo atribuído ao uso do inseticida neonicotinóide, aplicados tanto no solo como via foliar, utilizados no tratamento de sementes de diferentes culturas como o milho, girassol, algodões, e outros cereais (AMARO, 2011).

Não menos recente e constatado no país, foi observado em Braúna, região no interior de São Paulo, uma grande mortandade de abelhas atribuída ao uso de pulverização aérea em um canavial que causou a morte de mais de 500 mil abelhas, no ano de 2010 (JÚNIOR, 2010). Segundo a pesquisadora da Embrapa Fábria de Mello Pereira (2010), os sintomas são diferentes aos causados na Desordem do Colapso das Colônias, e afirma também que a

aplicação de agrotóxico é a principal causa da mortalidade de colônias no Brasil. Contudo, a causa dessa mortalidade pode ser atribuída também ao consumo de plantas tóxicas pelas abelhas, morte por fome e por doenças desconhecidas.

Assim, pode-se atribuir as diferentes causas da presença dos contaminantes químicos encontrados nos méis, seja por meio do tratamento de doenças e pragas na colmeia, condicionados a uma fonte de contaminação direta, ou quando a abelha entra em contato com o néctar ou pólen de flores que receberam algum produto químico, relacionando este como contato de poluição indireta (PORRINI *et al.*, 2003, RISSATO, 2006).

Esses produtos, geralmente aplicados no solo, chegam às plantas pelo sistema radicular por meio de três mecanismos de absorção, mecanismos esses conhecidos como: interceptação radicular, quando a raiz da planta vai crescendo e encontra o elemento; o fluxo de massa, que ocorre quando o elemento é carregado de um local de maior potencial de água para o de menor potencial próximo a raiz, e por último, a difusão, que é quando o nutriente entra em contato com a raiz ao passar de uma região de maior concentração para uma de menor concentração (LOPES & GUILHERME, 2000; UNIFERTIL, 2012). Estudos mostram a eficiência de cada um desses processos citados anteriormente, e demonstram que, através do fluxo de massa, a planta pode suprir todas as necessidades de nitrogênio, cálcio, magnésio, enxofre, boro, cobre, manganês e molibdênio. Já a difusão é importante para assimilar o fósforo e potássio e parcialmente o ferro e zinco, enquanto a interceptação radicular pode fornecer grande parte das necessidades da planta, quando a exigência nutricional for compatível com o teor de nutriente na solução do solo (LOPES & GUILHERME, 2000).

### **2.3. Definição e Composição do Mel**

A legislação brasileira define mel como o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de secreções de insetos sugadores. Essas substâncias são coletadas, transformadas e combinadas com substâncias específicas próprias e armazenadas em alvéolos nas suas colmeias (ROSSI *et al.*, 1999; BRASIL, 2000). O mel de abelhas é uma substância viscosa rica em açúcares, principalmente glicose e frutose, com sabor e aroma específico e de alto valor energético (WIESE, 2000; EMBRAPA, 2003). Classificado de acordo com as plantas utilizadas na sua produção, o mel pode ser monofloral, quando produzido a partir do néctar de uma única flor, ou multifloral, quando produzido a partir do néctar de diversas espécies florais.

Segundo BARTH *et al.* (2005), as características organolépticas e composicionais do mel são variáveis e dependem de muitos fatores associados aos tipos de vegetação da região de sua procedência, que alteram as suas características físicas e químicas. Trata-se de um alimento complexo do ponto de vista biológico e também analítico, visto que alguns dos constituintes do mel como os carboidratos, água, vestígios de ácidos orgânicos, enzimas, aminoácidos, pigmentos, cera e pólen, ocorrem devido à sua maturação, já outros podem ser adicionados pelas abelhas e alguns deles são derivados das plantas (WHITE, 1978; CRANE, 1983; EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005).

O mel é um alimento com reduzido teor em água e apresenta na sua composição uma complexa mistura de diferentes açúcares, aminoácidos, vitaminas e minerais, como pode ser visto na Tabela 1 (EMBRAPA, 2003). Reconhecida também pelas suas diversas propriedades medicinais, o mel é considerado como antimicrobianas, antivirais, antiparasitárias, antioxidantes e anti-inflamatórias (EPIFANIO, 2012).

**Tabela 1:** Composição básica do mel

<b>Componentes</b>	<b>Média</b>	<b>Variação</b>
<b>Água (%)</b>	17,2	13,4 - 22,9
<b>Frutose (%)</b>	38,19	27,25 - 44,26
<b>Glicose (%)</b>	31,28	22,03 - 40,75
<b>Sacarose (%)</b>	1,31	0,25 - 7,57
<b>Maltose (%)</b>	7,31	2,74 - 15,98
<b>Açúcares totais (%)</b>	1,50	0,13 - 8,49
<b>Outros (%)</b>	3,1	0,0 - 13,2
<b>pH</b>	3,91	3,42 - 6,10
<b>Acidez livre (meq/Kg)</b>	22,03	6,75 - 47,19
<b>Lactose (meq/Kg)</b>	7,11	0,00 - 18,76
<b>Acidez total (meq/Kg)</b>	29,12	8,68 - 59,49
<b>Lactose/Acidez livre</b>	0,335	0,00 - 0,950
<b>Cinzas (%)</b>	0,169	0,020 - 1,028
<b>Nitrogenio (%)</b>	0,041	0,00 - 0,133
<b>Diastase</b>	20,8	2,1 - 61,2

**Fonte:** EMBRAPA, 2003.

O risco de adulteração dos méis confere uma das grandes preocupações dos apicultores idôneos, autoridades e dos consumidores (VARGAS *et al.*, 2006). Geralmente, essas adulterações ocorrem principalmente com a adição de açúcares (dissacarídeos) como glicose comercial, solução ou xarope de sacarose, melado e solução de sacarose invertida

(ROSSI *et al.*,1999). Alterações naturais também podem ocorrer referentes a variações no excesso da umidade e temperatura.

## 2.4. Características físico-químicas do mel

Com o intuito de fornecer informações que possam contribuir para o controle e melhoria na qualidade do mel, diversos parâmetros físico-químicos vêm sendo utilizados na caracterização desse alimento. Dentre elas destacam-se as análises de pH, acidez total, sólidos solúveis totais, diástase, açúcares redutores e não redutores, prova de Fiehe, prova de Lund, cinzas, índice de formol, umidade, proteínas, Hidroximetilfurfural (HMF) e cor (TERRAB, 2004; OSTERKAMP, 2009). A Instrução Normativa nº 11/2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece os limites permitidos para os parâmetros físico-químicos e contaminantes no mel, que deverão ser seguidos para a sua padronização e comercialização, como está apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Parâmetros físico-químicos de qualidade do mel

<b>Parâmetros</b>	<b>Limites</b>
<b>Umidade</b>	Máx. 20%
<b>Sacarose</b>	Máx. 6%
<b>Acidez</b>	Máx. 50 mEq/Kg
<b>pH</b>	3,3 a 4,6
<b>Cinzas</b>	Máx. 0,6%
<b>Reação de Fiehe</b>	Negativa
<b>Reação de Lund</b>	Mín. 0,6mL Máx. 3,0mL
<b>Açúcares redutores</b>	70% ou mais
<b>Sólidos insolúveis em água</b>	0,1%
<b>Hidroximetilfurfural</b>	Máx. 40 mg Kg <sup>-1</sup>

Fonte: Instrução Normativa nº11/2000

### 2.4.1. pH

Associado ao desenvolvimento microbiano de qualquer alimento, o pH ideal do mel de acordo a legislação vigente apresentada na Tabela 2, deve variar entre 3,3 a 4,6. Esses valores, segundo SEEMANN & NEIRA (1988), podem sofrer influência de acordo à origem floral, a concentração de vários ácidos e de diferentes minerais como cálcio, sódio e potássio. NORONHA (1997) complementa afirmando que o pH do mel também é influenciado pelas

associações de espécies vegetais e nas diferenças da composição do solo para a elaboração final do produto, sendo que valores alterados de pH no mel indicam fermentação ou adulterações (TERRAB *et al.*, 2004).

#### **2.4.2. Umidade**

A umidade é o segundo componente em quantidade na composição do mel, geralmente variando de 15 a 21%, podendo sofrer influencia da origem floral, condições climáticas ou por uma colheita prematura (VARGAS, 2006). O mel apresenta uma alta capacidade de absorver a umidade do ambiente, devido à sua característica higroscópica (CRANE, 1983). Considerado um importante parâmetro de qualidade que determina a capacidade do mel em se manter estável ou livre de fermentação, a umidade é também o principal fator determinante da viscosidade, peso específico, maturidade, sabor, conservação, palatabilidade e fluidez do mel (CRANE, 1983; SEEMANN & NEIRA, 1988; BOGDANOV *et al.*, 1999; EMBRAPA, 2003).

#### **2.4.3. Acidez Total**

A acidez total é considerada um indicativo de deterioração do mel e refere-se à variação dos ácidos orgânicos e da quantidade de minerais presentes no mesmo, estando ligado também com o sabor final do produto. O conteúdo máximo permitido pela legislação de qualidade do mel é de 50 mEq/Kg (BRASIL, 2000). Altos valores de acidez livre são indicadores da ocorrência de fermentação dos açúcares por meio da ação de leveduras.

#### **2.4.4. Condutividade elétrica**

A condutividade elétrica é um parâmetro de qualidade do mel ainda pouco utilizada, e está relacionado com a presença de íons e ácidos orgânicos, então, quanto maior forem os seus conteúdos nas amostras de méis, maior será a condutividade e vice-versa (GOMES *et al.*, 2010). BOGDANOV *et al.*, 1999, acrescenta dizendo que méis de diferentes origens florais têm valores diferentes de condutividade elétrica.

#### **2.4.5. Açúcar redutor e não redutor**

Por possuírem grupo carbonílico e cetônico livres na molécula, a glicose e frutose são monossacarídeos classificados como açúcares redutores e são considerados os constituintes majoritários, representando em torno de 85 a 95% dos carboidratos do mel (WHITE, 1978). Assim, são encontrados também no mel os açúcares não redutores, que são os dissacarídeos, compostos de duas moléculas de monossacarídeos em que uma delas sempre será a glicose. A sacarose é um exemplo de açúcar não redutor, que, por hidrólise, produz dois açúcares redutores, a glicose e a frutose que possuem o grupo aldeído (SILVA *et al.*, 2003).

A cristalização do mel é um processo natural que ocorre em todo mel puro, podendo essa cristalização ocorrer mais rápido ou de forma mais lenta. Levando em conta a sua composição química, em especial, a relação dos açúcares redutores glicose/frutose e a quantidade de água presente nos méis, que tem grande influência na cristalização desse alimento muitas vezes indesejada pelos consumidores. Todo mel puro tende a cristalizar desde que haja condições de temperatura favorável, onde o açúcar que tem a facilidade de cristalizar primeiro é a glicose. Desta forma, o mel que apresentar maior quantidade desse açúcar (glicose) tenderá a cristalizar mais rápido, enquanto que, o mel que apresentar alto teor de frutose, poderá levar mais de 12 meses sem cristalizar (LEGLER, 2001).

#### **2.4.6. Cor**

A coloração do mel representa um dos fatores que mais atraem o consumidor na hora de escolher o mel, sendo que o mercado consumidor tem preferências pelo mel de cor mais clara. No mercado internacional, o mel é avaliado por sua cor, e os méis claros alcançam melhores preços que os escuros (CRANE, 1983).

Os méis sofrem influência da quantidade de minerais presentes nas amostras, passando a determinar a cor dos mesmos. Os méis de cor escura tem maior presença de minerais, conseqüentemente sabor e aroma mais forte, enquanto os de cor clara possuem menor quantidade, proporcionando sabor e aroma mais agradável. Os teores de alguns minerais que caracterizam a cor do mel estão apresentados na Tabela 3 (LACERDA, 2010; EMBRAPA, 2003).

**Tabela 3:** Conteúdo dos minerais em méis claro e escuro.

Elementos (macro e micro)	Cor	Variança (ppm)	Média (ppm)	Ingestão diária recomendada (mg)
<b>CÁLCIO</b>	CLARA	23 – 68	49	800
	ESCURA	5 – 266	51	
<b>FÓSFORO</b>	CLARA	23 – 50	35	800
	ESCURA	27 – 58	47	
<b>POTÁSSIO</b>	CLARA	100 – 588	205	782
	ESCURA	115 – 4733	1676	
<b>SÓDIO</b>	CLARA	6 – 35	18	460
	ESCURA	9 – 400	76	
<b>MAGNÉSIO</b>	CLARA	11 – 56	19	350
	ESCURA	7 – 126	35	
<b>CLORO</b>	CLARA	23 – 75	52	(300 - 1200)
	ESCURA	48- 201	113	
<b>FERRO</b>	CLARA	1,20 - 4,80	2,40	20
	ESCURA	0,70 - 33,50	9,40	
<b>MANGANÊS</b>	CLARA	0,17 - 0,44	0,30	10
	ESCURA	0,46 - 9,53	4,09	
<b>COBRE</b>	CLARA	0,14 - 0,70	0,29	2
	ESCURA	0,35 - 1,04	0,56	
<b>ENXOFRE</b>	CLARA	36 – 108	58	-
	ESCURA	56 – 126	100	

**Fonte:** LENGLER, 2001; EMBRAPA, 2003

A presença de metais no mel também sofre influencia na cor, pois quando contaminado o mel tende a escurecer (CRANE, 1983). As cores dos méis estão relacionadas também pela condição climática e origem floral onde é produzido, podendo variar em diferentes cores. De acordo a IN N° 11 de 20 de outubro de 2000, a cor do mel é um dos parâmetros das características sensoriais, variando de quase incolor a parda escura, onde pode ser classificada de acordo à escala pfund apresentada na Tabela 4 (BRASIL, 2000).

**Tabela 4:** Classificação da cor do mel de acordo a escala Pfund

MEL	mm* Pfund	**Abs <sub>635</sub>
<b>Branco-água</b>	0-8	0,104 – 0,125
<b>Extra- branco</b>	8 – 16,5	0,125 – 0,148
<b>Branco</b>	16,5 - 34	0,148 – 0,195
<b>Âmbar extra-claro</b>	34 - 50	0,195 – 0,238
<b>Âmbar claro</b>	50 - 85	0,238 – 0,333
<b>Âmbar</b>	85 - 114	0,333 – 0,411
<b>Âmbar escuro</b>	114 ou mais	0,4411 ou mais

\*mm=milímetro \*\*Abs= absorbância

#### 2.4.7. Hidroximetilfurfural - HMF

A determinação do HMF tem por finalidade descobrir se o mel é puro, artificial ou adulterado. Considerado um importante indicador de qualidade do mel, o 5-hidroximetilfurfural é também conhecido como HMF, composto químico presente nos alimentos açucarados, formado pela reação de diferentes açúcares como a frutose e glicose encontrados naturalmente no mel (WHITE, 1978; ZAPPALÀ *et al.*, 2005).

Geralmente o HMF está ausente em méis recém colhidos e a sua concentração aumenta com o tempo (SPANNO *et al.*, 2006). Quando o valor de HMF encontra-se alto, ocorre uma diminuição no valor nutricional do mel, com a destruição de algumas vitaminas e algumas enzimas que são termolábeis (VERÍSSIMO, 1988). SODRÉ (2007) e LACERDA *et al.* (2010) apontam o alto valor de HMF no mel como indicador de superaquecimento, armazenamento inadequado ou adulteração com açúcar invertido.

Com o tempo ou condições de armazenamento, os méis considerados puros costumam cristalizar-se. Com isso, muitas pessoas aquecem em banho-maria para liquefazer esse mel cristalizado, e, sem saber, ao aquecer o mel em uma temperatura elevada - acima de 40 °C - acelera a formação do HMF, alterando sua qualidade e modificando sua composição (WHITE *et al.*, 1978; BIANCHI, 1981; BERA & ALMEIDA-MURADIAN, 2007).

LEMOS, *et al.* (2010), confirma que geralmente os méis que estão estocados por mais tempo apresentam valores elevados de HMF, e aponta a necessidade de armazenamento e aquecimento adequado para que esse produto não venha a prejudicar a saúde dos consumidores por meio da toxicidade do HMF presente nos méis. Os níveis aceitos de HMF pela Legislação Brasileira são de no máximo 40 mg Kg<sup>-1</sup> (BRASIL, 2000).

#### 2.5. Composição mineral e elementos traços

Os minerais compõem uma grande classe de nutrientes, que são classificados em dois grupos, de acordo com as necessidades do organismo e a sua concentração. Esses grupos são conhecidos como macro e micronutrientes. Os macronutrientes são aqueles presentes no organismo em proporção superior a 0,05 % e são necessários em quantidade superior a 100 mg/dia, a exemplo do cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, enxofre e cloro. Já os micronutrientes são necessários em quantidades menores, normalmente menos de 15 mg/dia (NETO, 2003; KRAUSE & MAHAN, 2005).

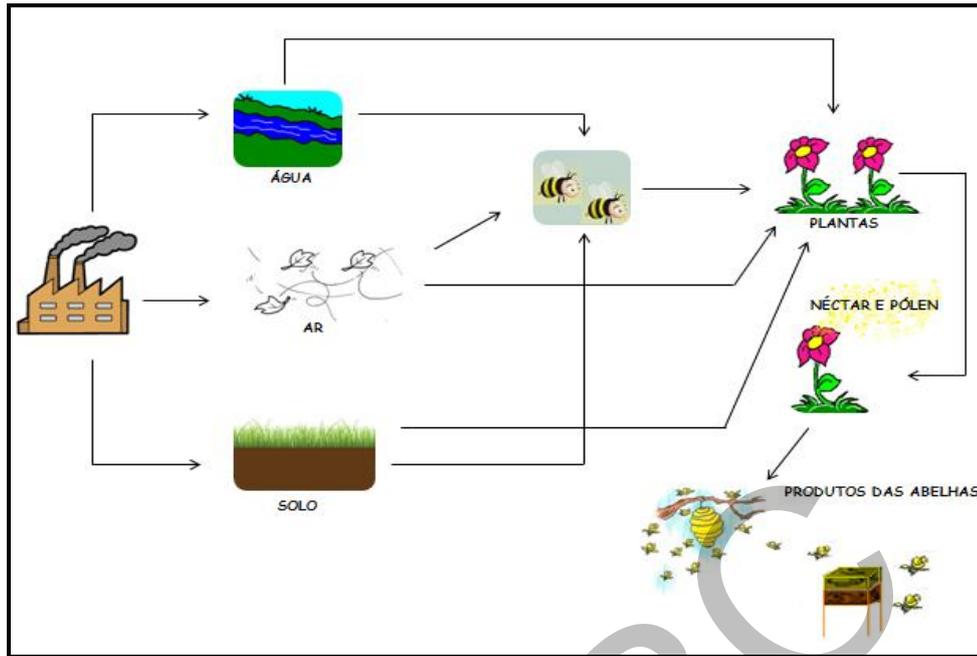
Esses minerais são classificados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como essencial, provavelmente essencial e potencialmente tóxico. Entre os minerais essenciais encontram-se o ferro, zinco, cobre, selênio, cromo, iodo e molibdênio; os provavelmente essenciais incluem o manganês, silício, níquel, boro e vanádio e os potencialmente tóxicos são o flúor, chumbo, cádmio, mercúrio, arsênio, alumínio, lítio e estanho (NETO, 2003; KRAUSE & MAHAN, 2005).

O mel contém na sua composição mineral a maioria dos elementos essenciais como o K, Ca, Mg, Na, Zn, Fe, Cu e Ni que são necessários ao bom funcionamento das atividades metabólicas no nosso organismo. A presença desses e de outros minerais nos méis podem ser associados à origem botânica e geográfica onde foram produzidos, apresentando informações a cerca da utilização de produtos químicos nas áreas agrícolas, bem como dos níveis de poluição ambiental (RISSATO, 2006; SANTOS *et al.*, 2007).

A interação de diversos fatores como a composição do solo, fatores climáticos, espécie de abelha, e principalmente a origem botânica e geográfica, irão dar origem à composição mineral do mel. Por isso, cada mel possui uma característica peculiar, com base na combinação desses diferentes componentes presentes na região onde é produzido, conferindo uma qualidade específica e um sabor característico (RISSATO, 2006).

## **2.6. Utilização do mel como indicador de contaminação ambiental**

Nas regiões onde existe poluição ambiental em torno dos apiários, as abelhas entram em contato com água, solo, ar e plantas e carregam os contaminantes ali presentes, para a colmeia, comprometendo a produção do mel, sendo representado no esquema da Figura 1 (PORRINI *et al.*, 2003). Desta forma, as abelhas podem ser consideradas importantes indicadoras de poluição ambiental, contribuindo como indicador das condições ambientais causados por fatores químicos, físicos e biológicos de uma dada região (PORRINI *et al.*, 2003; RIBEIRO, 2010).



**Figura 1:** Esquema das fontes de contaminação ambiental no mel

A avaliação de alguns nutrientes e contaminantes do mel são de extrema importância para garantir a segurança e controle dos produtos apícolas, bem como apresentar o nível de poluição ambiental da região em que se pretende estudar (SANTOS *et al.*, 2008). Essa poluição é originada muitas vezes por meio da pulverização dos agroquímicos usados de forma indiscriminada em diversas lavouras, irrigação de culturas com água de rios que estejam contaminadas, utilização de esterco animal como fertilizantes, dentre outros procedimentos utilizados de forma errônea no manejo agrário (TILLER, 1989). Tais procedimentos provocam o aparecimento de resíduos desses compostos, como por exemplo, os metais pesados, em quantidades superiores à necessidade das plantas (MALAVOLTA *et al.*, 2006).

O termo metal pesado refere-se a elementos metálicos com densidade relativamente alta e integram os componentes ativos de vários defensivos agrícolas, como por exemplo, o cobre e o zinco que são necessários para o crescimento e desenvolvimento de plantas, porém em excesso podem produzir sintomas tóxicos e a inibição do crescimento da planta (MALAVOLTA *et al.*, 2006; COUTINHO, 2007).

Com o aumento nos últimos anos das atividades antropogênicas, os minerais e elementos traços vêm sendo bastante estudados, não apenas para avaliar a qualidade dos méis, mas também para verificar a presença de contaminantes tóxicos como é o caso dos metais pesados no meio ambiente (CONTI & BOTRE, 2001; SANTOS *et al.*, 2007). Esses metais

podem se depositar nos pêlos dos corpos das abelhas ou nas matérias-primas de produtos apícolas (néctar, pólen e exsudado de plantas) através do ar, água, solo e plantas e, em seguida, serem transportadas para a colmeia (PORRINI *et al.*, 2003; BOGDANOV, 1999. Ao entrar na cadeia alimentar, podem acumular em tecidos vivos, ocasionando várias doenças e distúrbios, sendo um grande risco para a saúde do homem (TILLER, 1989; PORRINI, 2003).

