

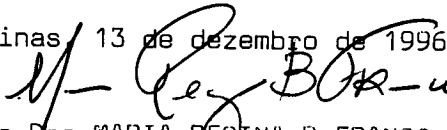
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MÉIS DE EUCALIPTO E LARANJA

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por DEBORAH HELENA MARKOWICZ BASTOS e aprovada pela Comissão Julgadora em 13.12.96.

Campinas, 13 de dezembro de 1996.


Profa. Dra. MARIA REGINA B. FRANCO

Presidente da Banca

DEBORAH HELENA MARKOWICZ BASTOS

Engenheira Agrônoma
Mestre em Ciência de Alimentos

Profa. Dra. MARIA REGINA BUENO FRANCO

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas, SP, 1996



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP**

B297c

Bastos, Deborah Helena Markowicz

Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja/Deborah Helena Markowicz Bastos.--Campinas, SP: [s.n.], 1996.

Orientador: Maria Regina Bueno Franco

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

- 1.Mel. 2.Mel - Sabor e aroma. 3.Análise instrumental.
4.Avaliação sensorial. I.Franco, Maria Regina Bueno.
I.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.**

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Maria Regina Bueno Franco
Orientadora



Prof. Dr. Carlos Alberto Bastos de Maria
Membro



Profa. Dra. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Membro



Profa. Dra. Marilda Cortopassi-Laurino
Membro



Prof. Dr. Mauro Ramalho
Membro



Prof. Dr. Antonio Luiz Pires Valente
Membro

Prof. Dr. Luiz Carlos Trugo
Membro

*A Deus, por todas as bênçãos que iluminam meu
caminho,
Aos meus queridos pais pelo apoio incondicional,
A Roberto, meu querido companheiro de viagem,
pela força, amor e companheirismo,
À Carolina e Lucas, meus queridos filhos,
pelo amor, pela alegria e por me darem a certeza
de que haverá um melhor amanhã.*

AGRADECIMENTOS

Eu acredito que o trabalho coletivo e a busca de um objetivo comum podem levar à construção de uma sociedade mais justa, e por isso, sinto-me extremamente feliz em poder agradecer a todos aqueles que tomaram parte deste trabalho, entre os quais estão:

Dra. Maria Regina Bueno Franco, pela orientação deste trabalho, entusiasmo e incentivo

Dra. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva pela colaboração imprescindível e entusiasmo relativos à análise sensorial ,

A amiga Natália Soares Janzantti, cujo apoio constante, amizade e alegria tornaram mais amena esta caminhada,

Minha família, que sempre esteve presente, e cuja confiança, paciência e incentivo ajudaram-me nos momentos críticos,

Os amigos do Laboratório de Análise de Alimentos e do Departamento de Ciência de Alimentos desta Faculdade, pela amizade,

Os amigos integrantes da equipe sensorial, cuja colaboração foi imprescindível para a execução desse trabalho,

Ana Cristina de Toledo Piza e Leonardo Jundi Hayashida, da Sinc do Brasil, pela demonstração de profissionalismo e pelo tempo que dispenderam, ajudando-me com o cromatógrafo gasoso equipado com detetor de massas ,

Dra. Márcia Ortiz Maya Marques e Dr. Marcos Zulo da Seção de Fitoquímica do Instituto Agrônomo de Campinas por permitirem o uso do cromatógrafo gasoso equipado com detetor de massas, e principalmente pela cooperação em todos os momentos necessários,

Os integrantes da banca pelas inestimáveis sugestões e pela correção do texto, que certamente, muito contribuíram para ajudar-me,

Os apicultores João Seabra, de Rio Claro (Apiário Api Vita), César Vallim, de Campo Limpo (Apiário Flor de Liz) e Carlos Boza, de Araras (Apiário Boza) por atenderem prontamente, sempre que possível, as solicitações quanto ao fornecimento de amostras de mel usadas neste trabalho,

Os professores e funcionários do Laboratório de Abelhas do Instituto de Biociências da USP, em especial a Tereza Cristina Gianini, pela realização das análises polínicas,

