

ATIVIDADE DIASTÁSICA E ÍNDICE DE HIDROXIMETILFURFURAL COMO PARÂMETRO INDICADOR DE SUPERAQUECIMENTO EM MÉIS PRODUZIDOS POR *APIS MELIFFERA* L. 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE) NA REGIÃO DO BOLSÃO SUL-MATO-GROSSENSE.

Cleiton Dalastra; Alcebiades R. Campos; Gustavo Mamoré Martins; Gustavo H. Costa Vieira.

RESUMO: A qualidade dos méis são fortemente influenciada pelo manejo deste produto, o superaquecimento é um dos principais fatores que levam volatilização prematura de compostos sensíveis do mel bem como a denaturação de outros. Conhecer a origem e como foi manejado são atitudes que visam sanar a problemática da aquisição de produtos de má qualidade. Dentro desse contexto, o presente trabalho buscou avaliar a procedência dos méis produzidos na região do bolsão sul-matogrossense. Para tanto, como forma de amostragem foram eleitos os municípios de Chapadão do Sul, Cassilândia, Paranaíba e Três lagoas, onde foram coletadas as amostras aleatoriamente entre os produtores bimestralmente durante o ano de 2007. Foram analisadas nas amostras a Atividade Diastásica e Índices de Hidroxymethylfurfural, ambos os parâmetros indicativos da possibilidade de superaquecimento. Os resultados foram comparados com o padrão exigido pela legislação através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, onde nenhuma amostra apresentou valores indevidos, se mostrando apta ao consumo.

Palavras-Chave: Mel, Aquecimento, Diastase, Hidroximetilfurfural.

Diastasic actiuty and hidroximetilfurfural index as a parameter to indicate high temperature in honney from apis mellifera in the region of Mato Grosso do Sul.

SUMMARY: The quality of honey are heavily influenced by management in this product, overheating is one of the main factors leading to premature volatilisation sensitive compounds in honey and denaturação of others. Knowing the source and how it was managed attitudes are aimed at remedying the problem of purchasing products of poor quality. Within that context, this study aimed to evaluate the merits of honey produced in the region of Bolsão Sul-matogrossense. Thus, as a way of sampling the municipalities were elected Chapadão do Sul, Cassilândia, Paranaíba and Três Lagoas, where the samples were collected randomly between producers every two months during the year 2007. Samples were analyzed in the diastase activity and indices Hidroxymethylfurfural, both parameters indicative of the possibility of overheating. The results were compared to the standard required by law through the Tukey test 5% probability, where no sample showed undue, is showing ready for consumption.

Key words: Honey, Heating, Diastase, Hidroxymethylfurfural.

INTRODUÇÃO

É entendido como mel um produto alimentício produzido por abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou secreções procedentes de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas da mesma de onde recolhem, transformam, combinam com substâncias químicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colméia (Brasil, 2002).

Segundo Crane (1983), o néctar ou melato, a partir do momento em que é coletado e depositado em sua vesícula melífera pela abelha campeira sofre um ataque enzimático liberado por um complexo de glândulas, dentre as quais as hipofaríngeas, que secretam a enzima diastase, possibilitando assim a transformação desse conteúdo açucarado em mel.

A diástase, também conhecida como -amilase, tem a capacidade de quebrar o amido, estando diretamente relacionada com a digestão de grânulos de pólen presentes no mel. (Pamplona, 1989).

A atividade diastásica é considerada por Solovene (1964) como um importante critério para avaliação qualitativa do mel, sendo seu decréscimo indicativo de má estocagem e superaquecimento, processos que comprometem seriamente o produto. Para o número de diástase se aceita o mínimo de 8 na escala de Gothe para méis de origem silvestre (Brasil, 2000).

O HMF (Hidroximetilfurfural) é um composto obtido através da reação de certos açúcares, como a frutose, com ácidos e catalisada pelo calor de forma progressiva, sendo o seu aumento indicativo de exposição a temperaturas acima de 30°C (White Junior, 1979; Arruda, 2003). De acordo com os padrões internacionais "Codex Alimentarius Commision (1969), os níveis aceitos naturalmente não devem exceder a 40 MG.Kg⁻¹, sendo que Brasil (2002) ressalva que em países tropicais como Brasil onde predomina climas quentes o limite do valor pode se estender até 60 mg.Kg⁻¹.