Com isso, diversos trabalhos vêm sendo feitos para determinar esses elementos químicos nos méis. Dentre eles, destaca-se o trabalho de PAES (2007), que aperfeiçoou os parâmetros instrumentais para a determinação de Cu, Mn e Cd por GF AAS e observou que as amostras de mel brasileiro analisadas não são contaminadas com Cd e pode ser considerada uma boa fonte nutritiva de Mn. MAGALHÃES (2010), também pôde constatar em seu trabalho que os méis de diferentes regiões industriais e não industriais do estado de Minas Gerais são livres de contaminações por metais pesados. A utilização do mel como indicador de poluição ambiental foi feito por RIBEIRO (2010), quando estudou diferentes metais pesados em méis do Rio de Janeiro e pôde perceber a forte influência das variações climáticas e da origem botânica em grande parte dos metais estudados.

Diante dos efeitos negativos e acumulativos da presença de metais pesados e/ou produtos químicos que podem vir a causar ao ambiente e a saúde humana, percebe-se a necessidade de estudos que possibilitem o monitoramento eficiente de possíveis contaminações ao meio ambiente e aos produtos alimentícios, visando a redução dos riscos de contaminação (ROCHA *et al.*, 2012 ).

## **2.7. Técnicas analíticas utilizadas para análise do mel**

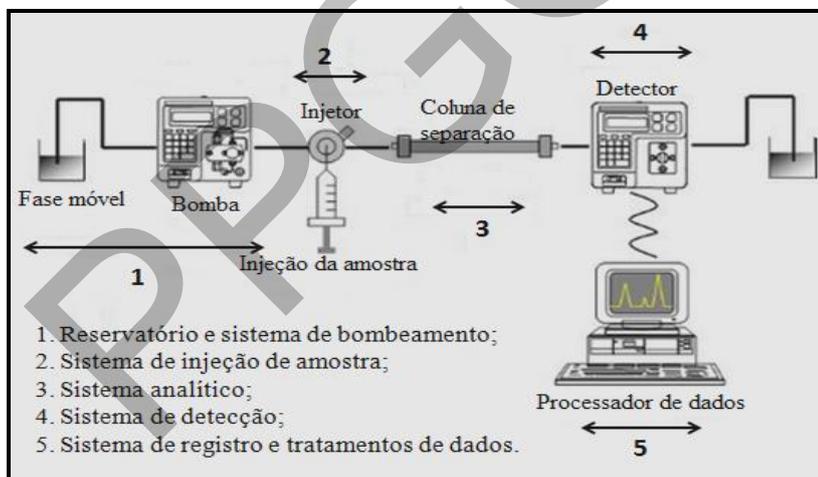
### **2.7.1. Cromatografia líquida de alta eficiência- CLAE**

A cromatografia é um método físico-químico usado para a separação dos componentes de uma mistura, os quais se distribuem em duas fases: uma estacionária, que pode ser composta por um sólido, ou um líquido retido sobre um sólido, ou um gel. A outra fase é a móvel, que pode ser líquida ou gasosa. Essa técnica vem sendo bastante usada na separação e análise quantitativa de diferentes compostos presentes em diversas amostras, comparando com padrões previamente existentes (DEGANI *et al.*,1998).

São vários os critérios utilizados para classificar as diferentes formas da cromatografia. Quanto ao mecanismo de separação, pode ser por processos físicos (como

adsorção e partição), químicos (como troca iônica e bioafinidade) ou mecânicos (como a cromatografia por exclusão) (SKOOG, 2005, COLLINS, 2006). De acordo ao estado físico da fase móvel, têm-se a cromatografia gasosa, onde a fase móvel é um gás, a cromatografia líquida com a fase móvel sendo um líquido, e a cromatografia super crítica, onde a fase móvel é um vapor pressurizado.

A cromatografia líquida, por sua vez, pode ser dividida em dois grupos: a cromatografia líquida clássica (CLC), na qual a fase móvel é arrastada por meio da coluna apenas pela força da gravidade, e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que emprega o uso de colunas fechadas com partículas finas e usa uma bomba de alta pressão para a eluição da fase móvel, proporcionando uma elevada eficiência na separação (CIENFUEGOS, 2000). Os componentes básicos do sistema da CLAE estão apresentados na Figura 3, onde a amostra é introduzida no cromatógrafo através da válvula de injeção (2) e é carregado pelo eluente (fase móvel) que sai do reservatório impulsionado por uma bomba de alta pressão (1), arrastando a amostra pela coluna (fase estacionária) (3) que separa os componentes a serem analisados, seguindo a um detector (4) que finaliza a análise registrando os resultados em um computador por meio dos cromatogramas.



**Figura 2:** Componentes básicos do CLAE

A fase móvel utilizada no CLAE deve possuir alto grau de pureza e estar livre de oxigênio ou de outros gases dissolvidos para não formar bolhas e causar danos na coluna e na eficiência do detector. Por isso, se faz necessário filtrar e eliminar esses interferentes podendo utilizar membranas de nylon (0,20 e 0,45  $\mu\text{m}$ ), celulose (0,22  $\mu\text{m}$ ) ou TEFLON (1 e 1,5 $\mu\text{m}$ ) para filtrar através de sistemas de bomba de vácuo e posteriormente usar sistema de

sonicação por meio do ultra som, para desgaseificar a fase móvel (SKOOG, 2005; ARGENTON, 2010; LEMOS *et al.* 2010).

A vazão da fase móvel é mantida por uma ou mais bombas de alta pressão. Esse bombeamento pode ser isocrático ou de gradiente. Quando a eluição é feita com a fase móvel constante, constituído com um único solvente ou com uma mistura de solventes é chamada de isocrática. Já na eluição por gradiente, a composição da fase móvel varia durante a análise, podendo utilizar dois ou mais solventes na preparação da fase móvel (SKOOG, 2005). De acordo com a fase estacionária, a CLAE pode ser de fase normal ou de fase reversa. Quando a fase estacionária é mais polar do que a fase móvel (coluna de sílica, por exemplo) é considerada de fase normal, quando a fase móvel é mais polar que a estacionária (coluna C18) é considerada de fase reversa (DEGANI, *et al.*,1998).

A injeção de amostra no cromatógrafo é realizada com auxílio de válvulas especiais que permitem introdução com grande precisão e exatidão de volumes que variam, em geral, de 5 a 20µl. A amostra é introduzida na válvula com auxílio de uma microseringa com agulha sem ponta e a injeção é efetuada pela rotação da válvula da posição de carga para a posição de injeção (ARGENTON, 2010).

As colunas utilizadas no CLAE são pequenas e recheadas de materiais especialmente preparados, geralmente feitos de aço inoxidável ou de plástico, e apresenta comprimento na faixa de 10 a 30 cm com diâmetros internos entre 2 e 5 mm. São colunas fechadas que contêm partículas muito finas que proporcionam separações eficientes. As altas pressões são utilizadas com o intuito de forçar a passagem do solvente e assim diminuir o tempo da análise (COLLINS, 2006; HARRIS, 2008). Existem diferentes tipos de coluna para a cromatografia líquida, e as mais utilizadas são: octadecil (C18, RP18, ODS), octil (C8, RP8), CN (cianopropil) e NH<sub>2</sub> (amina). Na Figura 3 estão apresentadas algumas dessas colunas, sendo que cada uma é específica para a separação de determinados compostos.



**Figura 3:** Colunas para cromatografia líquida

Ao sair da coluna, os componentes passam pelo detector que emite um sinal elétrico, o qual é registrado na forma de um cromatograma. A área do pico apresentado será proporcional à quantidade do componente analisado (ARGENTON, 2010). Para separações por CLAE, o detector mais usado é o ultravioleta (Absorção da luz na faixa UV – visível), sendo também utilizados detectores de fluorescência, de índice de refração, e eletroquímicos, entre outros (DEGANI *et al.*, 1998).

Além de possuir uma alta eficiência, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência-CLAE tem como vantagem a rapidez durante as análises e uma alta sensibilidade do equipamento, fazendo com que essa técnica seja bastante utilizada em várias áreas da pesquisa, tais como: análises de pesticidas e vitaminas, controle de qualidade de diferentes alimentos, isolamento de produtos naturais e sintéticos. O uso se faz presente também na indústria farmacêutica, na área de produção e controle de qualidade de medicamentos e em diversas outras aplicações (HARRIS, 2008; COLLINS, 2006).

### **2.7.2. Cromatografia de íons - CI**

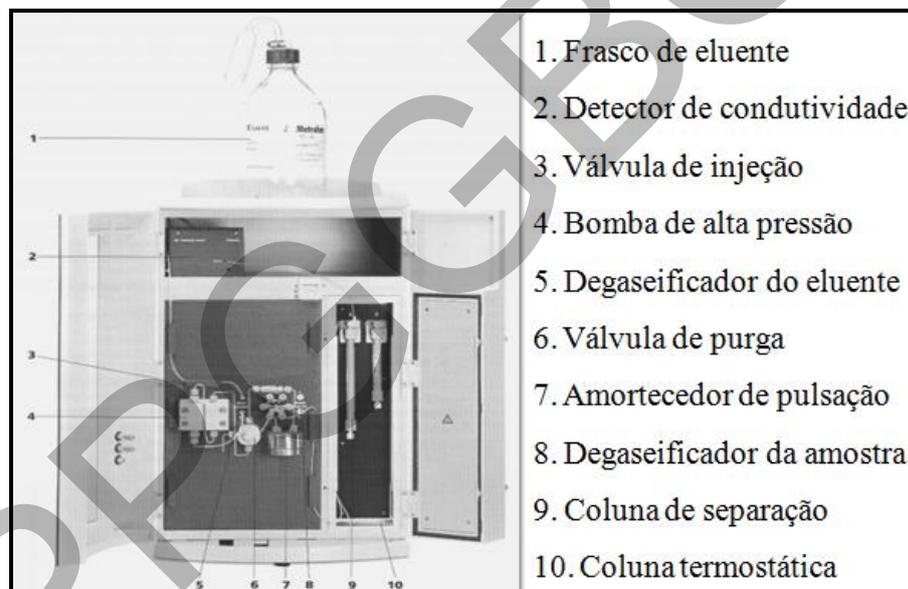
A chamada cromatografia de troca iônica teve seus primeiros registros na literatura em 1850 pelos pesquisadores Way e Thompson, que descobriram a capacidade dos solos de removerem íons de amônia das soluções que os atravessavam, substituindo-os por uma quantidade equivalente de cálcio (COLLINS, 2006). Já a técnica da cromatografia de íons foi desenvolvida em meados dos anos 1970, quando foi mostrado que misturas de cátions e ânions podem ser separados utilizando colunas de CLAE com resinas trocadoras de cátions ou de ânions como fases estacionárias (SKOOG, 2005). Com o passar do tempo, diversos pesquisadores aprimoraram essa técnica e atualmente apresenta-se como um método eficiente e seletivo na separação e determinação de diferentes íons com base em resinas trocadoras de íons.

Considerada uma subdivisão da cromatografia líquida, o princípio da cromatografia de íons está ligado também à separação dos componentes da amostra utilizando duas fases, uma móvel e outra estacionária. Sendo que, na fase estacionária as colunas empregadas são constituídas por grupo funcional carregado, geralmente por COO<sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, NR<sub>3</sub><sup>+</sup> ligados a uma matriz polimérica, com sílica ou copolímero do tipo poliestireno-

divinilbenzeno. Já a fase móvel é constituída de soluções contendo íons ou par iônico, para neutralizar a carga da molécula a ser separada (SKOOG *et al.*, 2006).

Os componentes que têm afinidade com a fase estacionária migram mais lentamente, devido à retenção na coluna. Os que não têm afinidade com a fase estacionária não ficam retidos na coluna. Assim, é possível separar as espécies de uma mistura complexa (COLLINS, 2006).

Assim como a CLAE, na CI é necessário remover as bolhas de gás e gases dissolvidos do eluente para não danificar a coluna, podendo utilizar o banho ultrassônico para desgaseificar. Na fase estacionária, utiliza-se uma resina trocadora de íons e a detecção é geralmente realizada por um detector de condutividade, apresentado juntamente com outras partes que compõem o cromatógrafo de íons na Figura 4 (MEYER, 1998).



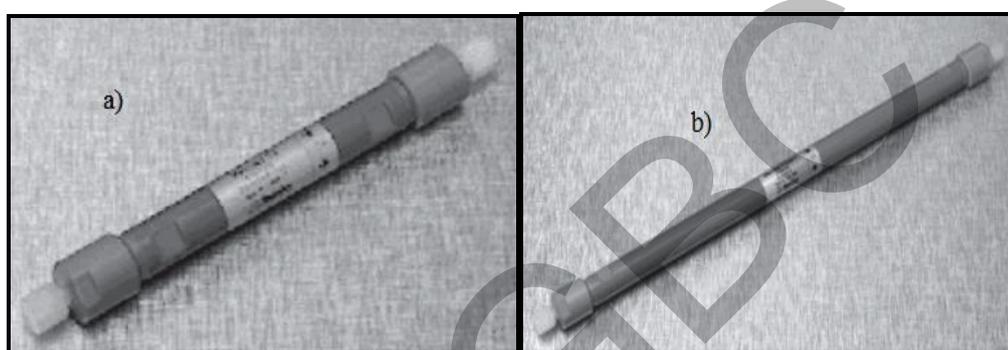
**Figura 4:** Partes que compõe um cromatógrafo de íons (FORTI, *et al.*, 2010)

A análise no CI consiste em 4 etapas: transporte, separação, detecção e análise de dados. O transporte ocorre quando os componentes da amostra são carregados pela fase móvel através da coluna, que é bombeado no sistema por meio de uma bomba inteligente de alta pressão (MEYER, 1998). Se o objetivo da análise for os ânions, a coluna utilizada terá mais afinidade com os ânions e se for cátions a coluna terá afinidade com cátions (SKOOG, 2006; HARRIS, 2008).

O funcionamento se dá quando a amostra é injetada com o auxílio de uma seringa no equipamento após ser filtrada com filtro millipore, e é arrastada com o eluente para o sistema cromatográfico. A velocidade de migração de um componente se dá em função do equilíbrio

da distribuição da amostra entre as fases móvel e a estacionária. Na separação, os íons da amostra migram pela coluna de acordo com as suas interações e passam por um supressor onde a detecção ocorre por meio da condutividade elétrica que monitora e mede a condutância dos íons da amostra, e por ultimo a análise de dados que se dá a partir da emissão do sinal da condutividade que emite os picos da amostra que vão ser comparados com os cromatogramas da solução padrão (SANTOS, 2002, FERNANDES, 2006).

Das colunas utilizadas na separação de cátions e de ânions na cromatografia de íons estão a Metrosep C2 e a Metrosep A Supp 4 que estão sendo apresentadas na Figura 5.



**Figura 5:** Coluna de cátions (a) e ânions (b) utilizados para separação dos íons (Fonte: Methrom, 2008)

Essa técnica cromatográfica apresenta diversas aplicações analíticas e preparativas tanto em pesquisa, como nas indústrias. Na química analítica, este tipo de cromatografia é usado na análise de elementos, geralmente complexados, na análise de íons ou na sua eliminação quando estes interferem na dosagem de uma determinada substância ou ainda na separação de misturas de compostos carregados (COLLINS, 2006).

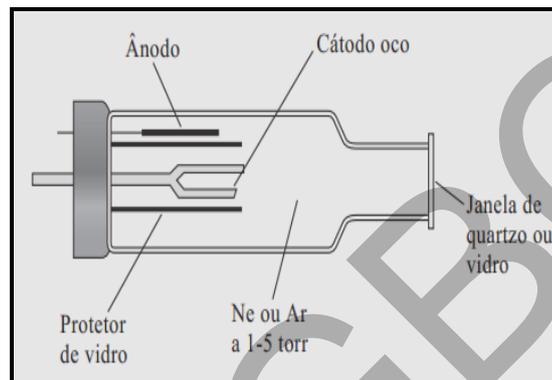
Por ser uma técnica relativamente nova, são escassos os trabalhos com mel relacionados à cromatografia de íons, com destaque para BULDINI, *et al.* (2001) que determinou metais em mel utilizando essa técnica e NOZAL *et al.* (2000) que determinou oxalato, sulfato e nitrato em méis espanhóis.

### **2.7.3 Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite – GF AAS**

No ano de 1959, houve um grande avanço na espectrometria de absorção atômica, onde Boris L'vov propôs um tubo de grafite como atomizador no lugar da chama, com base em um modelo de forno proposto por King (1905). A técnica da espectrometria de absorção

atômica é baseada na medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos no estado fundamental.

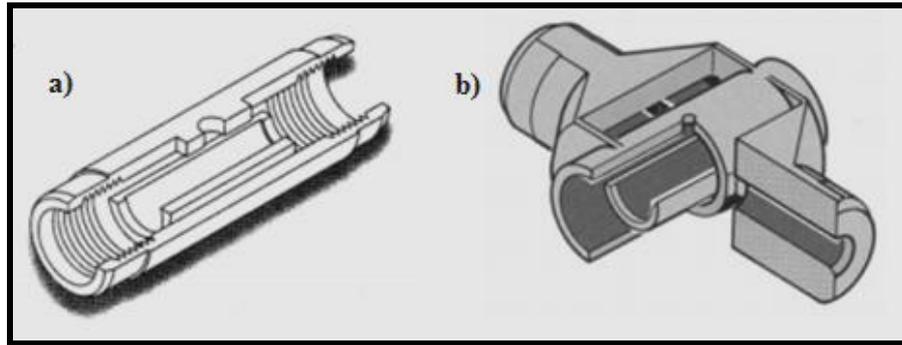
A fonte de radiação mais utilizada nesta técnica são as lâmpadas de cátodo oco (HCL, Hollow Cathode Lamp), lâmpadas de descarga sem eletrodos (EDL, Electrodeless Discharge Lamp) e as fontes contínuas, entretanto, as mais utilizadas são as lâmpadas de HCL (Figura 6), isso porque elas são excelentes fontes de linhas para a maioria dos elementos, apresenta uma alta estabilidade e um custo relativamente baixo, porém tem uma baixa intensidade de emissão e vida curta para elementos voláteis (SKOOG, 2009).



**Figura 6:** Lâmpada de cátodo oco- HCL (SKOOG, 2006)

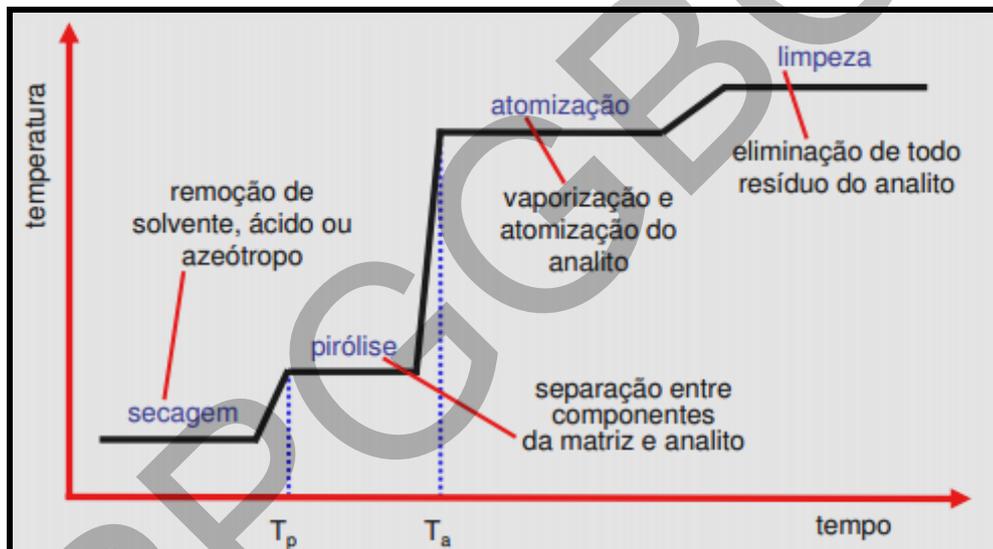
Uma lâmpada típica é construída com um tubo de quartzo selado contendo um gás inerte, como argônio ou o neônio, a uma pressão de poucos torr (~130-700 Pa) e uma pequena quantidade do metal do analito (HARRIS, 2008; SKOOG *et al.*, 2006).

A Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS) é também conhecida por um tipo de atomização eletrotérmica onde a amostra ao ser introduzida no forno de grafite é submetida a um programa de aquecimento previamente planejado. O forno de grafite possui duas formas de aquecimento: uma longitudinal e outra transversal, como esta apresentado na Figura 7. O aquecimento longitudinal oferece um gradiente de temperatura mais acentuado, diminuindo a repetibilidade do método. Por outro lado, o aquecimento transversal mantém o ambiente mais isotérmico aumentando a repetibilidade (SKOOG, 2006).



**Figura 7:** Tubos de aquecimento integrados com a plataforma de L'vov (a) longitudinal e (b) transversal (Fonte: KRUG *et al.*, 2007)

O programa do forno de grafite a qual a amostra é submetida é dividido em 04 etapas: secagem, pirólise, atomização e limpeza como pode ser visto na Figura 8.



**Figura 6:** Etapas do programa do GF AAS

Na etapa da secagem ocorre a evaporação do solvente da amostra, de acordo a sua temperatura de ebulição, geralmente em torno de 110 °C. Durante a etapa de pirólise, a matéria orgânica é calcinada ou convertida em H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>, elevando a temperatura na faixa de 300 a 1200°C, a depender da matriz estudada. Na atomização da amostra, através da elevação bastante alta da temperatura em torno de 2.000 a 3.000 °C, são gerados os átomos no seu estado fundamental em um intervalo de tempo de poucos milissegundos a segundos. A ultima etapa é a da limpeza, com o objetivo de eliminar os resíduos da matriz e não causar efeito memória, a temperatura é elevada em torno de 200-300°C a mais que a da atomização.

Essa técnica vem sendo bastante utilizada, pois apresenta boa seletividade, requer pouca quantidade da amostra e é bastante sensível, detectando concentrações dos analitos em baixíssimas concentrações como em  $\mu\text{g L}^{-1}$  (RIBEIRO *et al.*, 2002).

### 2.7.2.1. Modificadores químicos

Uma prática frequentemente utilizada em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite é o uso de modificadores químicos. Tendo como principal objetivo possibilitar uma estabilização térmica do analito, permitindo maiores temperaturas na etapa da pirólise, tornando possível a total eliminação dos concomitantes. Com isso, o modificador vem sendo considerado como um aliado na remoção de interferentes da matriz nas análises de amostras ambientais utilizando o GFAAS (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

O modificador químico pode atuar de duas formas: combinando-se com o analito, aumentando sua estabilidade térmica ou combinando-se com a matriz aumentando sua volatilidade. Existem dois tipos de modificadores químicos: os convencionais, que estão presentes em solução sendo adicionados antes, depois ou juntamente com a amostra e os permanentes, que são colocados na parede do tubo antes das análises ou na superfície da plataforma (FROES *et al.*, 2006).