Os amigos da Universidade São Francisco pelo apoio e incentivo,

A FAPESP e a CAPES pelo financiamento desta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Tabelas.....	viii
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
OBJETIVOS.....	xv
 CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA	
1.1 -Pesquisa do Sabor.....	01
1.1.1 - Isolamento de Compostos Voláteis.....	02
1.1.1.1 - Análise Total.....	03
1.1.1.2 - Análise do "Headspace".....	03
1.1.2 - Separação e Identificação dos Compostos Voláteis.....	04
1.1.3 - Análise Sensorial.....	08
1.2 - Mel.....	10
1.2.1 - Apicultura : Algumas Considerações.....	14
1.2.2 - A Produção de Mel no Brasil.....	15
1.2.3 - Identificação da Origem Botânica e Geográfica de Méis.....	16
1.2.4 - Compostos Voláteis de Mel.....	19
1.3 - Bibliografia.....	31
 CAPÍTULO II - PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS VOLÁTEIS DE MEL	
2.1 - Introdução.....	40
2.2 - Objetivo.....	41
2.3- Material e Métodos.....	41
2.3.1 - Seleção da Matéria Prima.....	41
2.3.2 - Amostragem e Preparo da Amostra.....	41
2.3.3 - Isolamento dos Compostos Voláteis.....	41

2.3.4 - Análise Cromatográfica.....	42
2.3.5 - Análise Sensorial.....	43
2.4 - Resultados e Discussão.....	46
2.4.1 - Seleção da Equipe Sensorial.....	46
2.4.2 - Otimização da Metodologia de Isolamento dos Compostos Voláteis.....	47
2.4.2.1 - Escolha da Técnica de Isolamento.....	47
2.4.2.2 - Efeito do Solvente na Eluição do Polímero e Efeito do Tempo de Captura nos Compostos Voláteis de Mel.....	48
2.4.3 - Análise Polínica.....	52
2.5 - Conclusões.....	52
2.6 - Bibliografia.....	52

CAPÍTULO III - COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM MEL DE EUCALIPTO E LARANJA : ESTUDO DA ORIGEM FLORAL

3.1 - Introdução.....	55
3.2 - Objetivos.....	56
3.3 - Material e Métodos.....	56
3.3.1 - Seleção da Matéria Prima.....	56
3.3.2- Amostragem.....	56
3.3.3 - Métodos.....	56
3.3.3.1 - Isolamento dos Compostos Voláteis.....	56
3.3.3.2 - Separação dos Compostos Voláteis por Cromatografia Gasosa.....	57
3.3.4 - Identificação dos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja.....	57
3.3.4.1 - Espectrometria de Massas.....	57
3.3.4.2 - Índice de Kovats.....	58
3.3.5 - Análise Estatística.....	58
3.4 - Resultados e Discussão.....	59
3.4.1 - Porcentagem Relativa dos Picos Representativos dos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto Extraído Diretamente do Favo.....	59

3.4.2 - Porcentagem Relativa dos Picos Representativos dos Compostos Voláteis de Mel de Laranja Extraído Diretamente do Favo.....	62
3.4.3 - Identificação de Alguns Compostos Voláteis Presentes em Mel de Eucalipto e Laranja.....	66
3.4.3.1 - Mel de Eucalipto.....	66
3.4.3.2 - Mel de Laranja.....	68
3.4.4 - Comparação da Composição de Compostos Voláteis de acordo com a Origem Floral.....	77
3.4.5 - Análise Polínica.....	78
3.5 - Conclusões.....	87
3.6 - Bibliografia.....	88

CAPÍTULO IV - ANÁLISE SENSORIAL

4.1 - Introdução.....	91
4.2 - Objetivos.....	92
4.3 - Material e Métodos.....	92
4.3.1 - Seleção de Matéria Prima.....	92
4.3.2 - Métodos.....	92
4.3.2.1 - Análise Descritiva Quantitativa.....	92
4.3.2.1.1. - Desenvolvimento da Terminologia Descritiva.....	92
4.3.2.1.2 - Treinamento e Seleção dos Provadores.....	94
4.3.2.1.3 - Avaliação das Amostras e Análise dos Resultados..	95
4.3.2.2 - "Sniffing".....	95
4.4 - Resultados e Discussão.....	95
4.4.1 - Perfil Sensorial de Mel de Eucalipto e Laranja - Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).....	95
4.4.2 - Treinamento e Seleção da Equipe Sensorial Descritiva.....	98
4.4.3 - Perfil de Aroma e Sabor dos Méis de Laranja e Eucalipto.....	98
4.4.4 - Avaliação Sensorial de Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja "Sniffing".....	106
4.4.4.1 - Mel de Eucalipto.....	106
4.4.4.2 - Mel de Laranja.....	107
4.4.5 - Relação Entre Análise Sensorial e Análise Instrumental.....	107