Em suma o presente trabalho objetivou determinar qualitativamente méis produzidos na Região do Bolsão - MS, compreendido pelos municípios de Água Clara, Aparecida do Taboado, Brasilândia, Cassilândia, Chapadão do Sul, Costa Rica, Inocência, Paranaíba, Santa Rita do Pardo, Selvíria e Três Lagoas, região produtora de 293 toneladas de mel na safra 2005, equivalente a 37% da produção do estado (IDATERRA, 2006), utilizado os parâmetros supracitados de forma a contribuir com a comercialização e especificação do produto na região.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudos

Para efeitos de amostragem foram designados quatro municípios, de forma que a área de estudo fosse a mais representativa possível, sendo designados para coleta de amostras os municípios de Três Lagoas, Paranaíba, Cassilândia e Chapadão do Sul, municípios que compreendem 87,5% da produção de mel da região do Bolsão (IDATERRA, 2006).

Nesta região o clima é do tipo tropical úmido. As temperaturas médias mensais oscilam entre 22,5 e 27,4°C e a precipitação média anual é de 1560 mm/ano, sendo o período de seca bem definido, ocorrente entre os meses de abril a setembro.

Com relação à vegetação, aproximadamente 85% da área é composta por savana arbórea aberta e densa, sendo o restante composto por floresta estacional.

CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

As coletas foram realizadas bimestralmente durante o ano de 2007, iniciando-se no mês de janeiro e perdurando a novembro do referido ano.

As amostras de mel usadas nas análises físico-químicas foram obtidas diretamente dos produtores cadastrados nas Associações de Apicultores existentes nos municípios estudados, coletadas aleatoriamente em lote envasado do respectivo mês de extração, deste modo as

amostras se refletiram diretamente o produto comercializado em atacado varejo.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Querioz", campus de Piracicaba-USP.

A atividade Diastásica foi determinada conforme metodologia de Schade et al. (1958), modificada por Bogdanov et al. (1997), para esse parâmetro são aceitos pela legislação brasileira valores superiores a 8 DN (Escala de Gothe) (Brasil, 2000).

O HMF foi determinado conforme metodologia de White (1979), modificada por

Bogdanov et al. (1997), para esse parâmetro a legislação brasileira prevê um intervalo de valores entre 0 a 60mg.kg⁻¹ (Brasil, 2000).

O modelo estatístico adotado foi o delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados obtidos analisados estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividades Diastásica

Os valores obtidos para atividade diastásica também foram analisados estatisticamente através do teste F, conferindo diferença significativa ao nível de probabilidade de 1% (Tabela 1).

Tabela 1- Análise de variância da atividade diastásica.

Fatores de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	1524,36189	381,09047	13,2681 **
Resíduos	25	718,05730	28,72229	
Total	29	2242,41919	F(1%) = 4,1774	

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

A diferença entre as médias foram quantificadas através do método de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, que estipulou nessas condições a diferença mínima significativa (DMS) em 9,1 (Tabela 2).

Tabela 2- Médias obtidas para atividade diastásica analisadas estatisticamente pelo teste de Tukey, diferença mínima significativa (DMS), média geral (MG) e Coeficiente de Variação (CV%).

Localidade	Média Local (DN)	Diferenciação
Padrão Mínimo	8,00000	A
Paranaíba	22,26667	B
Cassilândia	27,47833	B
Três Lagoas	26,98333	B
Chapadão do Sul	18,48500	B
DMS = 9,09742	MG = 23,38667	CV% = 25,96233

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O valor médio das localidades obtido para atividade diastásica foi 23,38 DN, sendo as médias das localidades indiferentes entre si perante o teste aplicado, havendo diferença significativa apenas em relação ao padrão legislado, indicando a aptidão do produto ao

consumo.

A atividade diastásica é indicadora de adulteração em méis, uma vez que não presente ou presente em baixa quantidade.

Esta enzima é responsável pela quebra das moléculas de amido, obrigatoriamente

presentes nos méis, uma vez que a coleta do néctar traz aderidos grânulos de pólen, dessa forma a alta atividade diastásica conecta o mel analisado ao néctar coletado e processado pela abelha (Crane, 1983)

A atividade diastásica assim como a invertase decrescem durante o armazenamento, podendo apresentar valores maiores em méis com maior conteúdo de água (Takenaka & Echigo, 1974).

Valores para atividade diastásica similares aos encontrados neste trabalho foram evidenciados em 25 amostras de méis de eucalipto provenientes da Espanha, obtendo valores médios de atividade diastásica igual a 20.12 DN (Martinez-Gomez et al., 1993), assim como Huidobro et al. (1995) analisaram 46 amostras de méis também de origem espanhol e verificaram valores médios para atividade diastásica de 19.3 DN.