Diferentes substâncias têm sido propostas para serem usadas como modificadores químicos na determinação de metais utilizando o GFAAS. Dentre os modificadores químicos convencionais os que são mais utilizados são, o Cu, Ni, Pd/Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ácido cítrico e outros. Entre os modificadores químicos permanentes são mais utilizados os Pt, Ir, Ru, Rh que são os elementos do grupo da platina e os Zr, W, Nb, Ta que são os elementos formadores de carbetos (FROES *et al.*, 2006).

Em estudo feito por PAES (2007), utilizando a técnica do GF AAS para determinação de Cu, Mn e Cd em diferentes méis brasileiros, observou-se que o uso do Pd ou Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificadores químicos nas determinações de Cu não apresentaram efeito no sinal analítico, mostrando que a matriz não interfere neste caso. Entretanto, para a determinação de Cd e Mn, foi mais adequado a utilização do modificador químico Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> respectivamente, para a análises desses metais em mel.

AJTONY *et al.* (2007) determinaram As, Cd, Cr, Cu, Pb em méis de diferentes floradas, estudando também os efeitos de diversos modificadores químicos. Para tanto, foram utilizados o NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e o Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Nesse estudo puderam comprovar, que o modificador mais eficaz entre os estudados foram a mistura de 5

mg de Pd (aplicado na forma de nitrato) juntamente com 3 mg de Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, proporcionando a temperatura de pirólise e de atomização com de 600 °C e 2300 °C, respectivamente.

### 2.7.2.2. *Pré-tratamento das amostras*

Em grande parte das análises químicas utilizando a espectrometria atômica, tem a necessidade de fazer o pré-tratamento da amostra, pois muitas matrizes necessitam de um tratamento ácido para destruir a matéria orgânica presente nas mesmas, isso porque o aparelho não consegue detectar essas moléculas orgânicas. Após esse tratamento ácido todos os concomitantes são eliminados restando somente o analito de interesse, ou seja, o metal (KRUG, 2007).

Diferentes tratamentos de amostras são descritos na literatura para determinação de metais em méis, utilizando o GFAAS. Para que as espécies químicas estejam de forma detectável, pode-se fazer a decomposição das amostras em várias formas. Dentre as mais utilizadas para o mel, estão: a radiação assistida por micro-ondas, o banho de ultrassom para o pré-tratamento das amostras e a digestão via seca e úmida.

TUZEN *et al.* (2007) para determinar metais pesados em 25 amostras de méis provenientes da Turquia, utilizou três diferentes métodos de pré-tratamento, sendo eles a digestão via seca utilizando mufla para obtenção das cinzas, digestão assistida por microondas e digestão por via úmida, e com isso concluiu que as recuperações foram melhores na digestão assistida por microondas.

Dentre os procedimentos de mineralização avaliados por PAES, (2007) para determinação de Cu, Cd e Mn em méis de diferentes regiões do Brasil, a mineralização assistida por microondas foi o mais adequado para decomposição da amostra. Foram testados 4 métodos de tratamento, sendo eles: a mineralização ácida em forno de microondas, mineralização ácida em chapa de aquecimento, Solubilização com hidróxido de tetrametilamônio e solubilização em banho de ultrassom, a decomposição por microondas foi escolhida por apresentar melhores sinais analíticos, menor dispersão dos resultados e à menor manipulação da amostra.

## 2.8. **Análise multivariada**

Para que as informações extraídas de uma análise química seja mais próxima do real, é preciso que sejam consideradas as variáveis que permitam informações químicas mais

relevantes. A quantidade de variáveis nem sempre é o que determina a boa qualidade da experimentação, pois enquanto algumas possam conter informações significativas, outras podem acrescentar informações pouco importantes para o resultado do experimento. Nesse sentido, faz-se necessário realizar um planejamento do que se pretende avaliar e com isso escolher a melhor forma de apresentar os resultados. Para tanto, a análise multivariada vai auxiliar na apresentação dos resultados, sem ocasionar uma perda relevante de informações, uma vez que, esse método estatístico reduz a complexidade do problema bem como, evidencia as relações entre as variáveis constituintes da base de dados.

A análise multivariada é uma ferramenta estatística importante na interpretação de dados analíticos frequentemente utilizados na quimiometria, que consiste na aplicação de métodos estatísticos e matemáticos com o intuito de obter informações relevantes relacionados às análises químicas. Partindo do princípio da análise simultânea de duas ou mais variáveis com base no tratamento estatístico, as informações são processadas de modo a identificar a correlação entre as variáveis em estudo. Os resultados são representados, com o maior número de informações possíveis, através de dendogramas e/ou diferentes gráficos, destacando a análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA).

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) consiste no tratamento matemático de modo a explorar as distâncias interpontuais entre todas as amostras do conjunto de dados e de acordo as similaridades entre amostras ou entre variáveis definindo-os em grupos que são representados por meio de um dendograma. A similaridade entre as amostras no dendograma são calculadas a partir da distância encontrada entre dois pontos. A medida mais conhecida e utilizada é a distância euclidiana sendo que, quanto maior a proximidade entre as medidas relativas às amostras, maior a similaridade entre elas (CORREIA & FERREIRA, 2007).

### 3. OBJETIVOS

---

#### 3.1. *Objetivo geral*

Avaliar a influência das atividades agrícolas em amostras de méis *Apis mellifera* produzidos em diferentes regiões no estado da Bahia, utilizando a cromatografia de íons e espectrometria de absorção atômica por forno de grafite.

#### 3.2. *Objetivos específicos*

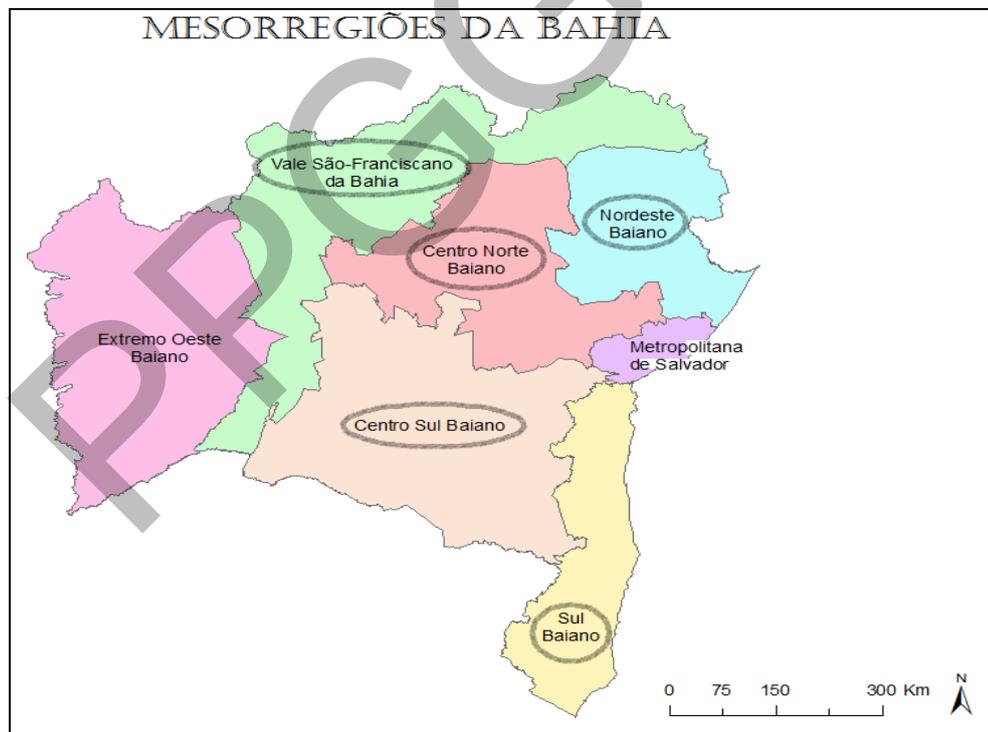
- Determinar os parâmetros físico-químicas dos méis: pH, acidez total, condutividade elétrica, cor, umidade, açúcar redutor, sacarose aparente, Hidroximetilfurfural (HMF).
- Determinar as concentrações de elementos traços utilizando o GFAAS nas amostras de mel coletado;
- Determinar as concentrações de cátions e ânions nas amostras de mel, utilizando a cromatografia de íons;
- Interpretar os dados obtidos, utilizando um programa estatístico multivariado visando avaliar os parâmetros capazes de promover a correlação, caracterização e classificação das amostras de mel em estudo;
- Contribuir para a caracterização da qualidade dos méis produzidos na Bahia;
- Publicar os resultados em congressos científicos, periódicos nacionais e internacionais.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

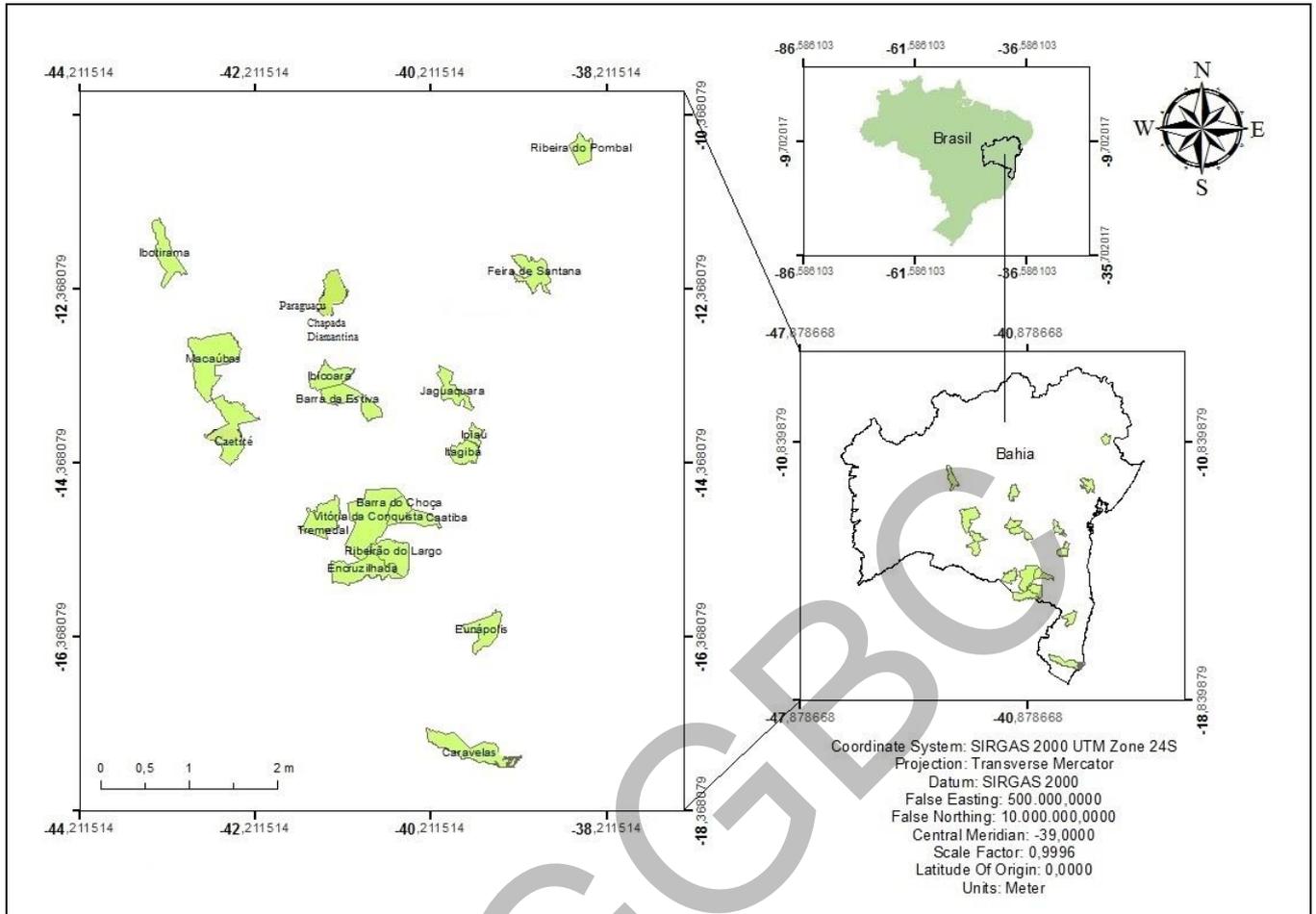
---

### 4.1. Área de estudo

Foram coletadas 38 amostras de méis *Apis mellifera* de origem mono e multifloral, no período de fevereiro de 2012 a março de 2013, oriundas de 20 municípios do estado da Bahia, representado no mapa representado na Figura 9(b). Essas cidades estão localizadas em áreas das Mesorregiões da Bahia, destacadas no mapa representado na Figura 9 (a), a saber: Ibotirama, no Vale São Franciscano da Bahia; Ribeira do Pombal, na Mesorregião Nordeste Baiano; Feira de Santana, no Centro Norte Baiano e Macaúbas, Tremedal, Caetité, Encruzilhada, Ribeirão do Largo, Jaguaquara, Barra da Estiva, Ibicoara, Chapada Diamantina, Barra do Choça, Paraguaçu, Caatiba e Vitória da Conquista, na Mesorregião Centro Sul Baiano. As cidades onde os méis foram coletados estão melhor apresentadas na Figura 9(b).



**Figura 9:** Mapa das mesorregiões da Bahia



**Figura 10:** Mapa das cidades correspondentes aos mês avaliados

➤ **Mesorregião do Vale São-Franciscano da Bahia – Ibotirama**

Localizado às margens do rio São Francisco, o município Ibotirama é ocupado com plantações de abacaxi, banana, manga, caju, fumo, cana-de-açúcar, dentre outras. Destaca-se na região a produção de milho, feijão e mandioca (SEI, 2012).

➤ **Mesorregião do Nordeste Baiano – Ribeira do Pombal**

O município de Ribeira do Pombal apresenta como principal atividade agrícola o feijão, sendo considerado a segunda região produtora do Estado da Bahia, produzindo também mandioca, milho e castanha de caju. Outra atividade econômica que vem ganhando destaque na região é a apicultura, que juntamente com os trabalhos de uma cooperativa local, vem ganhando ascensão no mercado interno e externo (ALMEIDA, 2012).

➤ **Mesorregião do Centro-Norte Baiano** – Feira de Santana

Considerada a 2ª maior cidade e mais populosa do Estado da Bahia, Feira de Santana tem como principais produtos que fomentam a economia da cidade: o milho, feijão, amendoim, fumo, farinha-de-mandioca, e principalmente a pecuária (SEI, 2012).

➤ **Mesorregião do Centro-Sul Baiano** – Macaúbas, Tremedal, Caetité, Encruzilhada, Ribeirão do Largo, Jaguaquara, Barra da Estiva, Ibicoara, Chapada Diamantina, Barra do Choça, Paraguaçu, Caatiba e Vitória da Conquista.

Dentre as principais atividades agrícolas dessas regiões estão a fruticultura (maracujá, limão, banana, caqui e abacaxi), as culturas agroindustriais (café, cana-de-açúcar, mandioca e mamona) e olerícolas (tomate, batatinha, chuchu, pimentão, repolho e pepino (RIBEIRO, 2010). A cafeicultura se destaca, desde a década de 70, como uma das principais atividades agrícolas do sudoeste da Bahia, destacando em qualidade e produção as cidades de Barra do Choça, com aproximadamente 18.000 ha de lavouras permanentes, seguida de Vitória da Conquista (10.000 ha), Barra da Estiva (10.000 ha), Ibicoara (7.000 ha), Encruzilhada (5.000 ha), Ribeirão do Largo (2.500 ha), Jaguaquara (1.550 ha) e Caetité com 410 ha.

O município de Jaguaquara encontra-se em sua maior parte localizado no bioma Mata Atlântica, e é considerado atualmente o segundo maior pólo hortifrutigranjeiro da Bahia. As culturas desenvolvidas em seu território são muito exigentes nutricionalmente e no controle de fitopatógenos, por esse motivo é considerada uma cidade agrícola que sofre agressão ao meio ambiente pelo alto índice dos agrotóxicos e adubações químicas nas lavouras da região (MOURA, 2010).

O município de Caetité tem como atividade agrícola a produção de mandioca, cana-de-açúcar, feijão, milho e café. A região vem se destacando na produção de concentrado de húmus natural sob a forma de Diuranato de Amônio (DUA), produto usado como matéria-prima para a produção de combustível para usinas nucleares. Em consequência dessa mineradora de urânio, a região enfrenta problemas ambientais, bem como os consequentes efeitos à saúde da população. Na cidade de Macaúbas também são extraídas riquezas minerais como mármore azul, cristal de rocha e a barita.

A produção agrícola da Chapada Diamantina é diversificada, predominando quatro ramos principais: fruticultura, cafeicultura, hortaliças e alimentos básicos (SEABRA, 2010). Dentre os méis estudados da chapada, alguns foram coletados nos municípios de Ibicoara,

Barra da Estiva e Paraguaçu, sendo este último, um povoado que fica localizado na Chapada Diamantina.

➤ **Mesorregião do Sul Baiano** – Itagiba, Ipiaú, Caravelas e Eunápolis.

A principal atividade agrária da cidade de Itagibá é a pecuária e a produção de cacau sendo que, atualmente, a atividade econômica da cidade está voltada para a extração e beneficiamento (ou exploração) de minério de níquel. Ipiaú também usufrui dessa mineração de Itagibá, uma vez que movimentou a cidade com os trabalhadores que ali se alocaram, trazendo mais desenvolvimento a região. Ipiaú já se destacou como grande produtor de cacau, porém a produção diminuiu nos últimos décadas, devido à vassoura de bruxa.

Caravelas é um município do Extremo Sul do Estado da Bahia cuja atividade agrícola é o principal componente da estrutura econômica, com destaque para o mamão, a pecuária, que não apresenta representatividade regional; a indústria de celulose, que ocupa 70% das terras agricultáveis do município; à pesca e ao turismo. Dentre as lavouras permanentes que se destacam no município em função da participação na região da Costa das Baleias, estão o dendê, a castanha de caju, a borracha (látex) e a goiaba.

A pecuária é a principal atividade econômica do município de Eunápolis, e de acordo às estatísticas da Adab (2009), abrange cerca de 600 produtores e 84.278 cabeças de gado leiteiro e de corte. Na agricultura, abrange a produção de cana-de-açúcar, mandioca, cacau, café, coco-da-baía, dentre outras (SEI, 2012). Entretanto, a produção desses produtos de subsistência vem diminuindo devido às elevadas plantações de eucalipto que vem tomando cada vez mais espaço na cidade, isso por causa da implantação de uma das maiores fábricas de celulose do mundo, a Veracel. Além dos próprios cultivos da empresa, os fazendeiros e agricultores da região estão plantando o eucalipto de forma desenfreada, no intuito de comercialização. (PIMENTEL, 2004).

Contudo, com a grande destruição da vegetação nativa e desmatamentos que vem ocorrendo ao longo dos anos, a produção do mel regional está cada vez mais associada ao aproveitamento da florada dos produtos agrícolas. Com isso, a preocupação do manejo de forma adequada dessas culturas ao redor dos apiários é de grande importância para que não venham a contaminar os produtos apícolas e o meio ambiente.

As aquisições das amostras analisadas foram feitas diretamente com o apicultor, e outras obtidas em supermercados. As mesmas foram devidamente identificadas, como mostra a Figura 10, mantidas em suas embalagens originais, em temperatura ambiente e protegidas da

luz até o momento das análises. As análises foram realizadas em triplicata e os cálculos matemáticos e estatísticos foram feitos utilizando o Excel 2003 e SPSS 12.0.



**Figura 7:** Amostras de mel *Apis mellifera* analisados

## 4.2. Materiais e equipamentos

### 4.2.1. Vidrarias e outros materiais

- ✓ Balão volumétrico: 10, 25, 50, 100 e 1000 mL;
- ✓ Pipeta volumétrica: 2, 5, 10, 20, 25 e 50 mL;
- ✓ Micropipetas: 1000 e 250  $\mu$ L;
- ✓ Ponteiras para micropipetas: 1000 e 250  $\mu$ L;
- ✓ Béqueres: 50 e 100 mL;
- ✓ Erlenmeyer: 125 e 250 mL
- ✓ Provetas: 10, 50 e 100 mL;
- ✓ Bastão de vidro;
- ✓ Funil de vidro;
- ✓ Tubos de ensaio;
- ✓ Espátula;
- ✓ Frascos de Polietileno – 100 mL;

- ✓ Tudo Falcon de 15 e 50 mL
- ✓ Pissete: 1000 mL;
- ✓ Papel filtro quantitativo Whatman, nº 42;
- ✓ Filtro com membrana 0,45 µm;
- ✓ Seringa – 5 e 10 mL;

#### 4.2.2. Reagentes e soluções

- ✓ Solução padrão de KCl,  $146,7 \mu\text{s cm}^{-1} \pm 0,5\%$  (25 °C) da CAAL para Condutivímetro;
- ✓ Solução tampão com pH 5,0 e 7,0 para o pHmetro (Nuclear)
- ✓ Ácido Sulfúrico 98% (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) PA marca Synth;
- ✓ Ácido nítrico - Merck PA;
- ✓ Solução de Fehling A (Sulfato de cobre) (Reagen, 98);
- ✓ Solução de Fehling B (Tartarato duplo de sódio e potássio e hidróxido de sódio) (Vetec, 99%);
- ✓ Solução-padrão de açúcar invertido (10 g/L);
- ✓ Solução de ácido clorídrico 5 M;
- ✓ Solução de hidróxido de sódio 5 M;
- ✓ Azul de metileno a 1 %;
- ✓ Acetonitrila com Grau HPLC;
- ✓ Soluções estoque de K<sup>+</sup> (Ecibra, 98,6%),
- ✓ Soluções estoque de Na<sup>+</sup> e Ca<sup>+2</sup> (Nuclear, com grau de pureza de 98 e 99%, respectivamente);
- ✓ Soluções estoque de Mg<sup>+2</sup> (Synth, 99,8% de pureza),
- ✓ Soluções estoque de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> e SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> (Vetec, com níveis de pureza 99,5, 97, 98 e 99%, respectivamente),
- ✓ Soluções estoque de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Cinética, 99%)
- ✓ Soluções estoque de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Isifar, 97%)
- ✓ Solução padrão de Cd, Cu e Pb em HNO<sub>3</sub> 5% – 1000 mg L<sup>-1</sup> marca SpecSol;
- ✓ Solução padrão de Fe e Zn em HNO<sub>3</sub> 5% – 1000 mg L<sup>-1</sup> marca AccuStandard;
- ✓ Solução de modificador químico Cd e Pb (0,05 mg NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 0,003 mg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);

Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura, obtida pelo sistema de purificação Millipore (Millipore, SP, Brasil).