4.4.6 - Análise Polínica.....	109
4.5 - Conclusões.....	109
4.6 - Bibliografia.....	110
 CAPÍTULO V - EFEITO DO PROCESSAMENTO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MEL DE EUCALIPTO E LARANJA	
5.1 - Introdução.....	112
5.2 - Objetivos.....	113
5.3 - Material e Métodos.....	113
5.3.1 - Seleção da Matéria Prima.....	113
5.3.2 - Amostragem.....	113
5.3.3 - Métodos.....	114
5.3.3.1 - Processamento do Mel.....	114
5.3.3.2 - Armazenamento do Mel.....	114
5.3.3.3 - Isolamento dos Compostos Voláteis de Mel.....	114
5.3.3.4 - Análise Cromatográfica dos Isolados de Mel.....	114
5.4 - Resultados e Discussão.....	115
5.4.1 - Efeito do Processamento nos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja.....	115
5.4.1.1 - Mel de Eucalipto.....	115
5.4.1.2 - Mel de Laranja.....	116
5.4.2 - Efeito do Armazenamento nos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja.....	119
5.4.2.1 - Mel de Eucalipto.....	119
5.4.2.2 - Mel de Laranja.....	122
5.5 - Conclusões.....	127
5.6 - Bibliografia.....	128

**CAPÍTULO VI - PERFIL CROMATOGRÁFICO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS
DE MÉIS DE EUCALIPTO E LARANJA ADQUIRIDOS NO
COMÉRCIO**

6.1 - Introdução.....	129
6.2 - Objetivo.....	130
6.3 - Material e Métodos.....	130
6.3.1 - Seleção de Matéria Prima.....	130
6.3.2 - Amostragem.....	130
6.3.3 - Isolamento e Cromatografia dos Compostos Voláteis de Mel.....	130
6.4 - Resultados e Discussão.....	130
6.4.1 - Mel de Eucalipto.....	138
6.4.2- Mel de Laranja.....	141
6.4.3 - Análise Polínica.....	144
6.5 - Conclusões.....	145
6.6 - Bibliografia.....	145

CAPÍTULO VII - CONCLUSÕES GERAIS SEGUNDO OS OBJETIVOS PROPOSTOS.....	147
---	------------

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1	Corte através de uma colméia com quadros móveis..... 14
Figura 2.1	Aparato empregado para captura dos compostos voláteis..... 44
Figura 2.2	Ficha de avaliação utilizada na seleção de candidatos para compor equipe sensorial..... 45
Figura 2.3	Efeito do solvente na eluição dos compostos voláteis do polímero após 3 horas de captura..... 50
Figura 2.4	Efeito do tempo de captura em polímero poroso Porapak Q nos compostos voláteis do mel..... 51
Figura 3.1	Cromatograma característico de mel de eucalipto recém extraído do favo..... 60
Figura 3.2	Cromatograma característico de mel de laranja recém Extraído do Favo..... 63
Figura 3.3	Cromatograma do solvente (acetona) após a eluição do Porapak Q condicionado..... 64
Figura 3.4	Espectro de massas do nonanal..... 69
Figura 3.5	Espectro de massas do 2 - heptanona..... 70
Figura 3.6	Espectro de massas do 2 - heptanol..... 71
Figura 3.7	Espectro de massas do 2- octanol..... 72
Figura 3.8	Espectro de massas do nonanol..... 73
Figura 3.9	Espectro de massas do óxido cis de linalol..... 79
Figura 3.10	Espectro de massas do benzaldeído..... 80

Figura 3.11	Espectro de massas do n- heptanal.....	81
Figura 3.12	Espectro de massas do 6- metil- 5 - hepten -2 -ona.....	82
Figura 3.13	Espectro de massas do octanal.....	83
Figura 3.14	Espectro de massas do fenilacetaldeído.....	84
Figura 3.15	Espectro de massas do 2 - isononenal.....	85
Figura 3.16	Espectro de massas do 1-p- Menten-9-al.....	86
Figura 4.1	Ficha para desenvolvimento da terminologia descritiva de aroma e sabor segundo o método de rede.....	93
Figura 4.2	Ficha de avaliação das amostras por análise descritiva quantitativa.....	99
Figura 4.3	Representação gráfica da análise descritiva quantitativa - Gráfico Aranha.....	104
Figura 4.4	Análise dos componentes principais.....	105
Figura 6.1	Comparação do perfil cromatográfico dos compostos voláteis de mel de eucalipto adquiridos no comércio.....	131
Figura 6.2	Comparação do perfil cromatográfico dos compostos voláteis de mel de laranja adquiridos no comércio.....	135
Figura 6.3	Comparação da porcentagem de área dos picos representativos dos compostos voláteis de méis comerciais de eucalipto.....	138
Figura 6.4	Comparação da porcentagem de área dos picos representativos dos compostos voláteis de méis comerciais de laranja.....	142