Na Arábia Saudita, caracterizado pelo clima árido e altas temperaturas diurnas foram obtidos valores para atividade diastásica entre 3,3 e 12 DN (Al-Khalifa & Al-Arifi, 1999).

No Brasil foram encontrados valores idênticos mesmo com méis resultantes de abelhas alimentadas artificialmente, com xarope de açúcar, ressaltando a atuação do aparato enzimático da abelha (Komatsu & Marchini, 1996; Rodrigues et al., 1996)

Apesar da legislação aplicar tal parâmetro apenas para méis produzidos por abelhas do gênero *Apis*, 27 amostras de méis produzidas por abelhas sem ferrão obtiveram valores de atividade diastásica entre 2,6 e 35,6DN, evidenciando a possibilidade do uso deste parâmetro para méis produzidos por outros gêneros (Vit & Pulcini, 1996).

Considerando as normas internacionais todas as amostras analisadas estão em conformidade com a legislação vigentes.

3.2 HMF

Os valores obtidos para Hidroximetilfurfural (HMF) também foram analisados estatisticamente através do teste F, conferindo diferença significativa ao nível de probabilidade de 1% (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise de variância de Hidroximetilfurfural (HMF).

Fatores de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	11660,12829	2915,03207	20,6758 **
Resíduos	25	3524,69330	140,98773	
Total	29	15184,82159	F(1%) = 4,1774	

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

A diferença entre as médias foram quantificadas através do método de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, que estipulou

nessas condições a diferença mínima significativa (DMS) em 20,15 (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias obtidas para o parâmetro Hidroximetilfurfural (HMF) analisadas estatisticamente pelo teste de Tukey, diferença mínima significativa (DMS), média geral (MG) e Coeficiente de Variação (CV%).

Localidade	Média Local	Diferenciação
Padrão Maximo	60.00000	A
Paranaíba	6.34333	C
Cassilândia	34.70833	B
Três Lagoas	21.18167	BC
Chapadão do Sul	8.62000	C
DMS = 20.15578	MG = 17,7125	CV% = 45.37074

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O valor médio das localidades obtido para HMF foi de 17,71, diferindo-se estatisticamente a média da localidade de Cassilândia em relação a Paranaíba e Chapadão do Sul, e não se diferindo em relação a Três Lagoas perante o teste aplicado, havendo diferença significativa de todas as amostras em relação ao padrão legislado, constatando a integridade dos méis.

Adulterações no mel podem ser realizadas empregando xarope de milho, de beterraba e também pelo xarope invertido, que é obtido por hidrólise ácida do xarope demilho que contém altos teores de hidroximetilfurfural. Entretanto o mel possui pequena quantidade de HMF, mas com o armazenamento prolongado à temperatura ambiente elevada (Tosi et al., 2002), esse teor pode se elevar, alterando o valor nutricional do produto. Sendo assim, a determinação do HMF servirá como indicador da qualidade do mel, pois quando este é formado, provavelmente, já poderá ter ocorrido perda de algumas enzimas, como por exemplo a glicose-oxidase.

Valores similares ao encontrado nesse trabalho foran encontrados em 31 amostras de méis provenientes de citrus cultivados em Cuba, obtendo valor de 4,16 mg.Kg⁻¹ de HMF (Tabio et al., 1987), e em 25 amostras de méis de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) produzidos na Espanha, que obtiveram um valor para HMF igual a 3,6 mg.Kg⁻¹, portanto, dentro dos padrões de qualidade internacional (Martinez-

Gomes et al, 1993).

A avaliação dos níveis de HMF contidos em 94 amostras de méis produzidos em diferentes municípios paulistas e de origem floral desconhecidas, constataram que desses, apenas 4,3% não estavam em conformidade com as especificações oficiais (Komatsu & Marchini, 1996), por outro lado, méis de origens florais conhecidas obtiveram valores de HMF igual a 17,4 mg.Kg⁻¹ para méis de eucalipto e 19,3 mg.Kg⁻¹ para méis de flores silvestres, atribuindo a ambas medias a conformidade com a legislação (Marchini, 2001).