#### **4.2.3. Equipamentos**

- ✓ Balança Analítica, Monobloc - modelo PB 303;
- ✓ Refratômetro ABBE de bancada Quimis, modelo: Q 767B
- ✓ Agitadores Magnéticos: com e sem aquecimento, Fisatom, modelo 752 A;
- ✓ Estufa, Fabbe;
- ✓ Digestor de amostras por micro-ondas pressurizado, Provecto Analítica, modelo DGT 100 Plus
- ✓ Lavadora Ultra-Sônica - Modelos USC-1800A e USC-1800
- ✓ Sistema Ultrapurificador de Água, Millipore - modelo Milli -Q Gradient A10;
- ✓ pHmetro de Bancada, Digimed – modelo DM 20;
- ✓ Condutivímetro Microprocessado Bancada, CAAL - modelo CD-820;
- ✓ Espectrofotômetro UV-VIS, modelo E-225D
- ✓ Espectrômetro de Absorção Atômica por Chama com Forno de Grafite, Perkin-Elmer Precisely- modelo Analyst 600;
- ✓ Lâmpadas de cátodo oco de Cd, Cu, Zn, Fe e Pb;
- ✓ Cromatógrafo de Íons Professional Metrohm IC 850
- ✓ Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, Series 200 UV/VIS, Perkin Elmer (USA)

#### **4.3. Preparo das amostras**

Para as determinações cromatográficas dos íons:  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$  e  $NO_2^-$  por CI e do HMF por CLAE, as amostras de mel foram pesadas e diluídas em água ultrapura na proporção de 1:50 (m/v), sendo que algumas amostras foi necessário apenas a diluição de 1:10(m/v). A seguir foram filtradas em membrana de borossilicato 0,45  $\mu m$ , sendo o filtrado recolhido em tubo falcon e armazenado sob refrigeração à temperatura de 4 °C até o momento das análises.

Para a determinação de Cd, Cu, Pb, Zn e Fe as amostras de mel foram solubilizadas em um sistema de digestão por microondas pressurizado, Provecto Analítica, modelo DGT 100 Plus. Adicionou-se 3 mL de  $HNO_3$ , concentrado em 0,5 g de mel e submeteu-se à

irradiação de microondas em um sistema selado, conforme programa de aquecimento apresentado na Tabela 5. Não houve a necessidade de utilizar o  $H_2O_2$ , uma vez que as amostras já saíram límpidas, ou seja, com a matéria orgânica destruída.

**Tabela 5:** Programa de aquecimento do forno de microondas

<b>Etapas</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Tempo, min.</b>	8	2	5	10	5
<b>Potência, W</b>	180	800	500	0	0

Em seguida, separou-se o resíduo remanescente por filtração em papel quantitativo Whatman, nº 42, avolumou-se o filtrado com água ultrapura para 25 mL em balão volumétrico e a seguir foram realizadas as determinações dos metais por GF AAS. Para cada amostra foi realizada extração em triplicata, e para corrigir as possíveis interferências na análise, foi preparado um branco empregando apenas o reagente utilizado na digestão sem a amostra.

#### **4.4. Determinação das espécies iônicas**

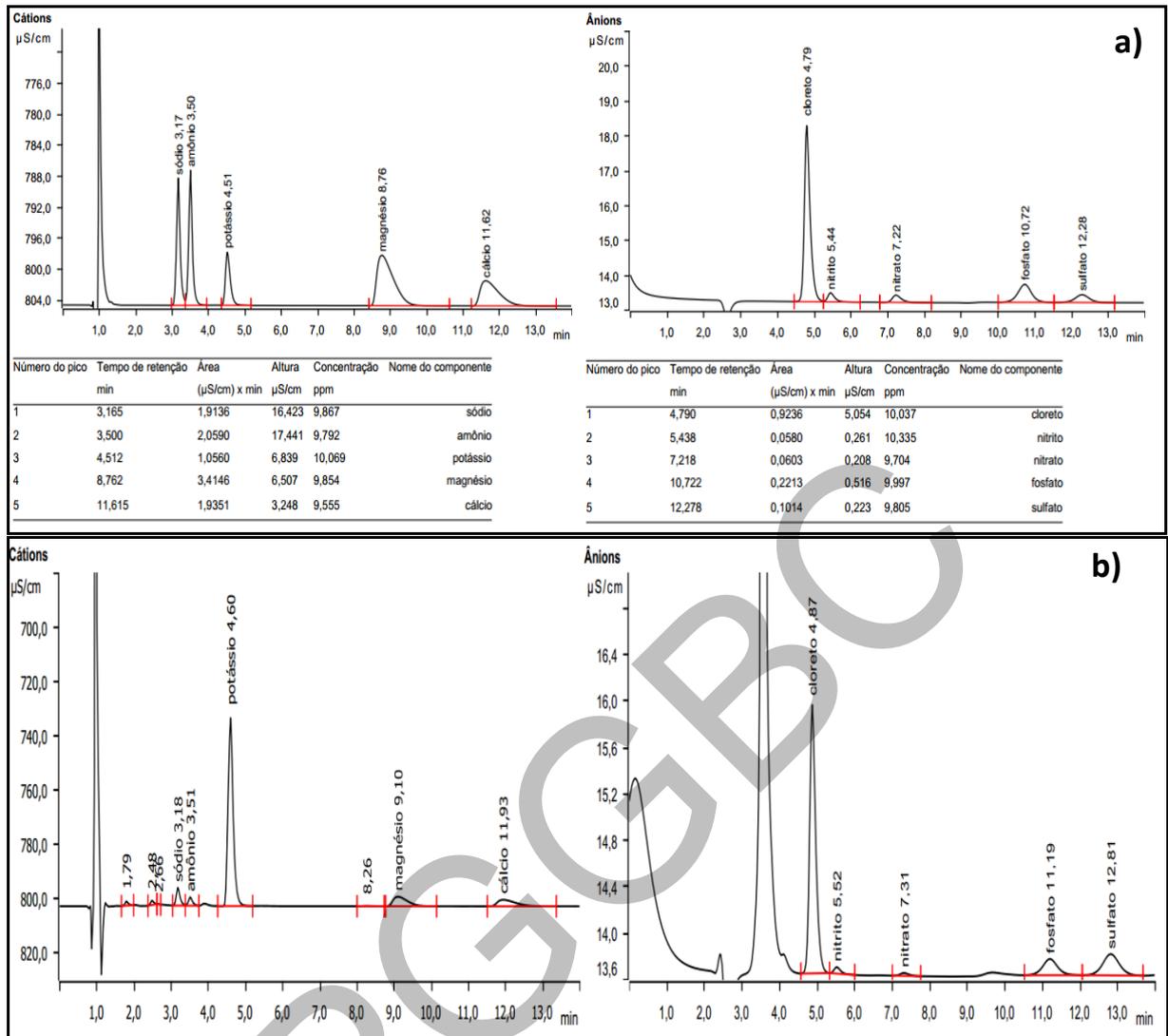
Para determinação dos cátions e ânions em mel, foi utilizado um cromatógrafo de íons (METROHM modelo 883 Basic IC plus, Herisau, Suíça), composto de uma bomba de alta pressão inteligente (Ipump), um detector de condutividade com estabilizador de detecção controlado por um software MagIC Net Basic e um sistema de supressão química do tipo "packed bed" (Figura 12). Para determinação dos ânions, foi utilizada uma coluna METROSEP A Supp4 – 250/4.0 e uma pré-coluna modelo Supp A.



**Figura 12:** Equipamento de Cromatografia iônica

A fase móvel utilizada para os ânions foi composta de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,381g) e  $\text{NaHCO}_3$  (0,289g) preparados para 2 litros. Uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (5 mL) foi empregada como regenerante da resina de troca catiônica do sistema de supressão química de condutividade, preparados para 1 litro. Para os cátions foi utilizado uma coluna de cátion C2 (150 mm) e o eluente empregado foi o ácido oxálico (0,680 g) com o fluxo de 0,9 mL por minuto. As amostras foram filtradas em membrana 0,45  $\mu\text{m}$  e diluídas para leitura. A análise dos dados foi feita com ajuda do Software MagIC Net.

Para a calibração do aparelho, utilizou-se as soluções estoque de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ , preparados pela diluição apropriada de uma massa obtida de seus respectivos padrões de grau analítico (PA). Para obtenção das curvas analíticas, as soluções de referência foram preparadas de acordo à injeção de um mix de padrões nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0  $\text{mg L}^{-1}$  para cátions e outro para ânions por diluição em água ultra pura, e o tempo de retenção de cada íon foi registrado no programa do equipamento. A Figura 1 apresenta a comparação dos cromatogramas referente ao padrão de 20  $\text{mg L}^{-1}$  e das determinações de cátions e ânions em uma amostra de mel, respectivamente. Mostrando nitidamente a separação dos íons estudados nos tempos de retenção semelhantes a dos padrões, demonstrando a eficiência e seletividade de técnica empregada.



**Figura 13:** Cromatogramas referente ao padrão de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  (a) e a uma amostra de mel (b) na análise de cátions e ânions

O tempo de corrida foi de 14 minutos para cada análise, como mostra os cromatogramas apresentados na Figura 13 e o coeficiente de correlação encontrado foi aproximadamente 0,998 para todos os íons.

#### 4.5. Determinação dos Elementos traços

Para a determinação de Cd, Cu, Pb, Zn e Fe, foi utilizado um Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), Perkin-Elmer Precisely- modelo Analyst 600 (Figura 14 a), contendo um amostrador automático (Figura 14b).



**Figura 84:** Equipamento de espectrometria de absorção atômica por forno de grafite- GF AAS (a) e o carrossel com as amostras (b)

Na calibração do aparelho para determinação dos metais Cd, Cu, Pb, Zn e Fe, as soluções estoque foram preparadas a partir de soluções padrão (Accustandart/SpecSol) de concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  e água ultrapura e acondicionadas em frascos de polietileno pré-lavados com  $\text{HNO}_3$  10%. As soluções de trabalho foram obtidas por diluição serial das soluções estoque dos respectivos metais em água ultra pura. Um branco foi preparado com  $\text{HNO}_3$  1% em água ultrapura e estocado da mesma forma. A fonte de radiação utilizada no GF AAS foi a lâmpada de cátodo oco representada na Figura 15.



**Figura 15:** Lâmpadas de cátodo oco utilizadas no GF AAS

As condições utilizadas no programa referente às etapas do GF AAS estão apresentadas na Tabela 6. O gás utilizado foi o argônio da empresa White Martins. A calibração foi realizada com os padrões referentes a cada analito. Para o Cd e o Pb, fez-se

necessário a utilização de modificadores químicos no intuito de prevenir a perda do analito durante a etapa da pirólise que ocorre no GF AAS . Para tanto, foi utilizado como matriz modificadora a solução composta por 0,050 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  + 0,003 mg de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , indicada no manual do equipamento.

**Tabela 6:** Programa de aquecimento do GFAAS utilizado para análise do Pb, Cd, Cu, Zn e Fe

Etapas	Temperatura(°C)					Tempo de rampa(s)	Tempo de espera(s)	Fluxo de espera(s)
	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe			
1. Secagem	110	110	110	110	110	1	30	250
2. Secagem	130	130	130	130	130	15	30	250
3. Pirólise	850	500	1200	700	1400	10	20	250
4. Atomização	1600	1500	2000	1800	2100	0	5	0
5. Limpeza	2450	2450	2450	2450	2450	1	3	250

#### 4.6. Caracterização das amostras de mel

Para a obtenção dos valores de pH nos méis, foi utilizado um pHmetro marca Digimed, modelo DM 20, calibrado com a solução tampão de pH 4,0 e 7,0.

Os teores de umidade foram determinados por meio do índice de refração do mel a 20°C utilizando um refratômetro ABBÉ, marca Biobrix, modelo 2 WAJ, na qual os valores são corrigidos em função da temperatura ambiente seguindo o método refratométrico de Chataway, revisado por Wedmore (AOAC,1998; LACERDA *et al.*, 2010).

Para a determinação da condutividade elétrica, utilizou-se um condutivímetro de bancada CAAL, modelo MCA-150, seguindo as recomendações da AOAC e o resultado foi expresso em milliSiemens por centímetro ( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). A acidez total dos méis foi determinada seguindo o método n° 962.19 da AOAC (1998) e é obtida por titulação com  $\text{NaOH}$  0,05 mol  $\text{L}^{-1}$  até pH 8,5 (AOAC,1998; LACERDA *et al.*, 2010).

Os açúcares redutores e não redutores (sacarose aparente) foram determinados utilizando o método de descritos nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz com algumas modificações. Através da titulação volumétrica utilizando os reativos Fehling A e B, e o azul de metileno como indicador, a determinação dos açúcares foi feita após a inversão por hidrólise ácida (IAL, 1985). Para análise de açúcar não redutor ou sacarose aparente foi determinado após a inversão por hidrólise ácida, segundo método do CAC (1990) (WELKE *et al.*, 2008).

Para a classificação da cor dos méis, utilizou-se o método de Bianchi (1981), que consiste na medida de absorvância a 635 nm de uma solução 50 % (m/v) de mel em água. Para isso, utilizou-se um espectrofotômetro UV-VIS, modelo E-225D. A classificação da cor é expressa em Pfund apresentado na Tabela 4, e calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Cor} = (371,39 \times \text{Abs } 635) - 38,70$$

Para determinação de HMF nas amostras de mel, utilizou-se a metodologia desenvolvida por LEMOS *et al.* (2010), por meio do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), composto de uma bomba series 200, válvula de amostragem, loop de 20  $\mu\text{L}$  e um detector Series 200 UV/VIS, Perkin Elmer (USA). Para separação do analito foi utilizado uma coluna RP-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$  de tamanho de partícula, Thermo, USA) representado na Figura 15 (b).



**Figura 96:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência- CLAE (a), Coluna C18(b)

O volume de amostra injetada foi de 20  $\mu\text{L}$ , a qual foi submetida a uma eluição isocrática com água/acetonitrila (80:20) com fluxo de 1 mL min, e a detecção do analito realizada em 285 nm. A curva de calibração foi feita através da padronização externa, contendo soluções padrão de HMF em água nas concentrações de 10 a 50  $\text{mg L}^{-1}$ .

#### 4.7. Avaliação estatística dos dados

Devido à existência de diferentes fatores (origem botânica, características dos solos, clima e poluição) que poderiam afetar o conteúdo do mineral ou elemento tóxico nos méis, foram aplicadas nos resultados analíticos as análises de agrupamento hierárquico (AAH) e de componentes principais (ACP), a fim de obter as variáveis químicas capazes de caracterizar os méis produzidos sob influência de cada atividade.

Para interpretação dos dados, utilizou-se AAH, que foi gerada por uma matriz de dados 38x8 onde as linhas correspondem às amostras de méis (casos) e as colunas correspondem às variáveis  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ , Cu, Cd, Fe e a CE. Como as variáveis utilizadas não possuem a mesma escala fez-se necessário escalonar os dados através do método Z-Score.

No processamento do AAH, foi utilizada a técnica de análise de cluster que se baseia na partição de uma população heterogênea em vários grupos homogêneos. No agrupamento não há classes pré-definidas, os elementos são agrupados de acordo com a semelhança. A medida de similaridade usada foi a distância Euclidiana quadrática e método hierárquico aglomerativo usado foi o método de ligação de Ward. Todos os cálculos foram realizados com auxílio dos programas SPSS e Excel 2010.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A fim de avaliar a qualidade e as possíveis contaminações químicas em méis produzidos em diferentes regiões no estado da Bahia, influenciados pelas áreas agrícolas, foram determinados os parâmetros físico-químicos (umidade, pH, acidez total, CE, HMF, açúcar redutor, açúcar não redutor e cor), cátions ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  e  $NH_4^+$ ), ânions ( $Cl^-$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$  e  $NO_2^-$ ) e elementos traços (Pb, Cu, Fe, Zn e Cd).

### 5.1. Características físico-químicas e padrão de qualidade dos méis

Os valores médios, mínimos e máximos dos parâmetros físico-químicos analisados em 38 amostras de méis, provenientes de diferentes municípios da Bahia, podem ser observados na Tabela 7.

**Tabela 7:** Resultados das análises físico-químicas em 38 amostras de méis *Apis mellifera*, produzidos no estado da Bahia.

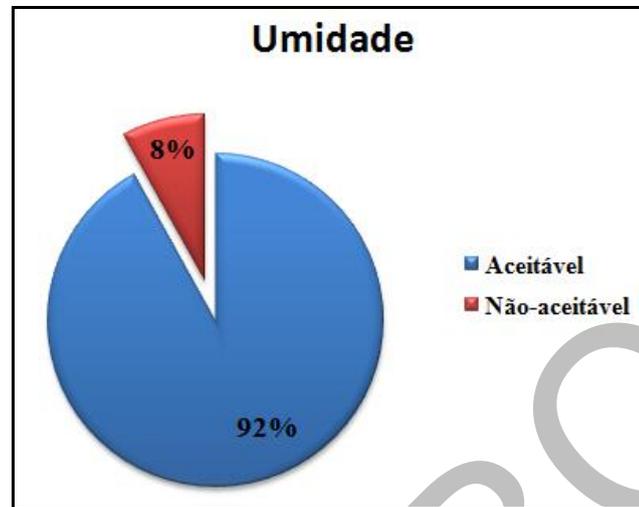
Características	Mín.	Máx.	Média±DP	Norma Vigente (Brasil, 2000)
Umidade (%)	15,20	21,86	18,55 ± 1,2	Máximo 20
pH	3,49	6,98	4,04 ± 0,5	3,3 - 4,6
Acidez (meq Kg <sup>-1</sup> )	5,3	66,00	38,20 ± 11,4	Máximo 50%
CE (µS cm <sup>-1</sup> )	116,1	1241,66	313,88 ± 210	200 – 800*
HMF (mg L <sup>-1</sup> )	<LD	383,75	90,53 ± 35,1	Máx. de 60
AR* (%)	59,41	82,91	71,7±3,1	Mínimo 65%
ANR** (%)	0,32	14,24	5,75 ± 1,7	Máximo 6%
Cor (Mm Pfund)	<LD	198,61	48,72 ± 37	Branco água(0-8) à Âmbar-escuro(>114)

\*Açúcar redutor/ \*\*Açúcar não redutor / LD: limite de detecção do método

#### 5.1.1. Umidade

Os teores de umidade encontrados nas amostras estudadas apresentaram os valores mínimo de 15,20 e o máximo de 21,86 %. Valores semelhantes foram encontrados em méis provenientes do estado do Ceará apontado por SODRÉ, *et al.* (2007) e em méis do sudoeste da Bahia apresentado por LACERDA *et al.* (2010). Dentre as 38 amostras avaliadas, 3 apresentaram teores de umidade acima do valor permitido pela legislação brasileira que é de

20%. Com isso, apenas 8% do conjunto de amostras apresentaram elevados teores de umidade, conforme indicado no gráfico da Figura 17 (BRASIL, 2000).



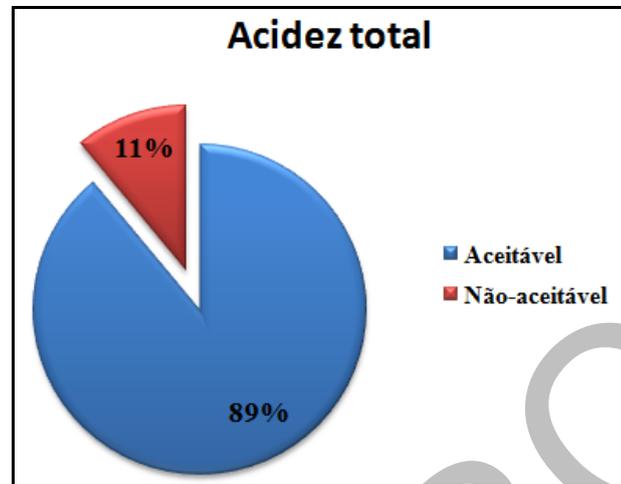
**Figura 17:** Percentual da umidade encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

As amostras que não estão em conformidade com a legislação são provenientes das cidades de Vitória da Conquista e Jaguaquara. O teor de umidade é um parâmetro relacionado com o grau de maturidade do mel. Desta forma, os valores elevados de umidade nessas regiões podem estar relacionados com a coleta do néctar com um teor alto de água, bem como pelo processamento indevido através da retirada do mel ainda imaturo ou o armazenamento inadequado. Segundo CAMARGO (2003), a quantidade de água acima do permitido pode favorecer o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis, como também a fermentação do mel.

### 5.1.2. Acidez total

Os valores médios de acidez encontrado nas amostras foi de 38,20 meq Kg<sup>-1</sup>. Estes valores estão próximos aos encontrados em méis oriundos do sudoeste da Bahia por LACERDA *et al.* (2010) e em méis de diferentes regiões brasileiras apontado por JESUS *et al.* (2012). A acidez total é considerada um indicativo de deterioração do mel, sendo que sua origem se deve a diferentes fatores, tais como a quantidade de ácidos orgânicos, atividades enzimáticas, ação das bactérias durante a maturação e os minerais presentes em sua

composição, que vão influenciar na textura e na estabilidade do mel (TERRAB, 2003). O conteúdo máximo de acidez de acordo a legislação é de  $50 \text{ meq Kg}^{-1}$  de mel (BRASIL, 2000).



**Figura 18:** Percentual da acidez encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

Das 38 amostras analisadas, 11% delas apresentaram-se acima do máximo permitido pela legislação brasileira, conforme observa-se na Figura 18. Os méis que apresentaram índice de acidez em desacordo com os limites estabelecidos foram de Vitória da Conquista, com florada de Unha de gato, e outra amostra com a florada Aroeira, Barra do Choça e Eunápolis ambas com florada silvestre com  $52,0$ ;  $53,0$ ;  $53,65$  e  $66,0 \text{ meq Kg}^{-1}$  respectivamente. A acidez é um parâmetro importante para a conservação e sabor do mel, e esses valores podem ter relação com a origem botânica ou armazenamento inadequado do produto.

### 5.1.3. Condutividade Elétrica

A média encontrada para a condutividade elétrica nos méis estudados foi de  $313,88 \mu\text{S.cm}^{-1}$ , entretanto, 42% das amostras como mostra a Figura 19, apresentaram valores fora dos padrões exigidos pelas normas internacionais que é de  $200$  a  $800 (\mu\text{S.cm}^{-1})$ .