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1.1	Compostos voláteis de méis relatados na literatura..... 23
Tabela 1.2	Compostos voláteis isolados de mel de laranja e de eucalipto empregando-se “Headspace dinâmico” relatados na literatura.. 29
Tabela 2.1	Nível de significância (p) de $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$ para cada provador..... 46
Tabela 2.2	Médias da equipe sensorial e de cada provador para aroma característico de mel..... 47
Tabela 2.3	Intensidade média de aroma característico de mel dos isolados obtidos por eluição com diferentes solventes, através da técnica de análise de “Headspace” 49
Tabela 2.4	Intensidade média de aroma característico de mel dos isolados obtidos da eluição com acetona através da técnica de análise de “Headspace”, com diferentes tempos de captura..... 49
Tabela 2.5	Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados no mel de laranja empregado para padronização da etapa de isolamento dos compostos voláteis..... 52
Tabela 3.1	Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de eucalipto..... 61
Tabela 3.2	Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de laranja..... 65
Tabela 3.3	Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas de compostos voláteis presentes em mel de eucalipto..... 66
Tabela 3.4	Índice de Kovats de alguns compostos voláteis de mel de eucalipto..... 67
Tabela 3.5	Fórmulas estruturais dos compostos identificados em mel de eucalipto..... 67
Tabela 3.6	Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas de compostos voláteis presentes em mel de laranja..... 74
Tabela 3.7	Índice de Kovats de alguns compostos voláteis de mel de laranja..... 75
Tabela 3.8	Fórmulas estruturais dos compostos identificados em mel de

	laranja.....	76
Tabela 3.9	Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados nos méis de eucalipto e laranja.....	78
Tabela 4.1	Termos descritivos desenvolvidos individualmente pelos provadores para descrever similaridades e diferenças entre as amostras de mel.....	96
Tabela 4.2	Termos descritivos gerados consensualmente pela equipe sensorial descritiva para descrever similaridades e diferenças entre as amostras.....	96
Tabela 4.3	Referências sugeridas para a definição dos atributos.....	97
Tabela 4.4	Definição de descritores para a análise de aroma e sabor de mel.....	97
Tabela 4.5	Média de atributos sensoriais por amostra conforme determinado por análise descritiva quantitativa das amostras de méis.....	101
Tabela 4.6	Níveis de probabilidade de F_{Amostra} , F_{Provador} e $F_{\text{Amostra X Provador}}$ para cada amostra e cada atributo conforme determinado por teste Anova sobre o resultado obtido da análise descritiva quantitativa de amostras de méis.....	101
Tabela 4.7	Descrição sensorial qualitativa dos compostos voláteis de mel de eucalipto separados por cromatografia gasosa de alta resolução em coluna SE - 54.....	106
Tabela 4.8	Descrição sensorial de compostos voláteis de mel de laranja separados por cromatografia gasosa de alta resolução em coluna SE - 54.....	107
Tabela 4.9	Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados nos méis de eucalipto e laranja avaliados sensorialmente.....	109
Tabela 5.1	Porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de eucalipto nas diferentes etapas do processamento.....	117
Tabela 5.2	Porcentagens relativas dos compostos voláteis nas diferentes etapas do processamento para dois lotes de mel de laranja.....	118
Tabela 5.3	Efeito do armazenamento à temperatura ambiente após 1, 2 e 3 meses, nas porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de eucalipto.....	120

Tabela 5.4	Efeito do armazenamento em geladeira durante 1, 2 e 3 meses, nas porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de eucalipto.....	121
Tabela 5.5	Efeito do armazenamento à temperatura ambiente, nas porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de laranja.....	124
Tabela 5.6	Efeito do armazenamento após 2 meses, em geladeira, nas porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de laranja.....	125
Tabela 6.1	Amplitude dos compostos voláteis em comum presentes nos méis de eucalipto comerciais.....	140
Tabela 6.2	Amplitude dos compostos voláteis em comum presentes nos méis de laranja comerciais.....	141
Tabela 6.3	Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrado nos méis de eucalipto e laranja.....	144

RESUMO

Os compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja recém extraídos dos favos, provenientes de São Paulo e Minas Gerais foram isolados pela técnica de “Headspace” Dinâmico, empregando-se polímero Porapak Q, e separados por cromatografia gasosa de alta resolução. A metodologia de isolamento foi padronizada para o tempo de captura dos voláteis e o solvente para eluição do polímero, levando-se em consideração o cromatograma obtido e a intensidade de aroma característico de mel, à partir do isolado obtido. Foram detectados 21 picos referentes aos compostos voláteis no mel de eucalipto, dos quais foram identificados por espectrometria de massas e Índice de Kovats, os compostos nonanal, 2-heptanona, 2-heptanol, octanol e nonanol. Em mel de laranja, foram detectados 21 picos referentes aos compostos voláteis, entre os quais foram identificados o benzaldeído, o óxido cis de linalol, n-heptanal, 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, fenilacetaldeído, 2-isononenal, e 1-p-menten-9-al. O fenilacetaldeído foi o composto majoritário nos dois lotes analisados. A composição de voláteis diferiu de acordo com a origem floral dos méis analisados.