CONCLUSÃO

Perante os dados apresentados conclui-se que os valores encontrados para a atividade diastásica e HMF atendem aos padrões estipulados pela legislação vigente, indicando que os méis produzidos na região do bolsão sul-matogrossense estão aptos a comercialização nacional ou internacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-KHALIFA, A.; S, AL-ARIFY, I. A.: Physical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chem.*, 1999, 67, 21-25
- ARRUDA, C.M.F. de. Características físico-químicas e polínicas de amostras de méis de

Apis mellifera L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da Chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará. Piracicaba-SP, 2003. 86p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto nº 30.691, de 08 de setembro de 1997. Diário Oficial, de 08 de set. 1997. Seção 1, p. 19696-19697. Aprova as Normas do Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e qualidade do mel.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa n. 11, de 20 de outubro/2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690> (Acesso: 07 jan 2009).

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLMANN, C. Harmonized methods of the european honey commission. *Apidologie*, v.2, n.11, p. 1-59, 1997. Extra Issue. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (1969). Standard for Honey (CAC/RS 12 1969). FAO and WHO. Rome.

CRANE, E. O livro do mel. 2ª ed. Editora Nobel S.A. São Paulo, SP. 1983. 226p.

HORN, H. Análise de Mel da Universidade de Hoheinheim, Alemanha. Méis brasileiros: resultados de análise físico-químico e palinológicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11, Piauí, 1996. Anais. Piauí: Confederação Brasileira de Apicultura, 1996, p. 403-429.

HUIDOBRO, J.F.; SANTANA, F.J.; SANCHEZ, M.P.; SANCHO, M.T.; MUNIATEGUI, S.; SIMAL-LOZANO, J. Diastase, invertase and α -glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. *Journal of Apicultural Research*, v. 34, n. 1, p. 39-44, 1995.

IDATERRA. Relatório de safras 2005/06. Boletim Anual. Campo Grande. 2006.

KOMATSU, S.S.; MARCHINI, L.C. Teores de açúcares redutores e sacarose de amostras de méis de flores silvestres produzidos por *Apis mellifera* no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11, 1996. Anais. Confederação Brasileira de Apicultura, 1996. p 344.

MARCHINI, L.C. Caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) do Estado de São Paulo, baseada em aspectos físico-químicos e biológicos. Piracicaba-SP. 2001. 83P. - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. (Tese Livre-Docência)

MARTINEZ-GOMEZ, M.E.; GUERRA HERNANDEZ, E.; MONTILLA GOMEZ, J.Y.; MOLINS MARIN, J.L. Physicochemical analysis of Spanish commercial Eucalyptus honeys. *Journal of Apicultural Research*, v. 32, n. 3/4, p. 121-6, 1993.

PAMPLONA, B.C. Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas. São Paulo, 1989. 131p. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (Dissertação mestrado).

SCHADE, J.; MARSCH, D.L.; ECKERT, J. E. Diastase activity and hydroxymethylfurfural in honey and their influence in detecting heat alteration. *Food Research*, v.23 p.446-463, 1958.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988. 202p.

SOLOVENE, T. Ya. Determination of adulteration of honey on the basis of characteristic of honeys from single or multiple flower sources. *Sb Trud. Leningr. Inst. Sov.*

Torgovli, v23, 1964.

TABIO, C.; ALVAREZ, J.D.; BERISIARTU, M. Preliminary characterization of some physico-chemical and organoleptic characteristics of Citrus honeys from Jaguey Grande, Matanzas. *Ciencia y Técnica en la Agricultura - Apicultura*, v.3., p.29-39, 1987. /Resumo em CAB Abstracts on CD-ROM, V.3A, 1990-91/.

TAKENAKA, T.; ECHIGO, T. Changes in enzyme activity during the storage of Honey. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Tamagawa University*, n. 14, p. 19-25, 1974.

TOSI, E.A., CIAPPINI, M., RE, E., LUCERO, H. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, v. 77, n. 1, p. 71-74, 2002.

VIDAL, R.; FREGOSI, E.V. de. Mel: características, análises físico-químicas, adulterações e transformações. Barretos: Instituto Tecnológico Científico "Roberto Rios", 1984. 95p.

VIT, P. & PULCINI, P. Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honeys from Venezuela. *Journal of Apicultural Research*, v. 32, n. 2, p. 57-62, 1996.

Rodrigues, A.G.L.R.; Marchini, L.C.; Haddad, M.L. Índice de diastase e HMF de mel extraído de colméias expostas diretamente ao sol e à sombra. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 11, Teresina, 1996. Resumos... Teresina: CBA, 1996. p.342.

WHITE JÚNIOR, J.W. Methods for determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural and proline in honey; Collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. V. 62, n. 3, p. 515-526, 1979.

WHITE JÚNIOR, J.W. Quality evaluation of honey: role of HMF and diastase assays. Part II. *American Bee Journal*, v.132, n.12, p.792-794, 1992