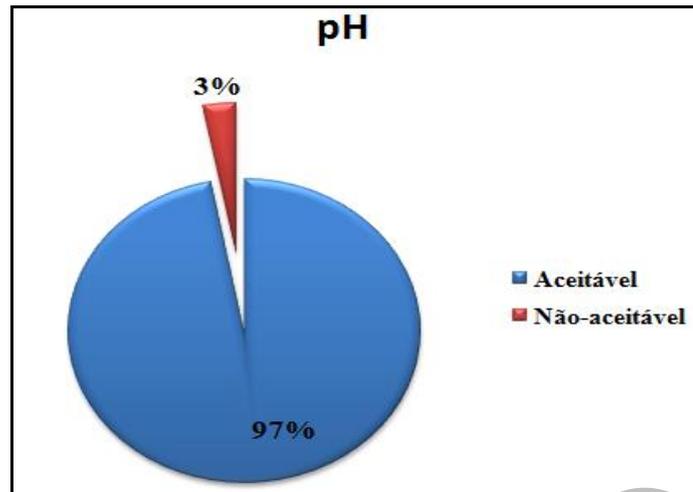


**Figura 19:** Percentual da condutividade elétrica encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

A condutividade elétrica de acordo BOGNADOV *et al.* (1999), está relacionado a quantidade de minerais presentes nas amostras, podendo ser utilizado como um dos parâmetros para definir a origem botânica do mel. CAMPOS (1998) complementa que em suas observações, pode perceber que os méis de mesma origem floral apresentaram condutividade elétrica muito semelhante, mesmo sendo de origens geográficas e condições climáticas distintas. Neste trabalho foram poucos os méis de mesma florada que apresentaram valores semelhantes de CE. Entretanto, os altos valores da CE coincidiram com os méis que apresentaram altos valores de potássio.

#### 5.1.4. pH

Os valores de pH entre as amostras avaliadas variaram de 3,28 à 6,98, estando de acordo aos encontrados por EVANGELISTA-RODRIGUES *et al.* (2005), sendo que, em apenas uma das amostras, encontrou-se um resultado superior ao permitido pela legislação vigente, o valor de 6,98. Tal amostra é oriunda da cidade de Caravelas no sul da Bahia, indicando que pode ter sofrido algum tipo de adulteração. As demais amostras avaliadas (97%) estão de acordo com a norma vigente que é de 3,3 a 4,6 como mostra a Figura 20 (BRASIL, 2000).



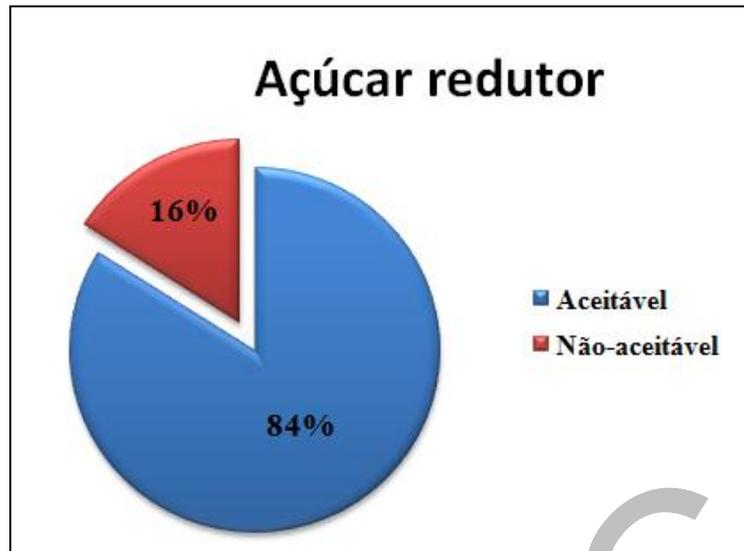
**Figura 20:** Percentual do pH encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

O pH é um importante parâmetro de avaliação da qualidade do mel, refletindo os procedimentos de extração e armazenamento durante a sua produção. O pH pode sofrer variação de acordo a composição florística da área em que a abelha circunda, influenciado pela concentração de diferentes ácidos, cálcio, sódio, potássio e outros constituintes das cinzas.

#### 5.1.5. Açúcar redutor

O conteúdo de açúcar redutor (glicose e frutose) presentes nos méis em estudo, variaram de 59,41% a 82,91% com o valor médio de 71,7%. A grande maioria das amostras se enquadram nos padrões estabelecidos pela legislação brasileira para o mel floral que exige um mínimo 65% de açúcares redutores (BRASIL, 2000). Entretanto, 6 amostras (aproximadamente 16%) provenientes da cidade de Vitória da Conquista, Ribeira do Pombal, Feira de Santana, Caravelas, Barra da Estiva e Macaúbas apresentaram valores inferiores de açúcares redutores ao permitido pela legislação (Figura 21).

Valores próximos foram encontrados por SILVA *et al.* (2004) em méis produzidos no estado do Piauí, para diferentes floradas, que obteve a variação de 68,92 a 85,49% (média 77,25% %) e por BARROS (2010), em méis do Rio de Janeiro que encontrou o valor médio de 71,67% ( 53,52- 88,67%).



**Figura 21:** Percentual de açúcar redutor encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

Esse parâmetro é utilizado para indicar a quantidade de açúcar presente no mel, uma vez que algumas de suas características, como higroscopicidade e a cristalização, estão ligados à quantidade dos açúcares redutores (frutose e glicose) presentes no mel (CAMPOS, 1998). Quanto mais alta as taxas de frutose presente no mel, mais tempo tende a permanecer líquido, conseqüentemente, demorando mais tempo para cristalizar.

#### **5.1.6. Açúcar não redutor (Sacarose aparente)**

O açúcar não redutor, ou também conhecido como sacarose aparente, determina a quantidade de sacarose presente no mel, sendo que o limite máximo tolerável pela legislação é de até 10% para méis de origem floral. O percentual encontrado de sacarose aparente foi com o valor médio de 5,75% (0,32- 14,24%), e a amostra que indicou maior percentual foi proveniente da Chapada Diamantina com 14,24%, seguido de uma amostra de Vitória da Conquista com 11,52%. Entre as 38 amostras analisadas, aproximadamente, 26% ficaram acima do permitido pela legislação que é de 6% (Figura 22).

Valores de sacarose acima do permitido pela legislação foi encontrado também em méis produzidos em São Paulo (0,2- 11,4%) e em méis de Mossoro/RN (1- 8,78%) por ALMEIDA (2002) e AROUCHA *et al.* (2008), respectivamente.



**Figura 22:** Percentual de açúcar não redutor encontrado nos méis estudados considerando a legislação vigente

Segundo AZEREDO *et al.*(1999), o teor elevado de sacarose pode ser considerado como indicativo de uma colheita prematura do mel, momento esse em que a sacarose não foi ainda transformada totalmente pela ação da enzima invertase pelas abelhas, em glicose e frutose. SODRÉ *et al.* (2007), complementa dizendo que o alto teor de sacarose pode indicar, também, uma adulteração do produto.

#### 5.1.7. Cor

Em relação à coloração das amostras estudadas, foram encontradas todas as classes de cores que são estabelecidas pela classificação do mel na tabela Pfund (Figura 4), que considera aceitáveis variações de branco-água (0- 8 mm) a âmbar-escuro (114 mm ou mais), como mostra a Figura 23. LACERDA *et al.* (2010) em um trabalho feito com méis do sudoeste da Bahia, também encontrou essa variedade de cores em suas amostras e através de uma análise multivariada, afirmou a relação existente entre as cores dos méis e a sua composição físico-química.



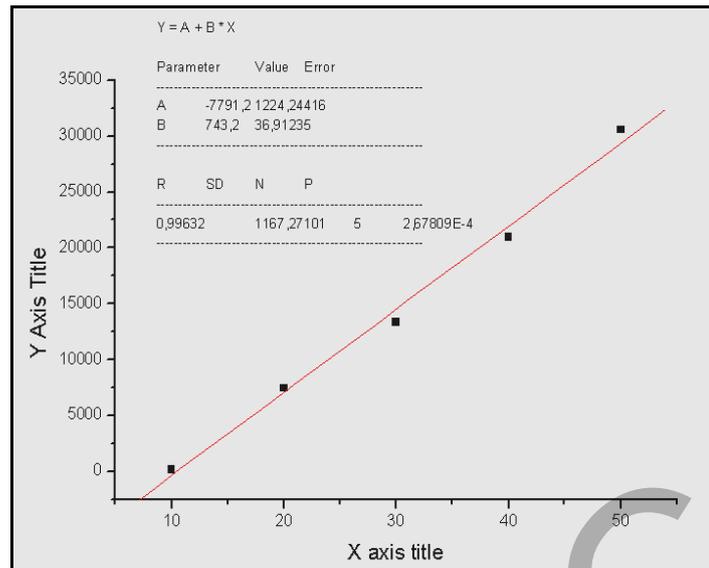
**Figura 23:** Distribuição percentual das cores encontradas nos méis estudados

Os méis que apresentaram uma coloração mais escura foram em duas amostras de Vitória da Conquista cuja florada era de Aroeira, e os méis da cidade de Tremedal e Feira de Santana, ambos com florada silvestre. Os méis mais claros, classificados como Branco-água, eram provenientes de Caravelas, florada Mata atlântica e Vitória da Conquista com a florada de unha de gato.

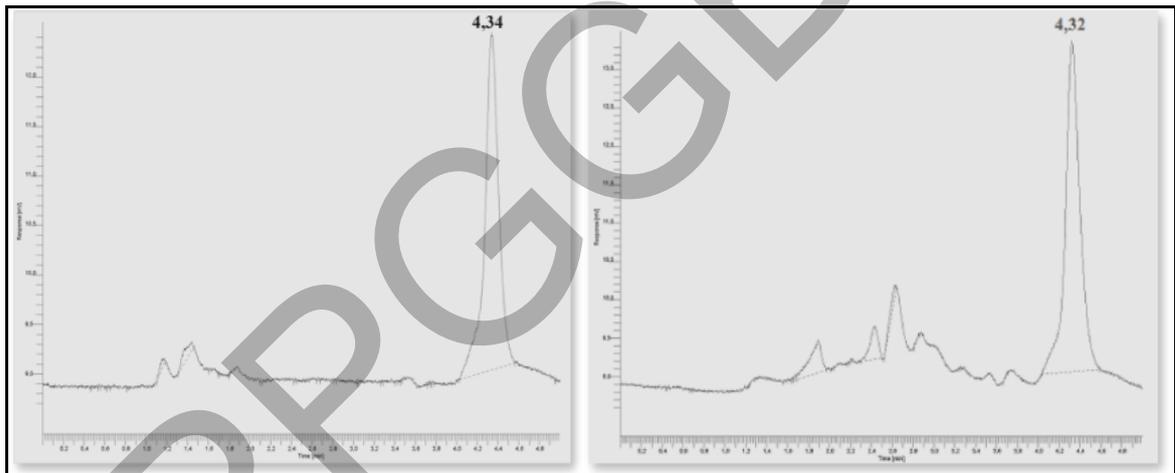
As cores encontradas nos méis estudados estão em conformidade com a legislação que considera aceitáveis variações entre branco água e âmbar escuro (BRASIL,2000). Estudos relatam que a diferença da cor dos méis tem relação com a origem botânica e região onde os méis foram coletados, podendo sofrer influência também em todo o processo de manejo, processamento e armazenamento dos méis.

#### 5.1.8. Hidroximetilfurfural

A curva analítica obtida através dos padrões do HMF está apresentada na Figura 24 e o coeficiente de correlação resultante foi igual a 0,996. O cromatograma obtido para a solução do padrão na concentração de 20,0 mg L<sup>-1</sup> e na análise de uma amostra estão apresentados na Figura 25, respectivamente.

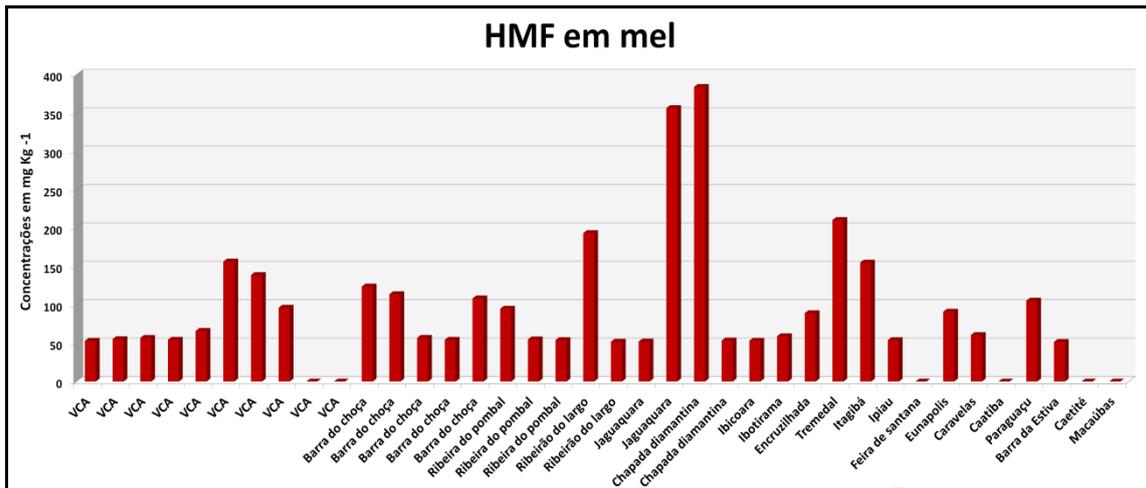


**Figura 24:** Curva analítica do HMF, construída pela injeção da solução padrão nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup>



**Figura 25:** Cromatogramas obtidos pela análise de solução padrão de 20 mg L<sup>-1</sup> de HMF(a), amostra de mel com a presença do HMF(b)

Observou-se que o tempo de retenção do HMF no padrão e na amostra (Figura 25) foram semelhantes, com 4,34 e 4,32 min., respectivamente. Mostrando a seletividade e a linearidade do método proposto para a separação do analito por LEMOS *et al.*, 2010. As concentrações encontradas de HMF nas amostras estudadas estão apresentadas na Figura 26.



**Figura 26:** Comparação entre as médias de HMF encontradas em diferentes amostras de mel

O teor médio de HMF encontrado foi de  $85,4 \text{ mg Kg}^{-1}$ , sendo que 37,5% das amostras apresentaram valores superiores a  $60 \text{ mg Kg}^{-1}$  que é o valor máximo permitido pela legislação vigente (BRASIL, 2000). Algumas amostras oriundas região da Chapada Diamantina e das cidades de Jaguaquara, Tremedal, Ribeirão do Largo, Itagibá e Vitória da Conquista com 383,75; 356,15; 210,15; 193,35; 154,9 e 156,25  $\text{mg Kg}^{-1}$ , respectivamente, apresentaram valores demasiadamente elevados. Esses altos índices de HMF nas amostras estão relacionadas, provavelmente, com a forma de armazenamento e/ou superaquecimento do produto, uma vez que são méis processados a mais de 10 meses e isso fez com que aumentasse a quantidade do HMF.

## 5.2. Teores das espécies iônicas nas amostras

As abelhas produzem méis com vários tipos de elementos químicos, alguns desses elementos se constituem em importantes fontes de minerais para as necessidades humanas. No entanto, se suas concentrações excederem os níveis de segurança, eles podem se tornar tóxicos. Desta forma, os teores dos minerais e de elementos traços em méis podem representar uma indicação da poluição ambiental ou da origem geográfica onde o mel foi produzido.

Os valores médios e o desvio padrão obtidos nas análises dos cátions e ânions dos méis estudados estão representado na Tabela 8.

**Tabela 8:** Resultados das determinações dos cátions e ânions (média  $\pm$  desvio-padrão, n=3) obtidos nas amostras de méis de diferentes regiões da Bahia.

Nº amostral	Localidade	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>
1	VCA	428,9 $\pm$ 0,8	31,2 $\pm$ 0,8	887 $\pm$ 3,8	13,5 $\pm$ 1,4	86,4 $\pm$ 1,1	409,7 $\pm$ 5,6	3 $\pm$ 0,6	135 $\pm$ 3,1	68,23 $\pm$ 1,5	35,2 $\pm$ 1,7
2	VCA	171,6 $\pm$ 0,2	23,3 $\pm$ 0,9	524,1 $\pm$ 2,9	12,1 $\pm$ 0,4	71,3 $\pm$ 3,3	453,1 $\pm$ 4,0	6,88 $\pm$ 0,7	ND	85,65 $\pm$ 2,3	20,95 $\pm$ 0,8
3	VCA	215,7 $\pm$ 2,1	15,1 $\pm$ 0,8	1048,3 $\pm$ 14,9	11,4 $\pm$ 1,1	69,5 $\pm$ 3,9	857,8 $\pm$ 6,7	0,36 $\pm$ 0,1	ND	64,81 $\pm$ 2,6	26,16 $\pm$ 1,8
4	VCA	113,9 $\pm$ 1,8	14,6 $\pm$ 1,6	636,7 $\pm$ 3,7	16,4 $\pm$ 2,4	57,8 $\pm$ 3,4	87,86 $\pm$ 1,1	64,2 $\pm$ 3,9	0,15 $\pm$ 0,09	64,46 $\pm$ 3,3	84,64 $\pm$ 3,2
5	VCA	121,9 $\pm$ 1,5	19,3 $\pm$ 1,4	1027,5 $\pm$ 0,4	94,7 $\pm$ 1,6	82,9 $\pm$ 2,9	4931 $\pm$ 56,2	3,43 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,6	88,6 $\pm$ 3,0	27,56 $\pm$ 3,3
6	VCA	94,7 $\pm$ 1,4	23,9 $\pm$ 1,1	658 $\pm$ 13	24,2 $\pm$ 1,4	70 $\pm$ 1,6	920,2 $\pm$ 2,4	17,3 $\pm$ 1,4	3,5 $\pm$ 0,4	88,93 $\pm$ 2,8	20,11 $\pm$ 2,7
7	VCA	264,7 $\pm$ 1,9	20,3 $\pm$ 0,7	951 $\pm$ 12	21,6 $\pm$ 1,6	92,7 $\pm$ 1,1	410,1 $\pm$ 3,1	ND	2,19 $\pm$ 0,7	44,7 $\pm$ 3,6	ND
8	VCA	118,4 $\pm$ 1,1	16,9 $\pm$ 0,5	659,2 $\pm$ 15,8	10,5 $\pm$ 2,0	72,2 $\pm$ 0,4	1056,4 $\pm$ 10,7	19,2 $\pm$ 2,6	0,26 $\pm$ 0,08	61,59 $\pm$ 5,1	3,39 $\pm$ 0,05
9	VCA	386,8 $\pm$ 2,2	1,1 $\pm$ 0,5	836 $\pm$ 4,5	15,1 $\pm$ 1,3	132,8 $\pm$ 4,3	266,4 $\pm$ 5,3	ND	13,7 $\pm$ 1,9	49,2 $\pm$ 2,0	9,8 $\pm$ 1,06
10	VCA	453,4 $\pm$ 0,5	50,5 $\pm$ 2,4	895,7 $\pm$ 6,3	14,5 $\pm$ 1,1	116,3 $\pm$ 2,4	269,7 $\pm$ 2,5	ND	9,3 $\pm$ 0,9	69,5 $\pm$ 2,4	8,1 $\pm$ 1,0
11	Barra do Choça	93,6 $\pm$ 1,4	17,7 $\pm$ 1,4	409,4 $\pm$ 5,1	9,1 $\pm$ 1,1	66,3 $\pm$ 1,1	91,54 $\pm$ 1,6	5,8 $\pm$ 0,6	0,36 $\pm$ 0,07	68,6 $\pm$ 3,7	2,28 $\pm$ 0,7
12	Barra do Choça	160,2 $\pm$ 0,4	24,7 $\pm$ 0,6	721,7 $\pm$ 2,8	20,1 $\pm$ 1,2	58,7 $\pm$ 0,7	1276,5 $\pm$ 17,2	ND	0,17 $\pm$ 0,1	ND	69,21 $\pm$ 2,9
13	Barra do Choça	73,4 $\pm$ 0,8	16,5 $\pm$ 1,2	440,8 $\pm$ 3,8	13,6 $\pm$ 0,8	45,9 $\pm$ 2,1	73,04 $\pm$ 2,4	ND	2,68 $\pm$ 0,2	42,67 $\pm$ 1,4	ND
14	Barra do Choça	117,2 $\pm$ 1,4	17,4 $\pm$ 1,8	623,1 $\pm$ 3,9	20,7 $\pm$ 0,7	68,8 $\pm$ 1,1	1093,8 $\pm$ 9,6	22,32 $\pm$ 2,4	0,23 $\pm$ 0,06	65,27 $\pm$ 1,7	3,09 $\pm$ 0,7
15	Barra do Choça	78,8 $\pm$ 1,2	23,5 $\pm$ 2,7	627,4 $\pm$ 1,4	18 $\pm$ 1,4	52,5 $\pm$ 2,3	1509,5 $\pm$ 3,1	10,1 $\pm$ 1,3	0,43 $\pm$ 0,1	ND	1,05 $\pm$ 0,4
16	Ribeira do Pombal	115,6 $\pm$ 1,5	14,2 $\pm$ 0,9	686,3 $\pm$ 3,0	39,4 $\pm$ 1,1	92,2 $\pm$ 2,8	1348,5 $\pm$ 3,2	ND	159,9 $\pm$ 7,5	49,64 $\pm$ 1,7	5,15 $\pm$ 0,5
17	Ribeira do Pombal	149 $\pm$ 0,6	24,3 $\pm$ 2,3	708,9 $\pm$ 1,2	27,7 $\pm$ 1,5	97,7 $\pm$ 3,2	2002 $\pm$ 11,4	29,2 $\pm$ 3,1	3,1 $\pm$ 0,4	57,43 $\pm$ 3,2	8,81 $\pm$ 1,2
18	Ribeira do Pombal	209,1 $\pm$ 0,5	36,3 $\pm$ 1,0	2202,5 $\pm$ 0,6	47,9 $\pm$ 1,4	146,8 $\pm$ 0,8	2128 $\pm$ 16,0	2,7 $\pm$ 0,5	0,44 $\pm$ 7,5	73,51 $\pm$ 2,8	8,46 $\pm$ 0,9
19	Ribeirão do Largo	122,2 $\pm$ 1,9	18,3 $\pm$ 1,4	526,1 $\pm$ 2,9	13,6 $\pm$ 1,6	49,4 $\pm$ 5,7	89,34 $\pm$ 3,6	12,8 $\pm$ 1,2	1,44 $\pm$ 0,09	80,08 $\pm$ 3,9	16,41 $\pm$ 2,3
20	Ribeirão do Largo	132,6 $\pm$ 2,2	20 $\pm$ 1,6	686,3 $\pm$ 3,2	12,7 $\pm$ 0,2	69,7 $\pm$ 7,1	268,8 $\pm$ 7,7	ND	0,46 $\pm$ 0,08	69,53 $\pm$ 1,8	5,08 $\pm$ 2,5
21	Jaguaquara	291,3 $\pm$ 1,9	22,4 $\pm$ 1,8	3106 $\pm$ 9	57,5 $\pm$ 1,8	115,7 $\pm$ 5,5	515 $\pm$ 3,1	71,71 $\pm$ 4,2	2,17 $\pm$ 0,32	71,38 $\pm$ 2,3	4,51 $\pm$ 1,1