A descrição sensorial dos méis de eucalipto e laranja foi obtida por Análise Descritiva Quantitativa, e resultou nos descritores “queimado” e “remédio” para caracterizar o sabor e o aroma de mel de eucalipto, enquanto os termos “floral” e “cera” foram empregados para descrever o sabor e aroma do mel de laranja. A Análise dos Compostos Principais mostrou que os méis estudados puderam ser classificados segundo estes descritores. Entre os compostos identificados, o nonanal e o nonanol apresentaram contribuição sensorial ao mel de eucalipto, tendo sido descritos como “eucalipto” e “queimado”, respectivamente. Para o mel de laranja, o fenilacetaldeído mostrou importante contribuição sensorial, tendo sido descrito como “floral”, assim como o benzaldeído, que foi descrito como “cítrico”.

Foram estudados também, o efeito do processamento e do armazenamento sobre os compostos voláteis dos méis de eucalipto e laranja. Após a retirada dos favos, os méis foram decantados e aquecidos à 40°C/ 3 horas. O processamento acarretou mudanças significativas no perfil dos compostos voláteis de mel de

eucalipto. O armazenamento dos méis foi feito à temperatura ambiente e à temperatura refrigerada durante 1, 2 e 3 meses, o que resultou em mudanças quantitativas nos compostos voláteis relativamente ao mel recém extraído dos favos, sendo estas mudanças mais pronunciadas à temperatura ambiente. Um novo composto foi detectado após 3 meses de armazenamento do mel de laranja.

Avaliou-se também, o perfil cromatográfico dos compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja adquiridos no comércio. Os compostos voláteis de mel de eucalipto apresentaram maior variabilidade entre os méis analisados, e o nonanal, composto sensorialmente importante (descrito como “eucalipto”), diminuiu de concentração relativamente ao mel recém extraído do favo. Os méis de laranja apresentaram um perfil qualitativo equivalente, e o fenilacetaldéido, composto majoritário no mel recém extraído do favo e o mais importante sensorialmente (descrito como “floral”), também diminuiu de concentração em todos os méis analisados, relativamente ao mel recém extraído dos favos.

ABSTRACT

Volatile compounds of orange and eucalyptus honey from São Paulo and Minas Gerais were isolated by a Dinamic Headspace methodology on porapak Q, and separated by high resolution gas chromatography. The best solvent and the best time for concentration of the volatile compounds on Porapak Q were determined by analysing both the obtained chromatogram, and the characteristic honey aroma of the isolated volatiles.

Twenty one peaks representative of the volatile compounds were detected in the eucalyptus honey, from which nonanal, 2-heptanone, 2-heptanol, octanol and nonanol were identified by mass espectrometry and Kovats Index . In orange honey another 21 peaks representative of the volatile compounds were detected, from which benzaldehyde, cis linalool oxide, n-heptanal, 6-methyl-5-hepthen-2-one, octanal, phenylacetaldehyde, 2-isononenal, and 1-p-menthen-9-al were identified as described above. Phenylacetaldehyde was the major compound in both orange honeys analysed. The volatile composition differed according to the floral souce of the honeys .

The sensorial description of eucalyptus and orange honey obtained by Quantitative Descriptive Analysis showed that the terms "burned" and "medicine " were related to eucalyptus honey, while "wax" and "floral " were related to orange honey. The Principal Component Analysis showed that these honeys could be classified according to these terms. Among the identified compounds, nonanal and nonanol were important to the characteristic aroma of eucalyptus honey, and were described as "eucalyptus" and "medicine" respectively. Phenylacetaldehyde and benzaldehyde were important compounds to the orange honey aroma, as they were described as "floral" and "citric" by the technique of "sniffing", respectively."

The effect of processing and storage on honey volatile composition were studied. The honey was extracted from the honey comb, then heated to 40°C/3 hours. The processing steps led to significative changes in eucalyptus honey volatile compounds. The storage of the honey during 1, 2 or 3 months under ambient

temperature or refrigerated temperature led to changes in the volatile profile of the honey samples as compared to the volatile profile of the honey extracted from the honeycomb, and these changes were more important at room temperature. A new compound was detected after 3 months storage of orange honey.