22	<b>Jaguaquara</b>	87,1±1,5	27,2±1,5	496,7±3,2	15±1,0	53,9±1,6	512,7±4,5	0,74±0,3	0,19±0,02	87,6±3,2	5,79±0,9
23	<b>Chapada Diamantina</b>	187,9±1,4	35,7±2,4	804,5±1,7	26,9±1,1	81,5±3,9	510±11,9	0,8±0,3	ND	73,78±1,4	23,21±2,8
24	<b>Chapada Diamantina</b>	131±0,5	16,9±1,0	653,1±1,9	21,4±1,7	51,5±1,5	245,2±3,4	0,6±0,2	0,31±0,1	ND	7,61±1,2
25	<b>Ibicoara</b>	167,9±2,8	23,4±0,8	1078,4±0,6	24,9±1,4	47,8±1,6	682,7±10,6	2,6±0,2	0,13±0,06	ND	69,21±4,6
26	<b>Ibotirama</b>	50,7±0,4	11,5±1,0	237,6±3,1	4,9±0,4	31,9±2,4	52,24±1,5	ND	0,84±0,2	23,56±1,5	ND
27	<b>Encruzilhada</b>	1241±4,2	18±1,6	2778±3	40,2±2,0	128±2,2	818,1±7,5	ND	0,35±0,09	93,78±1,2	14,33±2,3
28	<b>Tremedal</b>	78±1,4	20,3±2,1	1080,5±2,0	193,3±4,5	71,9±3,7	739,4±2,5	1,3±0,4	28,4±3,3	50,55±2,5	13,56±1,4
29	<b>Itagibá</b>	186,1±2,8	24,4±3,6	1000,1±2,9	89,6±1,6	182,2±4,9	511,2±2,3	0,3±0,1	2,52±0,5	62,41±2,1	6,27±1,8
30	<b>Ipiau</b>	161,8±1,9	29,3±1,6	2712,5±1,3	106,5±1,5	228,5±4,7	1565,5±9,9	1±0,4	3,25±0,4	69,58±3,8	10,45±1,4
31	<b>Feira de Santana</b>	171,8±1,5	26,3±3,9	1057,1±3,9	20,2±1,1	82,2±3,0	1355±14,7	ND	0,2±0,1	81,47±4,8	10,3±2,5
32	<b>Eunapolis</b>	370,9±0,1	32,9±2,2	1002,1±1,5	28,5±1,2	772,2±15,2	243,4±4,6	3,5±0,8	ND	96,73±2,6	28,08±2,4
33	<b>Caravelas</b>	470,5±4,9	15,1±2,7	4417±7	41,3±0,7	59±4,0	1095,2±7,4	ND	0,33±0,06	46,95±5,5	41,64±2,1
34	<b>Caatiba</b>	90,5±0,7	39,3±1,9	1009,2±2,8	50,9±0,4	114,4±6,0	289,1±6,3	1,6±0,2	7,62±0,6	75,65±2,5	10,85±0,7
35	<b>Paraguaçu</b>	1086±1,4	33,9±2,8	642,1±3,1	12,3±0,6	41,8±2,4	1015,4±4,0	ND	87,2±5,3	ND	ND
36	<b>Barra da Estiva</b>	237,8±7,0	22,4±1,0	5769,5±3,4	171,5±5,6	240,9±5,3	1340±9,8	ND	29,3±2,6	ND	7,3±1,3
37	<b>Caetité</b>	99,5±3,5	168,9±5,4	1777±3,0	21±1,3	104,8±13	1093±14,7	0,8±0,2	28,1±1,5	ND	ND
38	<b>Macaúbas</b>	120,7±1,6	28,1±1,4	1441±3,7	12,8±0,6	84,8±5,4	1159±9,1	3,3±1,1	2,1±0,3	ND	ND

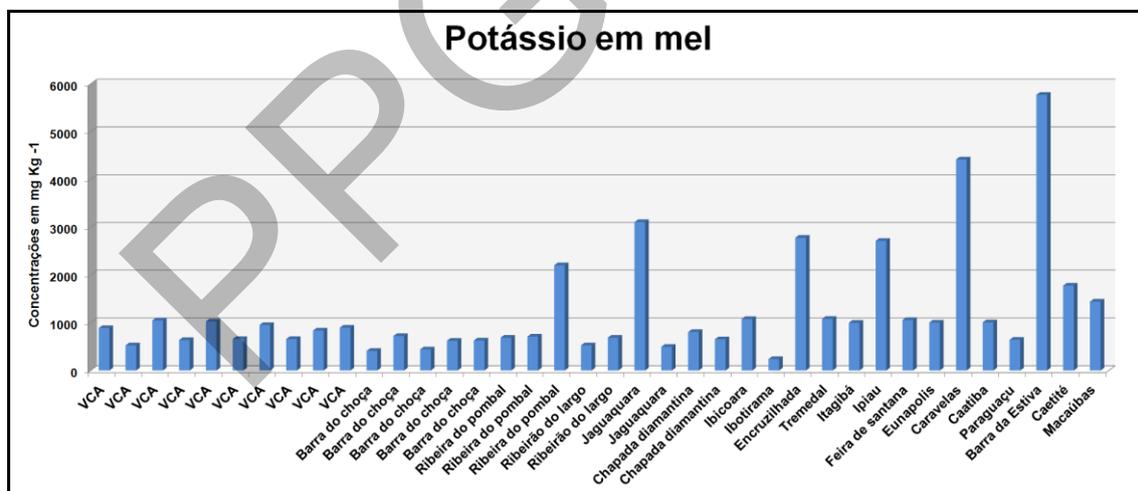
VCA=Vitória da Conquista; ND=Não detectado

### 5.2.1. Cátions no mel

O potássio foi o cátion que apresentou, em média, a maior concentração nos méis avaliados, com  $1274,5 \text{ mg Kg}^{-1}$ , seguido do  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{NH}_4^+$  com as concentrações médias de 1274,5; 272,6; 109,86; 41,31 e  $27,4 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente. Esses íons fazem parte da composição de alguns fertilizantes químicos que ao serem inseridos no solo, podem contaminar o ambiente.

#### ▪ Potássio

As concentrações de potássio nas amostras de mel apresentaram uma grande variação, sendo que, o menor valor ( $237,6 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) foi encontrado na região de Ibotirama e os valores mais altos nos municípios de Barra da Estiva e Caravelas, com 5769,5 e  $4417 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente, apresentados no Figura 28. Barra da Estiva é uma região que tem como principal atividade econômica a produção de café, na qual esses altos valores de potássio podem ter sofrido influência do manejo feito nos cafezais próximos às áreas apícolas.



**Figura 27:** Comparação entre as médias de  $\text{K}^+$  encontradas em diferentes amostras de mel

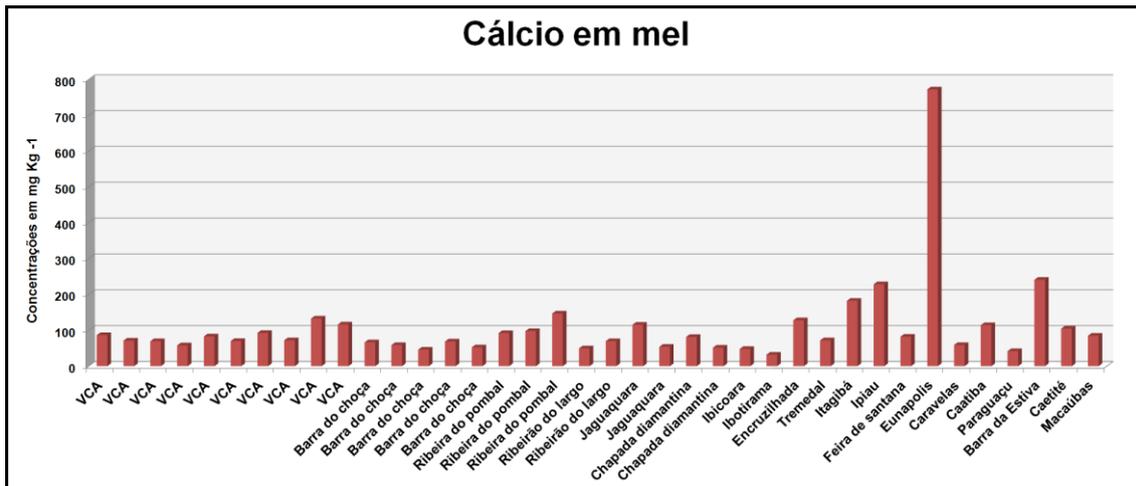
O nível médio encontrado para o  $\text{K}^+$  ( $1356,92 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) está em conformidade com os valores apresentado por MENDES *et al.*, (2003) que avaliou méis de diferentes países e encontrou a média de  $1760,3 \text{ mg Kg}^{-1}$  nas regiões norte e centro oeste do Brasil. LACERDA *et al.*, (2010), também encontrou concentrações elevadas em méis provenientes do sudoeste

da Bahia, com valor médio de 1534,38 mg Kg<sup>-1</sup>, sendo o valor máximo de 4058,8 mg Kg<sup>-1</sup>. Concentrações inferiores a este trabalho foi encontrado por MBIRI *et al.*, (2011), em méis oriundos do Quênia que apresentaram o valor médio de 781,52 mg Kg<sup>-1</sup>. De acordo à tabela de minerais em mel claro e mel escuro apresentado por LENGLER (2001), o nível máximo de potássio no mel deve ser de até 1676 mg Kg<sup>-1</sup>, sendo assim, os valores médios de potássio encontrada nesse trabalho, estão de acordo se comparado com esses valores. Entretanto, necessita um cuidado especial nos méis dos municípios que extrapolaram esse limite. Uma das formas de cuidado pode ser feita por meio do manejo adequado das áreas agrícolas através da adubação, uma vez que, essa é uma maneiras de entrada do potássio nas diversas culturas, já que o K faz parte da relação dos três principais nutrientes fornecidos à planta, e bastante utilizado nas lavouras, composto por nitrogênio, fósforo e potássio (N-P-K) (MALAVOLTA, 2006).

Sendo considerado de grande importância em diversos processos vitais, o potássio facilita a contração muscular, as transmissões nervosas e ajuda a manter um batimento cardíaco normal, além de regular os níveis de acidez do sangue. Desta forma, a quantidade de potássio no organismo deve ter uma atenção maior, uma vez que quando sua concentração está abaixo das taxas consideradas normais, pode resultar em paralisia muscular e alteração do ritmo cardíaco. O excesso pode provocar arritmia cardíaca, confusão mental e fraqueza muscular (WITCZAK M., 2011).

- **Cálcio**

O cálcio é o quinto mineral mais abundante no organismo e possui múltiplas funções nas plantas, sendo essencial para a integridade da membrana plasmática das células vegetais, especificamente para a seletividade do transporte de íons que elas realizam (UFLA, 2005).



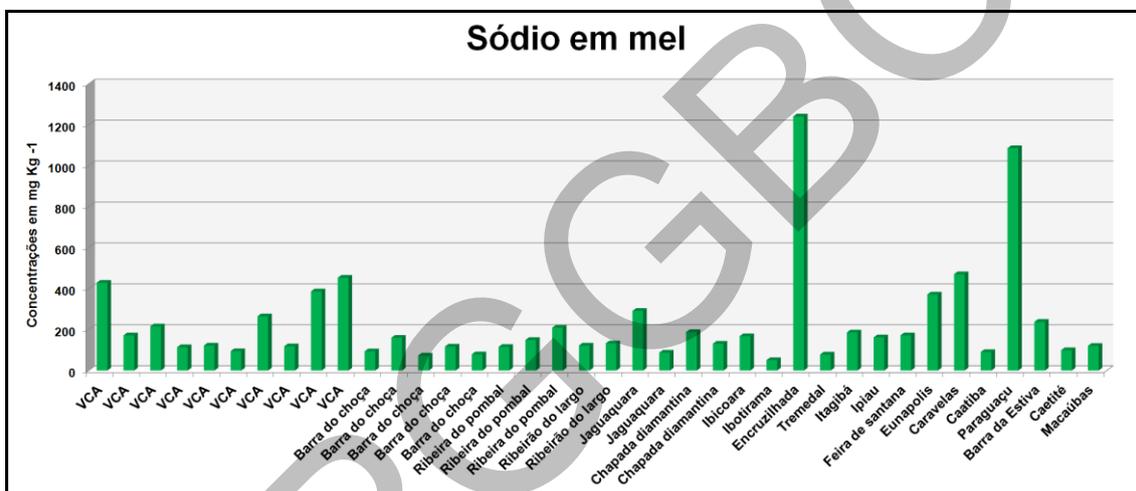
**Figura 28:** Comparação entre as médias de Ca encontradas em diferentes amostras de mel

De acordo os resultados apresentados na Figura 29, a concentração média de cálcio encontrada nas amostras foi de  $123,77 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Valores semelhantes foram encontrados em méis provenientes do sudoeste da Bahia estudado por LACERDA *et al.* (2010) que apresentou a variação de  $31,7 - 132,3 \text{ mg Kg}^{-1}$  e por méis de origem silvestres ( $103,46 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) estudados por ITO, E.H. (2011) em méis provenientes da região de São Paulo. ITO, E.H. (2011) encontrou também em seus estudos, valores mais altos de cálcio em méis de eucalipto ( $260,31 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). Baixas concentrações de cálcio, comparando com os méis em estudo, variando entre  $20,04 - 81,71 \text{ mg Kg}^{-1}$  foram encontradas em méis do estado de Sergipe (ALMEIDA, 2012).

O valor mais alto de cálcio nos méis estudados foi apresentado no mel proveniente da região de Eunápolis com  $772,2 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Esse valor está bem elevado se comparado com a tabela dos conteúdos dos minerais presentes em méis claros e escuros que sugere a variação de  $23 \text{ à } 266 \text{ mg Kg}^{-1}$  de cálcio em méis de abelhas (LEGLER, 2001; EMBRAPA, 2003). Essa região tem uma alta produção de cana-de açúcar, mandioca, entre outras, destacando a elevada produção de eucaliptos, que serve de matéria prima para a produção de celulose e papel na indústria local. Desta forma, este aumento significativo de cálcio no mel pode ser associado pela frequente utilização da calagem e gessagem na produção dessas diferentes culturas, através do uso de calcário e sulfato de cálcio nos solos, que são técnicas que se complementam no intuito de corrigir a acidez do solo e elevar a disponibilidade deste macronutriente (MALAVOLTA, 2006).

- **Sódio**

A concentração média de sódio encontrada nos méis em estudo foi de  $303,38 \text{ mg Kg}^{-1}$ , valores superiores foram encontrados por LACERDA *et al.* (2010) em méis do sudoeste da Bahia com a variação de  $130 - 2634 \text{ mg Kg}^{-1}$ , e por TERRAB *et al.* (2004) em amostras de mel de tomilho da Espanha com o valor médio de  $389 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Concentrações menores foram encontrados em méis do estado de Sergipe com a variação de  $14,21 - 174,84 \text{ mg Kg}^{-1}$ , em méis de eucalipto produzidos no estado de São Paulo com o valor médio de  $95,47 \text{ mg Kg}^{-1}$ , e em méis do Pantanal que apresentou o valor médio de  $54,76 \text{ mg Kg}^{-1}$  (ALMEIDA, 2012; ITO, 2012; BERTOLDI *et al.*, 2007).



**Figura 29:** Comparação entre as médias de  $\text{Na}^+$  encontradas em diferentes amostras de mel

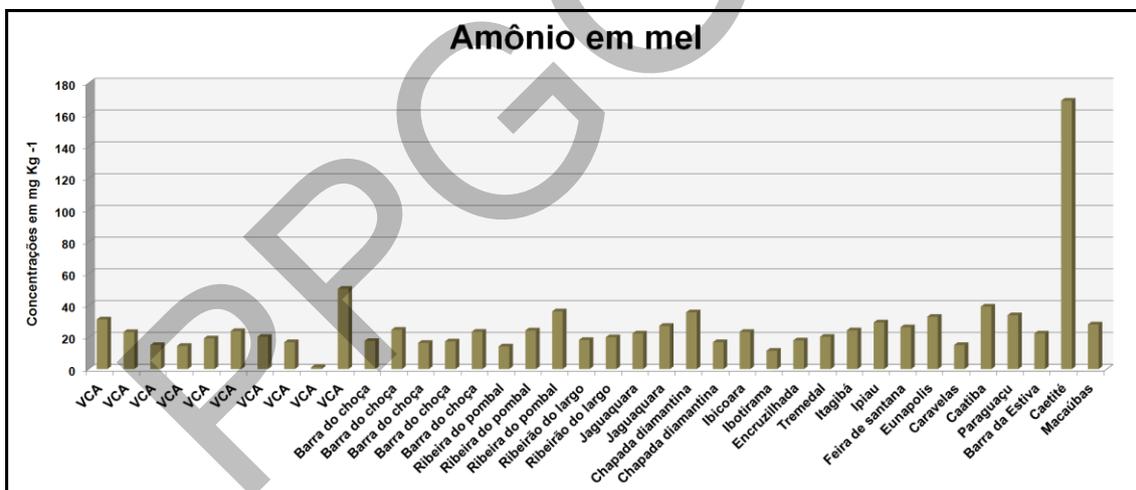
As maiores concentrações de sódio nos méis estudados se apresentou nas cidades de Encruzilhada e Paraguaçu com  $1241$  e  $1086 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente, e o menor valor foi encontrado na cidade de Ibotirama com  $50,7 \text{ mg Kg}^{-1}$ , apresentado na Figura 30. Essas diferenças nas concentrações de sódio podem ser associadas ao manejo agrícola ao redor do apiário, bem como da diversidade florística e condições edafo-climáticas das regiões estudadas.

A principal função do sódio está ligada ao equilíbrio osmótico no organismo, tendo grande influência na pressão sanguínea. Desta forma, essas concentrações de sódio encontrados nos méis estão muito elevados se comparado com a tabela de minerais presente nos méis que preconiza os valores entre  $6 - 400 \text{ mg Kg}^{-1}$ , sendo bastante preocupante, uma

vez que o excesso desse elemento no organismo apresenta o risco de desenvolver hipertensão arterial (LEGLER, 2001; EMBRAPA, 2003).

#### ▪ Amônio

Ao estudar a concentração de amônio nos méis, pode-se observar um valor elevado na amostra proveniente da cidade de Caetité. Esta é uma região localizada no semiárido baiano, onde a sua maior atividade econômica está ligada ao enriquecimento de urânio, sendo que, a matéria prima usada no processo químico do concentrado de urânio tem na sua composição o diuranato de amônio, conhecido como DUA [formula:  $(\text{NH}_4)_2\text{U}_2\text{O}_7$ ], matéria-prima para produção de combustível para usinas nucleares (PRADO, 2007; FILHO *et al.*, 2003). Desta forma, esse alto valor de amônio encontrado no mel da cidade de Caetité, pode ser associada a mineração presente na região, uma vez que, as abelhas ao forragear em áreas agrícolas próximas a essas áreas, podem estar levando esses e outros contaminantes para a colmeia (Figura 30).



**Figura 30:** Comparação entre as médias de  $\text{NH}_4^+$  encontradas em diferentes amostras de mel

Não foi encontrado na literatura a quantidade permitida desse cátion em alimentos, no entanto, nas análises dos méis estudados, o valor médio apresentado poderá servir de parâmetros para estudos futuros. Nas regiões em estudo, a presença do amônio pode ter vindo dos fertilizantes utilizados a base de amônio como o nitrato de amônio, sulfato de amônio bem como, por meio da amonização que ocorre na ciclagem de nitrogênio no meio ambiente, que por intermédio das bactérias aeróbicas e anaeróbicas, ocorre a decomposição



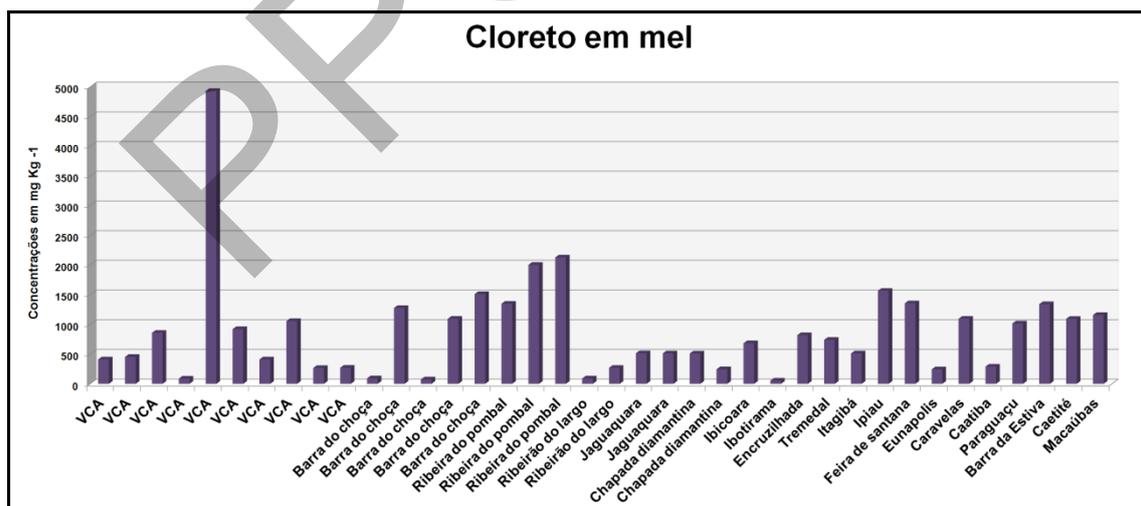
### 5.2.2. Ânions no mel

Entre os ânions em estudo, o  $\text{Cl}^-$  apresentou a concentração mais elevada nas amostras analisadas, com um valor médio de  $889,10 \text{ mg Kg}^{-1}$  seguindo pelo  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{NO}_2^-$ , com valores de  $54,06$ ;  $16,10$ ;  $13,4 \text{ mg Kg}^{-1}$  e o  $\text{NO}_3^-$  com  $7,13 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente.

#### ▪ Cloreto

As amostras analisadas tiveram altas concentrações de cloreto variando de  $52,24 - 4931,0 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Na tabela de minerais em méis apresentada pela EMBRAPA, (2003), preconiza a variação de  $23 - 266 \text{ mg Kg}^{-1}$  de cloro presente nos méis, com isso a grande maioria apresentaram altas concentrações, dando destaque a um dos méis proveniente da cidade de Vitória da Conquista, onde foi encontrado um valor extremamente elevado como mostra a Figura 33. Provavelmente essa alta concentração de cloreto pode ser associado ao uso dos fertilizantes a base de cloro utilizados nas áreas agrícolas ao redor do apiário.

REIS *et al.* 2013, em um estudo prévio, determinou cloro em mel utilizando a potenciometria com eletrodo íon seletivo (ISE) e com diferentes soluções absorvedoras, encontrou a média de  $223,5 \mu\text{g g}^{-1}$  de cloro no mel.