The volatile compounds profile of some commercial eucalyptus and orange honeys were also analysed. The volatile compounds of eucalyptus honey showed great variability between the honey samples, and the nonanal compound, which was sensorially important (described as "eucalyptus"), was at a lower relative percentage than that of the honey extracted directly from the honeycomb. The orange honey sample showed an equivalent qualitative profile, and phenylacetaldehyde, which was the major volatile of the honey extracted from the honeycomb, and a very important compound to the characteristic aroma (described as "floral"), decreased its relative abundance for all the honey samples as compared to the honey extracted directly from the honeycomb.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como principais objetivos:

- Padronizar um método do "headspace" para isolar e concentrar os voláteis do mel, evitando o emprego do calor.
- Verificar diferenças entre os compostos voláteis de méis uniflorais (eucalipto e laranja) provenientes de São Paulo e Minas Gerais e estabelecer as diferenças de aroma e sabor segundo a origem floral.
- Verificar o efeito do processamento e armazenamento sobre a composição dos voláteis destes méis.
- Estudar a composição de voláteis de méis de eucalipto e laranja adquiridos no comércio, a partir de apicultores idôneos, a fim de avaliar se existe um padrão em função da origem botânica do mel.

CAPÍTULO I
REVISÃO DA LITERATURA

I - REVISÃO DA LITERATURA

1.1 - PESQUISA DE SABOR

Embora o consumidor hoje em dia procure alimentos que apresentem boas características nutricionais e que sejam seguros (ausência de contaminantes químicos ou microbiológicos), o sabor é o item citado com maior frequência, pelos consumidores, na escolha dos mesmos (GIESE, 1994).

O sabor é uma sensação bastante complexa, sendo considerado uma resposta integrada a dois fenômenos, o gosto e o aroma. A sensação do gosto é devida a presença de compostos não voláteis nos alimentos, sendo basicamente descrita como doce, amargo, salgado e azedo. Os componentes voláteis do alimento são os responsáveis pelo aroma. Esta sensação é bem mais complexa, pois o olfato pode discriminar entre milhares de compostos.

Vários são os campos de interesse de pesquisa relativa aos compostos voláteis pois o sentido de olfato não é apenas um fenômeno biológico e psicológico, é também um fenômeno cultural. Um determinado aroma pode provocar fortes reações emocionais. Assim, uma fragrância associada a uma boa experiência pode ocasionar uma torrente de alegria, enquanto um aroma associado a uma lembrança infeliz é capaz de causar repugnância (CLASSEN et alii, 1996).

O aroma, que responde pela diferença de sabor entre os alimentos, depende da pressão de vapor dos compostos e da interação entre os compostos voláteis e os não voláteis presentes nos alimentos. O estudo do aroma é um tema de pesquisa que tem despertado muito interesse, já que além de levar ao conhecimento básico, resulta em aplicação prática (TERANISHI & FLATH, 1986).

O fato dos componentes voláteis possuírem variada estrutura química, estarem presentes em quantidades diminutas e serem termolábeis, torna a pesquisa de sabor muito complexa, pesquisa esta que envolve quatro etapas:

- Isolamento dos compostos voláteis,

- Separação da mistura complexa de voláteis,
- Identificação dos compostos voláteis,
- Estudo da contribuição sensorial destes compostos, individualmente e/ou agrupados, ao sabor do alimento

1.1.1 - Isolamento dos Voláteis

A pesquisa do sabor de um alimento pode englobar a análise de todos os componentes voláteis do alimento, sendo chamada de "Análise Total"; ou referir-se apenas aos componentes do vapor em equilíbrio sobre o produto dentro de um sistema fechado, chamada de "Análise do Headspace".

A etapa de isolamento dos voláteis deve ser considerada com muito cuidado na pesquisa de sabor (TERANISHI et alii, 1971) visto que, em função da metodologia empregada, pode-se obter isolados contendo compostos de diferentes classes químicas (GUICHARD & ISSANCHOU, 1988) o que resultará em qualidade sensorial diferenciada, muitas vezes não correspondendo ao produto original. O procedimento experimental também deve levar em consideração a natureza dinâmica dos compostos voláteis de alimentos como, por exemplo, as frutas, em que mudanças podem ocorrer rapidamente, assim que o tecido é macerado (TAYLOR & LINFORTH, 1994). Além disso, métodos utilizando calor levam à modificações químicas, alterando a composição original dos voláteis da amostra, e à formação de artefatos.

Na Análise Total estuda-se a composição qualitativa e quantitativa de todos os componentes voláteis do alimento, o que resulta na base da compreensão do aroma de um produto; enquanto na análise do "Headspace" estuda-se a composição do vapor sobre e em equilíbrio com o alimento, de maneira similar ao percebido por nosso olfato, que pode então ser avaliado qualitativamente, quantitativamente e sensorialmente pelos pesquisadores.

O fato de alguns alimentos sofrerem mudanças importantes durante o processo de mastigação levou alguns pesquisadores a desenvolver uma técnica para medir o

perfil dos voláteis diretamente na boca e no nariz dos provadores, enquanto o alimento era consumido (MAARSE & VAN DER HEIJ, 1994).

1.1.1.1 - *Análise Total*

Dentro dessa abordagem, geralmente emprega-se a destilação para o isolamento dos voláteis. Esse processo pode ser realizado à pressão atmosférica ou reduzida.

TERANISHI et alii (1971) preconizaram que cada amostra deve ser avaliada quanto ao melhor procedimento de destilação, e que precauções de bom senso deveriam ser observadas para evitar a modificação dos compostos de interesse pelo calor ou ainda pela introdução de artefatos provenientes do solvente ou vidraria. Dever-se-ia observar, após cada etapa do isolamento, se o aroma original manteve -se inalterado.

Após a destilação os voláteis da solução aquosa devem ser concentrados. O procedimento mais empregado tem sido a extração com solvente orgânico, embora algumas outras técnicas tenham sido estudadas, tais como crio-concentração e adsorção em carvão ativo (TERANISHI et alii, 1971 ; TERANISHI et alii, 1986).

O sistema de destilação e extração simultâneas desenvolvido por NICKERSON & LIKENS (1966) possibilitou a redução da quantidade de solvente orgânico usado na concentração dos voláteis, minimizando a possibilidade de introdução de artefatos e reduzindo o tempo de isolamento. Algumas modificações foram introduzidas neste processo (FLATH & FORREY, 1977; MACLEOD & CAVE, 1975), e desde então tem sido o método mais citado na literatura para a Análise Total.

1.1.1.2 - *Análise do "Headspace"*

A análise direta do vapor do "Headspace" (Direct "Headspace") refere-se à retirada do vapor em equilíbrio com a amostra, em um sistema fechado e a uma determinada temperatura, por uma seringa, e a imediata introdução no cromatógrafo.

Emprega-se, neste caso, pequena quantidade da amostra, que é pouco manuseada, reduzindo a produção de artefatos. Os componentes do "Headspace" estão presentes em concentrações similares às percebidas pelo olfato, porém importantes contribuintes para o sabor, com alto ponto de ebulição e presentes em quantidades traços no "Headspace", podem não ser detectados (NAWAR, 1966). Além destes fatores, o método apresenta como desvantagem a alta concentração de vapor de água, que pode danificar a coluna cromatográfica.

A concentração dos voláteis no "Headspace" ("Dinamic Headspace"), permite a detecção destes componentes (com alto ponto de ebulição e em quantidades traços) e, para isto, geralmente, emprega-se um fluxo de nitrogênio purificado para levar os voláteis a algum tipo de sistema de coleta. Atualmente são empregados polímeros porosos para enriquecimento do vapor do "Headspace" e vários adsorventes como Tenax, Chromosorb e Porapak já foram estudados, para conseguir-se uma composição que refletisse aquela da amostra em equilíbrio em um sistema fechado, após cuidadosa padronização das condições de isolamento dos voláteis (TERANISHI et alii, 1986 ; WILLIE et alii, 1978).

1.1.2 - Separação e Identificação dos Compostos Voláteis

O desenvolvimento da cromatografia gasosa de alta resolução permitiu que os compostos voláteis de misturas complexas, pudessem ser separados rapidamente. Essa técnica pode aliar o emprego de coluna capilar de sílica fundida, possuindo milhares de pratos teóricos e altíssima eficiência com injetores de geometria específica para injeção tipo "splitless" de Grob (GROB & ROMAN, 1981), própria para a análise de traços. Com esse tipo de injeção, a totalidade da amostra injetada é introduzida na coluna, e só então o injetor é limpo por um fluxo de gás puro. A alta flexibilidade desse tipo de coluna permite que ela seja inserida diretamente no detector do cromatógrafo, evitando o emprego de conexões que poderiam introduzir artefatos ou diminuir a resolução da separação cromatográfica.

A identificação de compostos orgânicos é uma tarefa bastante complexa e deve compreender o uso de várias técnicas analíticas para aumentar a confiabilidade da identificação. A aplicação dos procedimentos de transformadas de Fourier e os avanços da tecnologia de computação nas técnicas de identificação (especialmente as espectrométricas) são hoje ferramentas fundamentais para quem desenvolve pesquisas nessa área (SILVERSTEIN et alii).

No início da década de 60, o uso da espectrometria de massas estava relacionado com o desenvolvimento da cromatografia gasosa para análise de misturas complexas de substâncias orgânicas (DAVIS & FREARSON, 1987).