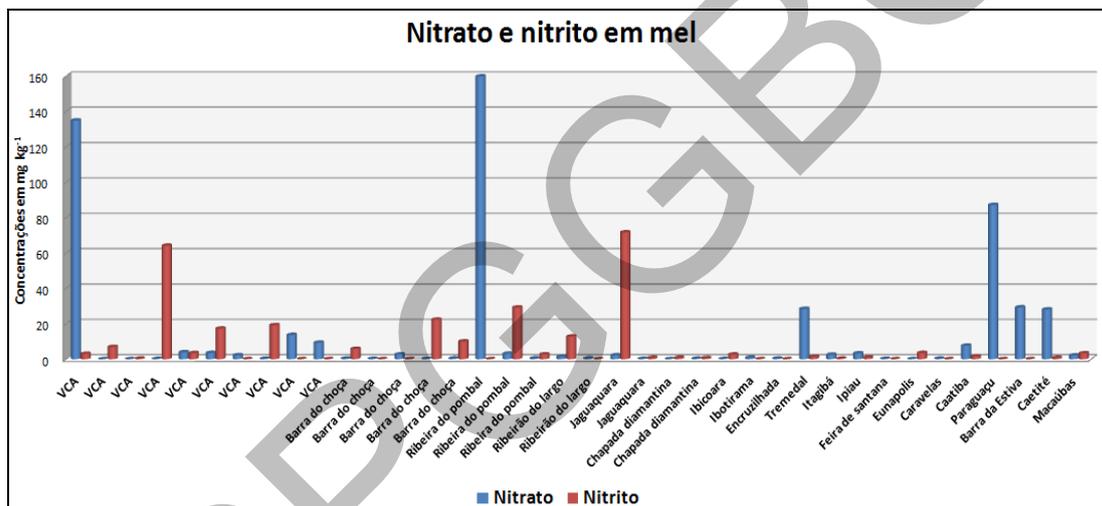
**Figura 32:** Comparação entre as médias de  $\text{Cl}^-$  encontradas em diferentes amostras de mel

O cloro é um dos macroelementos mais importantes para o bom funcionamento do organismo, responsável pela manutenção do equilíbrio ácido-base do corpo, participa da

digestão dos alimentos por ser um componente do suco gástrico e também por regular o transporte de fluídos através das membranas celulares de organismos vivos (SERFOR-ARMAH *et al.*, 2002). No entanto, o consumo excessivo desse íon nos alimentos pode causar diversos distúrbios na saúde humana, daí a importância de monitorá-lo no estudo em questão.

#### ▪ Nitrato e nitrito

Pode-se perceber diante da Figura 34 que uma grande parte das mostras estudadas apresentaram nitrato e nitrito abaixo do limite de detecção. No entanto, das 38 amostras, as concentrações mais altas se deram nas regiões de Ribeira do Pombal, Vitória da Conquista e Paraguaçu com 159,9; 135 e 87,2 mg Kg<sup>-1</sup>, respectivamente.



**Figura 33:** Comparação entre as médias de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NO<sub>2</sub><sup>-</sup> encontradas em diferentes amostras de mel

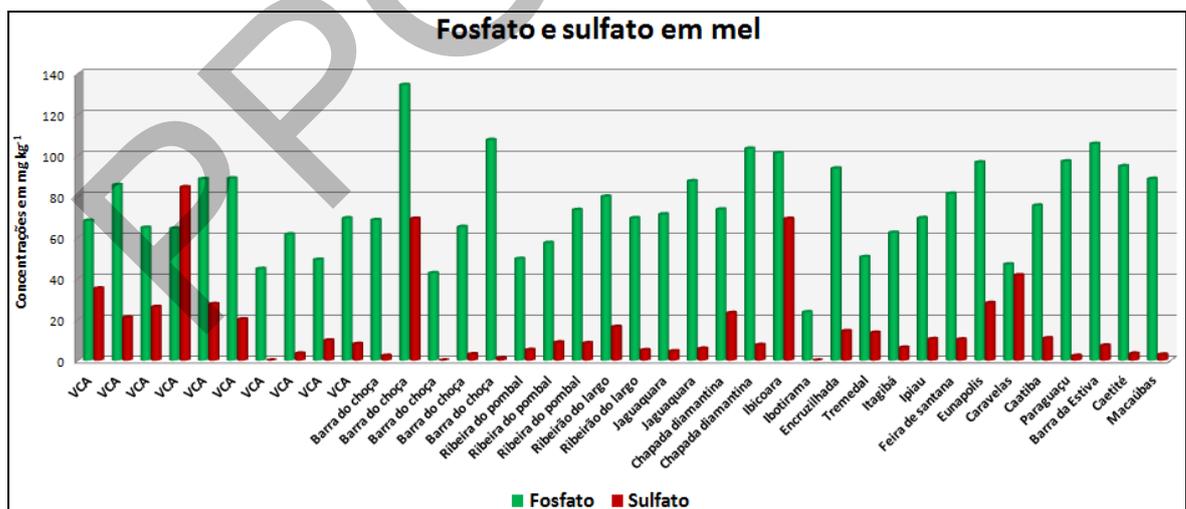
As concentrações de nitrato dos municípios de Ribeira do Pombal, Vitória da Conquista e Paraguaçu com 159,9, 135 e 87,2 mg Kg<sup>-1</sup> respectivamente, foram elevadas se comparadas com os demais resultados apresentados na Figura 33. Em relação a concentração do nitrito os municípios de Jaguaquara e Vitória da Conquista se apresentaram maiores em relação aos demais municípios estudados. Esses valores, tanto do nitrato como do nitrito, tornam-se preocupantes devido a sua toxicidade, uma vez que o nitrato, quando presente no organismo, se reduz a nitrito e forma as nitrossaminas, que são substâncias consideradas carcinogênicas (REYES *et al.*, 1987). Além disso, a ingestão de nitratos e nitritos pode também ocasionar outros problemas de saúde, como o aparecimento de metaemoglobinemia principalmente em crianças e problemas gastrointestinais (ANDRADE, 2004).

O nitrato e nitrito são compostos encontrados naturalmente na água, no solo e nos vegetais, já que estes compostos são absorvidos como fonte de nitrogênio para seu crescimento (GUADAGNIN, 2004). A grande utilização de fertilizantes nitrogenados nas áreas agrícolas tais como ureia, sulfato de amônio e nitrato de amônio podem ter influenciado na elevação desses íons no mel, bem como, a partir da mineralização ou nitrificação, que acontece através da ciclagem de nitrogênio e pela conversão de nitrito a nitrato pelas bactérias (nitrobacter) presentes nos solos (LESSA, 2007).

Desta foram, o monitoramento desses íons nos alimentos é de suma importância, já que nas diversas áreas agrícolas onde são utilizados os fertilizantes nitrogenados, as concentrações de nitrato e nitrito podem variar tanto nas plantas, como no solo e na água.

#### ▪ Fosfato e sulfato

O fosfato encontrado nos méis apresentam uma grande variação de 0 - 96,73 mg Kg<sup>-1</sup>. Os valores mais altos foram provenientes da região de Barra do Choça, que apresentaram em duas amostras o valor de 134, 56 e 107,69 mg Kg<sup>-1</sup>, seguido de Barra da Estiva, Chapada Diamantina e Ibicoara com 105,8, 103,45 e 101,29 mg Kg<sup>-1</sup> respectivamente.



**Figura 34:** Comparação entre as médias de PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> encontradas em diferentes amostras de mel

Um valor bastante elevado de sulfato, em comparação com as demais regiões estudadas, foi encontrado na cidade de Vitória da Conquista, com 84,64 mg Kg<sup>-1</sup> seguido de

Barra do Choça e Ibicoara que apresentaram valores semelhantes com 69,21 e 69,23 mg Kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Essas regiões que apresentaram valores elevados de fosfato e sulfato têm como principal atividade agrícola a cafeicultura. Com isso, esses altos valores de sulfato encontrados podem ser associados provavelmente à grande utilização de defensivos fosfatados, bem como os defensivos à base de sulfato utilizado no manejo dos cafezais, sendo o sulfato de cálcio e de potássio o mais utilizado para correção de solo. Na literatura não se encontra valores permitido para esses íons em alimento, entretanto esses valores podem ser considerados normais se comparados com os valores encontrados por NOZAL *et al.* (2000), que também encontrou sulfato em méis de diferentes origens florais, variando de 20 a 206 mg Kg<sup>-1</sup>.

### 5.3. Teores de Cu, Cd, Zn, Fe, Pb nos méis

A presença de metais traços nos alimentos traz grande preocupação aos pesquisadores da área ambiental, devido ao risco à saúde causado pela bioacumulação dos mesmos no organismo. Esses metais traços podem entrar no corpo humano por diversas maneiras, seja pelo consumo de água contaminada, ingestão de alimentos contaminados diretamente com agrotóxicos ou por aqueles cultivados em solo contendo esses metais ou até mesmo através da inalação da poeira em locais contaminados.

Para determinação dos elementos traços, diversos trabalhos na literatura utilizam a técnica do GFAAS, isso porque, ela oferece muitas vantagens, tais como: baixos limites de detecção, pouca quantidade de amostra utilizada em cada análise e quando comparada com outras técnicas analíticas ela é relativamente rápida. Para tanto, para alguns elementos voláteis, como cádmio e o chumbo recomenda-se a utilização do modificador químico, nos trabalhos científicos sobre o mel recomenda-se a utilização do modificador Pd + Mg, por apresentar melhores resultados, entretanto, são relativamente caros. Por isso no presente trabalho foi utilizado a mistura de NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> que também é considerado um modificador universal, pois pode ser utilizado para diversas matrizes e também é indicado pelo manual do equipamento como melhor indicador para tais elementos.

As concentrações encontradas de Cu, Cd, Zn, Fe, Pb nas amostras de mel estudadas estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9:** Resultados das análises dos elementos traços em 38 amostras de méis *Apis mellifera* produzidos no estado da Bahia.

Variável (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mín.	Máx.	Média/DP
<b>Cobre</b>	<LD	2,56	0,751/0,6
<b>Cádmio</b>	<LD	0,0074	0,00058/0,0001
<b>Zinco</b>	1,94	20,45	11,83/4,6
<b>Ferro</b>	0,04	17,41	3,28/2,9
<b>Chumbo</b>	<LD	--	--

Cu= 5 mg Kg<sup>-1</sup>, Fe=15 mg Kg<sup>-1</sup>, Cd= 0,10 mg Kg<sup>-1</sup>

As concentrações médias encontrada nos méis para o elemento Cobre foi de 0,751 mg Kg<sup>-1</sup>, variando de 0 à 2,562 mg Kg<sup>-1</sup>, sendo que a maior concentração encontrada (2,562 mg Kg<sup>-1</sup>) foi na região de Barra do Choça. Valores semelhantes (0- 3,1 mg Kg<sup>-1</sup>) foram encontrados por JESUS *et al.* (2012) em méis de diferentes regiões brasileiras e por SANTOS *et al.* (2008) em méis do semiárido na Bahia (0- 3,31 mg Kg<sup>-1</sup>). SANTOS *et al.* (2008) em méis do semi-árido na Bahia, que percebeu em seus estudos a influencia da presença do cobre para caracterizar os méis provenientes de áreas que cultivam o café. Todavia, os méis estudados não ultrapassaram o limite máximo permitido pelo Codex Alimentarius que é de 5 mg Kg<sup>-1</sup>.

Observou-se que os méis analisados não são contaminados por Pb e em apenas 15% dessas amostras apresentaram concentrações de Cd, com o valor médio de 0,000413 mg Kg<sup>-1</sup> encontrado em apenas 5 regiões estudadas (Vitória da Conquista, Barra do Choça, Ribeira do Pombal, Itagibá e Caetité). O maior valor de cádmio foi encontrado na cidade de Itagibá, região essa produtora de cacau e que vem se destacando na exploração de níquel, apresentando um grande impacto ambiental na região. Contudo, os valores encontrados para o Cd estão abaixo do que vem sendo registrado na literatura que está entre 0,002 a 0,22 mg Kg<sup>-1</sup> bem como os valores sugeridos pelo Mercosul (2011), que é de 0,10 mg Kg<sup>-1</sup> (MAGALHÃES, 2010).

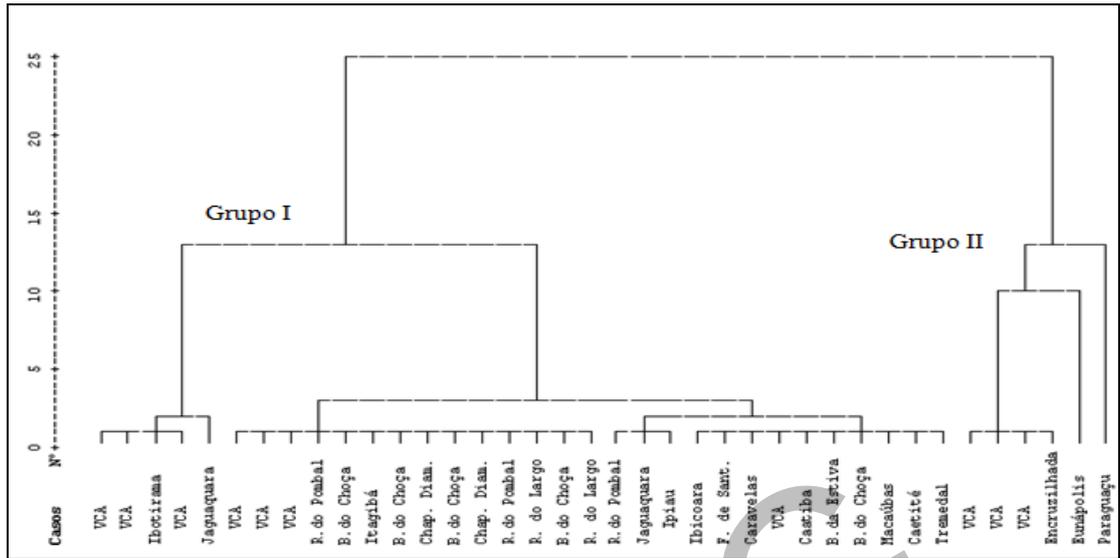
Os valores médios de Zinco encontrados nas amostras de mel foi de 11,83 mg Kg<sup>-1</sup>, e essas concentrações estão concordantes com méis de diferentes regiões brasileiras estudado por JESUS, *et al.*(2012). Resultados inferiores foram apresentados por MBIRI *et al.* (2011) em méis provenientes do Quênia, que encontrou concentrações entre 0,02a 0,43 mg Kg<sup>-1</sup>, enquanto que LACERDA *et al.*, (2010) encontrou valores que variaram de 0 – 80,4 mg Kg<sup>-1</sup> em méis do Sudoeste da Bahia.

A concentração média de  $3,28 \text{ mg Kg}^{-1}$  foi encontrado para o Ferro nos méis estudados, valores próximos foram registrados por SANTOS *et al.*, (2008) em méis da Mata atlântica, que apresentou o valor médio de  $3,98 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Apenas uma das amostras provenientes da região Ribeira do Pombal apresentou uma concentração elevada de  $17,41 \text{ mg Kg}^{-1}$ , ultrapassando o limite máximo de  $15 \text{ mg Kg}^{-1}$  estabelecido pelo CODEX, para méis. Por ser um mineral abundante na crosta terrestre, o ferro pode ser encontrado no ambiente por meio de fontes naturais e também pelas atividades antropogênicas de origem industrial e agrícola e com isso, aumentando os níveis de Ferro no ambiente. O excesso ou a deficiência do ferro pode trazer problemas à saúde, uma vez que, esse mineral tem funções essenciais no organismo.

#### 5.4. Resultado da análise multivariada

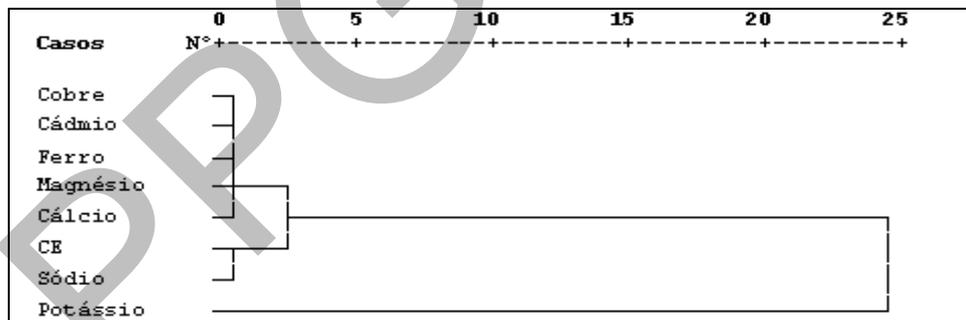
A análise de cluster foi utilizada para explorar a similaridade entre as amostras, definindo-as em grupos, e foi considerado as variáveis que mais influenciaram na formação desses grupos. Dois dendogramas foram construindo através da análise de agrupamento (*cluster*) com 38 amostras de méis, os metais  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cu}$ ,  $\text{Cd}$ ,  $\text{Fe}$  juntamente com a CE ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ). Os valores das variáveis foram normalizados através da transformação Z-scores com o objetivo de atribuir um mesmo peso a cada uma delas. Na matriz inicial, os coeficientes de similaridade representam o grau de semelhança entre os pares de amostras e as mesmas foram arranjadas de acordo com respectivos graus de similaridade de modo que ficaram agrupadas segundo uma disposição hierárquica. Os resultados foram organizados em gráfico do tipo dendograma mostrando as relações entre as amostras agrupadas.

Dois grupos distintos, que se ligam a um nível de distância de 25, podem ser observados no dendograma da Figura 36. O primeiro grupo engloba a maioria das amostras (32 amostras). Dentro desse agrupamento observa-se a formação de dois subgrupos que estão ligados entre si a um nível de distância 13. Esses subgrupos desdobram-se em mais dois pares de agrupamentos ligados entre si a uma distancia de 2, o que indica uma grade similaridade entre eles. Entre esses agrupamentos pode-se destacar o grupo formado por 14 amostras em sua maioria oriundas de zonas de cafeicultura (Vitória da Conquista, Barra do Choça, Chapada Diamantina e Ribeirão do Largo).



**Figura 35:** Dendrograma de análise de cluster entre as variáveis e amostras estudadas

No dendrograma formado pelas variáveis apresentado na Figura 37, pode-se perceber claramente o agrupamento entre os metais Cu, Cd, Fe, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup> e Ca<sup>+2</sup> estando ligados por uma distância euclidiana de aproximadamente 3 da Condutividade elétrica e Na<sup>+</sup> e todos esses elementos agrupados por uma distância euclidiana de 23 com o K<sup>+</sup>.



**Figura 36:** Dendrograma com o agrupamento entre as variáveis

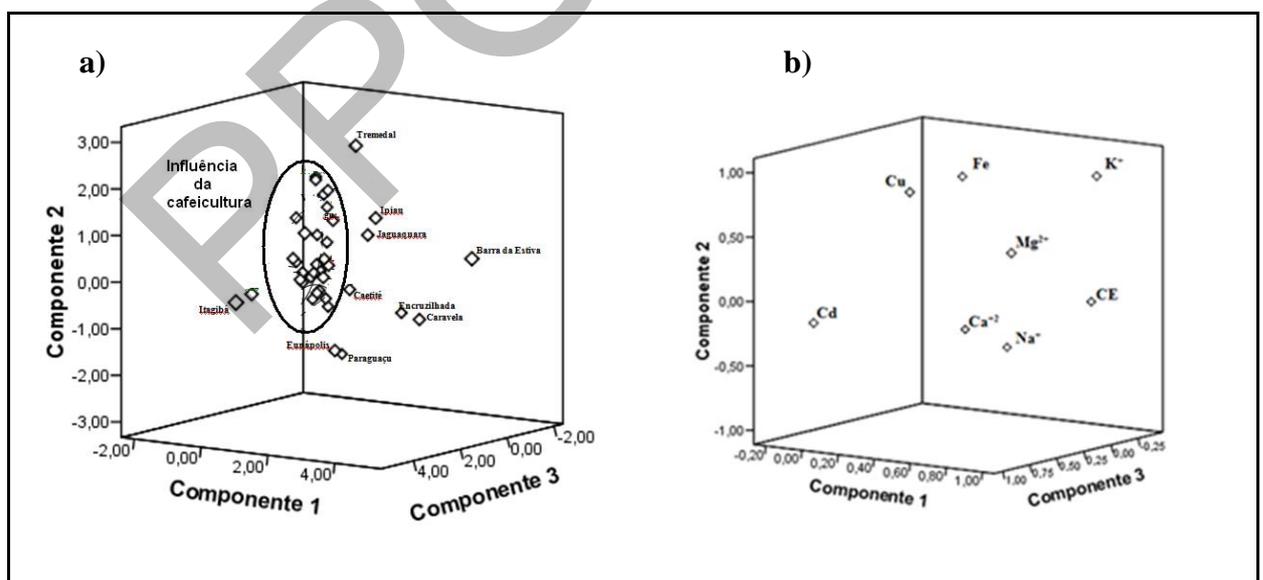
### 5.5. Análise de Componentes Principais

Para complementar a classificação obtida pela análise de agrupamento através dos dendrogramas apresentados anteriormente, aplicou-se a análise de componentes principais (PCA) na matriz de dados com as mesmas variáveis (CE, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Cu, Cd e Fe). A PCA foi aplicada à matriz de dados auto-escalada para prover um estudo estruturado em

uma dimensão reduzida, a fim de reter uma quantidade máxima de variabilidade presente nos dados. Uma rotação de Varimax com normalização Kaiser das componentes principais foi realizada, para identificar os elementos responsáveis no agrupamento dos objetos (amostras de mel produzidas na redondeza de produção de café e pomares irrigados).

Em uma PCA, se os dois ou os três primeiros componentes acumularem uma porcentagem relativamente alta da variação total, recomenda-se que o número de fatores escolhidos corresponda a, no mínimo, 60% da variância, eles explicarão satisfatoriamente a variabilidade manifestada entre as amostras avaliadas (MALHOTRA, 2001). Sendo assim, as duas primeiras componentes principais (PCs) representaram somente 50,85% da discrepância total (PC1 = 30,49%, e PC2 = 20,36%), indicando que estas duas componentes são insuficientes para proporcionar os agrupamentos efetivos da origem das amostras e a separação clara entre os grupos formados. Uma terceira componente (PC3) que descreve 14,71% da variância total também foi usada. As três componentes usadas descrevem 65,57% na variância total.

A Figura 38a mostra uma distribuição tridimensional das primeiras três componentes principais para os dados estudados. É possível distinguir um grupo de amostras de mel que sofre influência da cafeicultura, demonstrando inequivocamente que os dados contêm informação suficiente para agrupar as amostras de acordo com sua origem.



**Figura 38:** Resultado da ACP apresentado no gráfico das escores dos metais estudados e o comportamento das variáveis em relação às três componentes principais, respectivamente

O gráfico dos loadings (Figura 38b) indica que o agrupamento das amostras de mel oriundas nas zonas de produção de café é influenciado principalmente pelos níveis de Cu, provavelmente devido ao uso de compostos de cobre como micronutriente e fungicida na cafeicultura, bem como pelo Fe,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ , CE,  $Na^{+}$ ,  $K^{+}$ . Baseado nos resultados obtidos nas ACP e AAH observa-se que um fator importante para o agrupamento das amostras analisadas é a cobertura vegetal da região, pois cada tipo de vegetação tem sua forma de manejo específica, assim como os defensivos agrícolas próprios para cada cultivo, justificando as diferenças nas concentrações dos elementos estudados.

PPGGGBC

## 6. CONCLUSÕES

---

As análises físico-químicas do mel combinados com técnicas de espectrometria e cromatografia são uma perspectiva para a caracterização e determinação qualitativa e quantitativa da poluição ambiental e da qualidade do mel das diferentes regiões estudadas.

A utilização das técnicas de AAH e ACP evidenciam a influência do cobre em relação a méis produzidos em regiões provenientes da cafeicultura e ainda que, o mel pode ser utilizado como bio-indicador de uma possível contaminação ambiental nas culturas que servem de forrageio para as abelhas.

Algumas amostras analisadas apresentaram inconformidade com as especificações exigidas para o controle de qualidade do mel no Brasil, demonstrando a importância do controle de qualidade dos méis produzidos na Bahia, no intuito de evitar possíveis fraudes e/ou contaminações, uma vez que, a produção de mel no país vem apresentando um contínuo crescimento, o que torna importante a fiscalização deste produto, aproveitando de forma sustentável a grande diversidade e flora presente nas regiões.

Faz-se necessário um cuidado especial dos apicultores na padronização dos seus produtos, optando por um manejo mais adequado no apiário e principalmente nas culturas próximas as colmeias. Ações como o distanciar das colmeias em torno de 5 Km<sup>2</sup> das áreas agrícolas tratadas com pesticidas, ou até mesmo, evitar o uso dos pesticidas próximo ao período de floração, contribuirão, com a conservação do meio ambiente e na comercialização de produtos de qualidade para a população consumidora.

Enfim, devem ser feitas diferentes ações no intuito de orientar e capacitar os apicultores e agricultores da Bahia, adequando o uso dos agrotóxicos conforme as normas vigentes, para que assim, ocorra a diminuição da contaminação no mel, dos alimentos em geral e do meio ambiente por elementos indesejáveis que podem vir a trazer riscos à saúde humana.

## 7. REFERÊNCIAS

---

1. AJTONY, Z.; BENCS, L.; HARASZI, R.; SZIGETI, J.; SZOBOSZLAI, N. **Study on the simultaneous determination of some essential and toxic trace elements in honey by multielement graphite furnace atomic absorption spectrometry.** *Talanta*, 71: 683-690, 2007.
2. ALMEIDA, M.C. **Determinação de constituintes inorgânicos em méis de abelha coletados no Estado de Sergipe por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).** São Cristóvão. Dissertação de mestrado em Química. Universidade Federal de Sergipe, 2012.
3. ALMEIDA, D de. **Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área do cerrado do município de Pirassununga, Estado de São Paulo.** Piracicaba-SP, 2002. 116 f. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
4. ALMEIDA, R. O. **História econômica da região Ribeira do Pombal.** Fev-2011 Disponível em: <<http://pombaluneb.blogspot.com.br/2011/02/historia-economica-regiao-ribeira-do.html>>. Acesso em 13 de janeiro de 2014.
5. ALVES *et al.* **Características de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae).** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 644-650, out.-dez. 2005
6. AMARO P. & GODINHO, J.. **Pesticidas e abelhas.** *Rev. de Ciências Agrárias* vol.35 n.º.2 Lisboa jul. 2012
7. AMARO P. (2011). **Afinal parece que os pesticidas não matam as abelhas em Portugal!** *O Apicultor*, 71: 7–18.
8. ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato, nitrito e n-nitrosaminas em produtos cárneos.** 2004. 201f. Tese (Mestrado em Química Analítica). FEA/. UNICAMP. Campinas, 2004.
9. AOAC-Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis.** 16.ed. rev.4. Washington, 1998. 1170p.
10. ARGENTON, A. **Conceitos fundamentais de Cromatografia a líquido de Alto Desempenho (CLAE).** Minicursos CRQ-IV – 2010, CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA - IV REGIÃO (SP)
11. AROUCHA, E.M.M.; OLIVEIRA, A.J.F.; NUNES, G.H.S.; MARACAJÁ, P.B.; SANTOS, M.C.A. **Qualidade do mel de abelha produzidos pelos incubados da Iagram e comercializado no município de Mossoró/RN.** *Caatinga* (Mossoró, Brasil), v.21, n.1, p.211-217, janeiro/março de 2008
12. AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C.; DAMASCENO, J. G. **Características físico-químicas dos méis do município de São Fidelis-RJ.** *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.
13. BARROS, L.B., TORRES, F.R., AZEREDO, L.C., BARTH, O.M., FREITAS, M.Q. 2010. **Caracterização físico-química de mel produzido por *Apis mellifera* no estado do Rio de Janeiro.** *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 17: 117-120.

14. BARTH, M. O. *et al.* **Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 2, p. 229-233, 2005.
15. BERA, A., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. (2007). **Physicochemical properties of commercial samples of honey added with propolis from São Paulo state, Brazil.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 49-52.
16. BERTOLDI, F. C.; REIS, V. D. A.; GONZAGA, L. V. ; CONGRO, C. R. **Caracterização físico-química e sensorial de amostras de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) produzidas no pantanal.** *Evidência*, Joaçaba, v. 7, n. 1, p. 63-74, jan./jun. 2007
17. BIANCHI, E. M.; **La miel, características y composición, Análisis y Aduterciones.** UNSE-CEDIA: Santiago Del Estero, 1981.
18. BOGDANOV, S. **Contaminants of bee products.** *Apidologie* 37 (2006) 1–18 INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, 2005
19. BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LÜLLMANN, C. **Harmonized methods of the European honey commission.** *Apidologie*, p.1-59, 1997. Extra issue.
20. BOGDANOV, S. **Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission.** *Bee World*, v.80, p.61-69. 1999.
21. BRAGA, A.S. **Apicultura: o caminho para a cidadania.** Salvador s.n. 1998, 270p.
22. BRANDÃO, A.L.S. **Apicultura atual: diversificação de produtos.** Vitória da Conquista – BA. DFZ / UESB, p. 8, 1994
23. BRASIL APÍCOLA. **Acabou o sufoco.** DF rural, Ano 2 - Nº 12 - Outubro 2008. Disponível em: <[http://www.senardf.org.br/df/dmdocuments/DFRural/DFRURAL\\_12.pdf](http://www.senardf.org.br/df/dmdocuments/DFRural/DFRURAL_12.pdf)> Acesso dia 20 de janeiro de 2014.
24. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.** Diário Oficial, Brasília, 20 de outubro de 2000, Seção 001, p.16-17.
25. BULDINI, *et al.* **Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey.** *Food Chemistry* 73 (2001) 487–495
26. CAC - CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. 1990. **Official methods of analysis** 3:15-39.
27. CAMARGO, C. R. R *et al.* **Boas Práticas na Colheita, Extração e Beneficiamento do Mel.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. 9 p.
28. CAMPOS, G. **Melato no mel e sua determinação através de diferentes metodologias.** Belo Horizonte, 1998. 178p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
29. CELLI, B.; MACCAGNANI, B. **Honey bees as bioindicators of environmental pollution.** *Bulletin of Insectology* 56 (1): 137-139, 2003
30. CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental.** Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2000.
31. COLLINS, C. H; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia.** Editora Unicamp, Campinas-SP, 2006.

32. CONTI, M. E.; BOTRE, F. **Honey bees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination.** Environmental Monitoring and Assessment 69:267-282, 2001.
33. CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. **Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos.** Química nova, São Paulo, v. 30 n. 2, p.481-487, mar./abr. 2007
34. COUTINHO H.D., BARBOSA A.R., (2007). **Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de utilização.** Silva Lusitana 15(1): pp. 103 - 117.
35. CRANE, E. **O livro do mel.** São Paulo: Nobel, 1983. 226p.
36. DEGANI, *et al.* **Cromatografia: um breve ensaio.** 1998. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/actual.pdf>
37. DIAS, J. C. **Determinação de acetato, nitrato, ferro (II), ferro (III) e cobre em etanol combustível por cromatografia de íons –** Campinas, SP: [sn], 2010.
38. EMBRAPA. **Produção de mel.** Sistema de Produção, 3 ISSN 1678-8818; Versão Eletrônica Jul/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/mel.htm> Acesso em 20 de janeiro de 2014.
39. EPIFÂNIO, A. F. R. P. (2012). **Determinação de metais pesados em mel nacional por espectrometria de absorção atômica.** Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
40. EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; BESERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L. **Análises físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba,** 2005.
41. FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. **Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture.** Pp. 19-25. In: Freitas, B.M. & Pereira, J.O.P. (Eds.). Solitary bees- Conservation, Rearing and management for pollination. Fortaleza, Imprensa Universitária.
42. FERNANDES, M.A. **Cromatografia iônica.** Hidrogeoquímica, 2006. Disponível em: <http://www.leb.esalq.usp.br/aulas/lce5702/cromatografia.pdf>
43. FILHO, *et al.* **Impactos de mineração e sustentabilidade no semi-árido. Estudo de caso: Unidade de concentração de urânio – ura (Caetité, Ba).** Rio de Janeiro Dez/2003. Comunicação Técnica elaborada para o XV Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 2003, Curitiba. Porto Alegre: ABRH, 2003. 18p.
44. FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. **Manual de procedimentos de cromatografia iônica do laboratório de aerossóis, soluções aquosas e tecnologias - LAQUATEC.** São José dos Campos: INPE, 2010. Disponível em: <http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/39QJ77E>. Acesso em: 15 de janeiro de 2014.
45. FROES, *et al.* **Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.** Revista Analytica. Junho/Julho- 2006. Nº23
46. GOMES, S. *et al.* **Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal.** Food and Chemical Toxicology, v. 48, p. 544-548, 2010.

47. GUADAGNIN, S. G.. **Avaliação do teor de nitrato em hortaliças folhosas produzidas por diferentes sistemas de cultivo**. Campinas, SP: [s.n.], 2004.
48. HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.
49. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
50. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL), (1985). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Vol. 1 Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. São Paulo: IAL, 1985.
51. ITO, E.H. **Minerais em méis de abelhas *Apis mellifera* L. produzidos na região do polo cuesta, estado de São Paulo**. Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Botucatu - 2012. Dissertação apresentada a faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia de Botucatu.
52. JESUS *et al.* **Determinação de parâmetros físico-químicos e da concentração de metais em méis de diferentes regiões brasileiras**. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. ISSN: 1981-3686 / v. 06, n. 02: p. 832-841 2012.
53. JUNIOR, L. **Agrotóxico pode ter matado 500 mil abelhas em apiário de Braúna**. 2010. Disponível em: <<http://www.folhadaregiao.com.br/Materia.php?id=268260>>. Acesso em 20 de Janeiro de 2014.
54. KAUER, F. **AAS Princípios e instrumentação**. Apresentação de slide. Customer Support Center Shimadzu Brasil, 2008.
55. KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11ª Edição. São Paulo: Livraria Roca, p.981. 2005.
56. KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de Absorção Atômica - Parte 2. Atomização eletrotérmica em forno de grafite**. São Paulo, 2007. Apostila, 34p. Disponível em <<http://apostilas.cena.usp.br/Krug/AAS%20geral%20parte%201%20revisada.pdf>>, Acesso em 13 de janeiro de 2014.
57. LACERDA *et al.*, **Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera* no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada**. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 5, 1022-1026, 2010
58. LEMOS, G.S.; SANTOS, J.S.; SANTOS, M.L.P.. **Validação de método para a determinação de 5-hidroximetilfurfural em mel por cromatografia líquida e sua influência na qualidade do produto**. *Química Nova* [online], v.33, n.8, p.1682-1685, 2010.
59. LENGLER, S. **Inspeção e controle de Qualidade do mel - 2012**. Disponível em: <[www.sebraern.com.br/apicultura/pesquisas/inspecao\\_mel01.doc](http://www.sebraern.com.br/apicultura/pesquisas/inspecao_mel01.doc)> Acesso em 22 de janeiro de 2014.
60. LESSA, R.N.T. **Ciclo do Nitrogênio**. Universidade Federal de Pelotas Instituto de Química e Geociências Departamento de Química Analítica e Inorgânica-Disciplina de Química Ambiental II. Pelotas, setembro de 2007. Disponível em: <[http://www2.ufpel.edu.br/iqg/livrovirtual/estanteamb\\_arquivos/nitrogenio.pdf](http://www2.ufpel.edu.br/iqg/livrovirtual/estanteamb_arquivos/nitrogenio.pdf)> Acesso em 02 de fevereiro de 2014.
61. LOPES, A.S. & GUILHERME, L.R.G. **Uso eficiente de fertilizantes e corretivos agrícolas: aspectos agrônômicos** - A.S. Lopes e L.R.G. Guilherme - 3ª edição revisada e atualizada – São Paulo, ANDA, 2000.

62. MAGALHÃES, M.S. **Mel e pólen de abelhas *Apis mellifera* como bioindicadores de poluição ambiental por metais pesados.** Universidade Federal de Ouro Preto - 2010. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais
63. MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 2006. 638 p.
64. MALHOTRA, N. K. **Pesquisa de marketing: uma orientação aplicada.** 3ª ed. Porto Alegre: Ed. Bookman, 2001.
65. MBIRI, A.; ONDITI, A.; OYARO, N.; MURAGO, E. **Determination of essential and heavy metals in Kenyan honey by atomic absorption and emission spectroscopy.** Journal of Agriculture, Science and Technology, Nairobi, v. 13, n. 1, p. 107-115, 2011.
66. MENDES, T. M. F. F. **Determinação de espécies metálicas em mel de abelhas por ICP OES – Campinas, SP:[ s.n], 2003.**
67. METROHM. **Práticas em cromatografia de íons-** Monografia, 2007
68. MEYER, V. R. **Practical High-Performance liquid Chromatography,** John Wiley & Sons, Saint Gallen, 1998.
69. MOURA, M.B.B.L. **A Educação Ambiental trabalhada nas escolas municipais frente aos desafios da degradação crescente do meio ambiente Jaguaquarense.** Jaguaquara- 2010. Dissertação apresentada à especialização em Educação Ambiental. Universidade Cândido Mendes.
70. NETO, F. T. **Nutrição clínica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
71. NOCELLI *et al.* **Riscos de Pesticidas sobre as Abelhas.** In: SEMANA DOS POLINIZADORES, 3. 2012, Petrolina. Palestras e resumos. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012.
72. NORONHA, P. R. G. **Caracterização de méis cearenses produzidos por abelhas africanizadas: parâmetros químicos, composição botânica e colorimetria.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 147 ff., 1997.
73. NOZAL, D.M.J, BERNAL J.L., DIEGO J.C., GÓMEZ L.A., RUIZ J.M., HIGES M. **Determination of oxalate, sulfate and nitrate in honey and honeydew by ion-chromatography.** Journal of Chromatography A. Volume 881, Issues 1–2, 9 June 2000, Pages 629–638
74. OLIVEIRA, *et al.* **Uso da análise exploratória de dados na avaliação de modificadores químicos para determinação direta e simultânea de metais em álcool combustível por GFAAS.** Eclética Química. Volume 31, número 1, 2006
75. OSTERKAMP, C.I. - **Características Polínicas e Físico-químicas de Amostras de Méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidea) e de *Tetragonista angustula latreille*, 1811 (Hymenoptera, trigonini) da Região do Vale do Taquari, estado do Rio Grande do Sul.** Dissertação de Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário UNIVATES, 2009.
76. PADRO, G.R. **Estudo de contaminação ambiental por urânio no município de Caetité-Ba, utilizando dentes humanos como bioindicadores.** Dissertação

- apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente – UESC, 2007.
77. PAES, Lorena Cristine. **Determinação de cobre, manganês e cádmio em mel por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite** / Lorena Cristine Paes. -- Campinas, SP: [s.n], 2007.
  78. PARAMÁS, *et al.* **Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters.** Journal of the Science of Food and Agriculture Volume 80, Issue 1, pages 157–165, 1 January 2000
  79. PIMENTEL, C. **Pastagem natural do sul da Bahia dá lugar e eucaliptos e preocupa Ibama.** Disponível em: <<http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2004-01-16/pastagem-natural-do-sul-da-bahia-da-lugar-eucaliptos-e-preocupa-ibama>> Acesso em 14 de janeiro de 2014.
  80. PORRINI, C; SABATINI, A.G.; GIROTTI, S.; GHINI, S.; MEDRZYCKI, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L.; GATTAVECCHIA, E.; CELLI, G. **Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination.** Apiacta, v.38, p.63-70, 2003.
  81. REIS, A.S.; COSTA, V.C; PIRES, N.R.X.; MAZZETTI, T.; MESKO, M.F. **Determinação de cloro em mel: desafio analítico na preparação da amostra para viabilizar a detecção por ISE.** XXIII Congresso de iniciação científica da Universidade Federal de Pelotas. Nov-2013.
  82. REYES, F. G. R., TOYOHARA, D. Q. K., TOLEDO, M. C. F. **Nitratos e Nitritos em Alimentos: ocorrência, absorção e efeitos tóxicos.** FEA/. UNICAMP. Campinas, 1987.
  83. RIBEIRO, A. S., ARRUDA, M. A. Z., CADORE, S., **Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Filamento de Tungstênio.** Uma Revisão Crítica. Quim. Nova, Vol. 25, No. 3, 396-405, 2002
  84. RIBEIRO, R.O.S. **Elementos traços em méis de abelhas (Apis mellifera) do estado do Rio de Janeiro, Brasil: Influências da sazonalidade.** Niterói: Universidade Federal Fluminense. Dissertação de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. 106 p.
  85. RISSATO, *et al.* **Multiresidue method for monitoring environmental contamination by pesticides in the Bauru region (SP) using honey as bioindicator.** Quím. Nova vol.29 no.5 São Paulo Sept./Oct. 2006 (procurar ano 2010)
  86. ROCHA, Maria Cecília de Lima e Sá de Alencar. **Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento** / Maria Cecília de Lima e Sá de Alencar. – Brasília: Ibama, 2012. 88 p. : il. color. ; 28 cm.
  87. ROSSI *et al.* **Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.19 n.2 Campinas May/Aug. 1999.
  88. SANTOS *et al.* **Honey Classification from Semi-Arid, Atlantic and Transitional Forest Zones in Bahia, Brazil.** J. Braz. Chem. Soc., Vol. 19, No. 3, 502-508, 2008.
  89. SANTOS, J. S.; SANTOS, M.L.P.; CONTI, M.M.; SANTOS, C.M. **Evaluation of heavy metals and nutrients in coffees cultivated during the process of conversion from conventional to organic agriculture in southwest Bahia, Brazil.** UESB, 2007.

90. SEABRA, **Plano territorial de desenvolvimento sustentável do território Chapada Diamantina**. 2ª Edição - Dezembro de 2010.
91. SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de la producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile/ Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988.
92. SEI- **Sistema de informações municipais** - 2012. Disponível em: <<http://sim.sei.ba.gov.br/sim/index.wsp>>. Acesso em 22 de fevereiro de 2014.
93. SERFOR-ARMAH, Y.; NYARKO, B.J.B.; AKAHO, E.H.K.; KYERE, A.W.K.; OSAE,S.; OPPONG-BOACHIE, K. **Multielemental analysis of some traditional plant medicines used in Ghana**. Journal of Trace and Microprobe Techniques, New York, v.20, n.3, p. 419-427, 2002.
94. SILVA *et al.* **Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel**. Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.23 no.3 Campinas Sept./Dec. 2003
95. SILVA, C.L. *et al.* **Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v.8, n.2-3, p.260-265, 2004.
96. SKOOG, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**, Trad. Marco Tadeu Grassi, Pioneira Thomson Learning Ltda., São Paulo, 2006. (ou 2005 e 2009)
97. SODRÉ, G. S. *et al.* **Caracterização físico-química de amostras de méis de Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará**. Ciência Rural, v. 37, n. 4, 2007.
98. SOUSA *et al.*, **Acta Tecnológica**, Vol. 8, Nº 1 (2013)
99. SPANO, N. *et al.* **An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey**. The case of strawberry tree honey. Talanta, v. 68, n. 4, p. 1390-1395, 2006.
100. TACO. **Tabela Brasileira de Composição de alimentos**- 4ª edição revisada e ampliada, 2011. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>> Acesso em 17 de janeiro de 2014.
101. TERRAB, A. *et al.* **Characterization of northwest Moroccan honeys by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of their sugar components**. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, v.82, p.179-185, 2001.
102. TERRAB, A. *et al.* **Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents**. Food Chemistry, London, v.88, n.4, p.537-542, 2004.
103. TERRAB, A. *et al.* **Palynological physicochemical and colour characterization of Moroccan honeys. II. Orange (Citrus sp.) honey**. International Journal of Food Science and Technology, Oxford, v.38, p.387-394, 2003
104. TILLER, K.G. **Heavy metals in soils and their environmental significance**. In: **Advances in Soil Science**. New York: Springer-Verlag, 1989. v.9, p.113-114.
105. TUZEN, M.; SILICI, S.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. **Trace Element Levels in Honeys from Different Regions of Turkey**. Food Chem. 103, 2007, 325-330.
106. UFLA- 2005. **Elementos minerais essenciais**. Disponível em: <[http://www.dbi.ufla.br/Ledson/MPS/MPS2005-2/Girlene/elementos\\_minerasi.htm](http://www.dbi.ufla.br/Ledson/MPS/MPS2005-2/Girlene/elementos_minerasi.htm)> Acesso em 12 de janeiro de 2014.

107. UNIFERTIL. **Nutrientes Do que as plantas precisam?** UNIFERTIL - Universal de fertilizantes. Out, 2012 002/ Ano 02. Disponível em: <<http://www.unifertil.com.br/admin/files/rc20121011151121.pdf>> Acesso em 13 de janeiro de 2014.
108. VARGAS, T., **Avaliação da qualidade do Mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná.** Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006
109. VERÍSSIMO, M. T. L.; **Saiba o que é o HMF.** Apicultura no Brasil, v. 4, n. 24, 31, 1988.
110. VIDAL, M.F. **Efeitos da seca de 2012 sobre a apicultura nordestina.** Banco do Nordeste do Brasil S/A .Informe Rural, ano VII, n.2, 2013
111. WELKE *et al.* **Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. da região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.** Ciência Rural, v.38, n.6, set, 2008
112. WHITE, J. W. **The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation.** Bee World, v. 75, n. 3, p. 104-117. 1978.
113. WIESE, H. **Nova Apicultura,** Guaíba-RS: Agropecuária, p.493. 1993.
114. WITCZAK, M., Juszczak L. and Galkowska D. (2011), Non-Newtonian behaviour of heather honey, Journal of food Engineering, 104, 532-537.
115. ZAPPALÀ, M. *et al.* **Methods for the determination of HMF in honey: a comparison.** Food Control, v. 16, n. 3, p. 273-277, 2005.