O acoplamento de cromatógrafos gasosos a espectrômetros de massas passou por várias fases de desenvolvimento. Nos instrumentos mais antigos, o efluente da coluna empacotada era dividido, e apenas uma pequena parte seguia para o espectrômetro. Já no início da década de 60, vários implementos foram desenvolvidos visando minimizar a perda do efluente cromatográfico. Atualmente, as colunas capilares permitem utilizar fluxo de gás de arraste, baixo o suficiente, para que o acoplamento seja feito diretamente na fonte de íons do espectrômetro de massas (MIDDLEDITCH, 1989).

O espectrômetro de massas, hoje em dia, apresenta características (sensibilidade, velocidade de varredura e obtenção de cromatogramas de íons totais - TIC) que permitem o seu acoplamento, ao cromatógrafo gasoso, como detetor. O emprego de computadores que ao mesmo tempo controlam o equipamento, analisam os dados e os comparam com material de referência explica a grande utilidade da cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) nas pesquisas nessa área.

O espectrômetro de massas possui três partes: 1) a fonte de íons, 2) o analisador de massas e 3) o sistema de detecção e registro. Na fonte de íons, as moléculas da amostra podem ser ionizadas por diferentes meios, sendo o mais comum em CG-EM o emprego de impacto de elétrons (EI), no qual as moléculas são bombardeadas por um feixe de elétrons. O grau de ionização da molécula é proporcional à energia do feixe de elétrons e à sua estrutura. Normalmente, a energia utilizada é de 70 eV, que é

a mesma empregada em várias bibliotecas de referência de espectros de massas. A ionização química é uma outra técnica para produção de íons que, em geral, envolve uma quantidade menor de energia, e portanto produz espectros mais simples que permitem determinar o peso molecular do composto.

O analisador de massas separa os íons gerados, e vários tipos podem ser encontrados, sendo que entre os mais comuns em CG-EM encontra-se o quadrupolar, que separa os íons pelo efeito de correntes sobrepostas DC (Direct Current) e RF (Rádio Freqüência).

A corrente gerada pelo fluxo de íons é medida gerando o espectro de massas que mostra a relação massa / carga (m/z) versus a intensidade (abundância relativa) como um histograma. Como o valor da corrente gerada é baixo (10^{-16} a 10^{-19} amp.), um multiplicador de elétrons é usado para amplificar a corrente que origina o sinal.

Os aparelhos CG - EM modernos são equipados com sistemas de banco de dados que facilitam a aquisição e interpretação dos dados. O espectro de massas de uma substância desconhecida é, na maioria das vezes, insuficiente para determinar sua identidade.

Entre outras técnicas empregadas com este fim, está o emprego de índices de retenção (ALENCAR et alii, 1984; ALENCAR et alii, 1990), baseados em tempo de retenção (melhor descrito como volume de retenção) que tem sido usado como técnica auxiliar de identificação desde o início do emprego da cromatografia gasosa (JENNINGS, 1980). Para um sistema onde as condições são constantes, um determinado composto terá um volume de retenção constante, e um composto desconhecido poderia ser identificado pela comparação com o volume de retenção de padrões. No entanto, os índices de retenção são influenciados pela fase estacionária, pela temperatura e pelo fluxo de gás na coluna, e apenas quando estes parâmetros são bem controlados, apresentam alta reprodutibilidade (MILLER, 1988).

A possibilidade de dois compostos exibirem o mesmo comportamento em uma determinada fase estacionária é menor quando se emprega coluna capilar. A determinação de índices de retenção em duas colunas de alta resolução de polaridades diferentes, aumenta o nível de confiança deste parâmetro como critério de identificação (JENNINGS, 1980).

Entre os índices de retenção propostos, o mais empregado é o Índice de Kovats, que descreve o comportamento de retenção de um composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos, contendo moléculas com diferentes números de átomos de carbono (JENNINGS, 1980). Por definição, o índice I_A de uma substância A é dado pela equação:

$$I_A = 100N + 100n \frac{\log V'_{r(A)} - \log V'_{r(N)}}{\log V'_{r(N+n)} - \log V'_{r(N)}} \quad (\text{equação 1}) \quad \text{onde,}$$

$V'_{r(N+n)}$ e $V'_{r(N)}$ são os volumes de retenção corrigidos dos alcanos de número de carbono N e N+n que são respectivamente menor e maior que $V'_{r(A)}$, o volume de retenção corrigido de A.

Na prática, por ser difícil trabalhar com volume de retenção e como também é importante especificar-se a fase líquida usada e a temperatura, emprega-se o tempo de retenção e determina-se o Índice como:

$$I^a_b = 100N + 100n \frac{\log t'_{r(a)} - \log t'_{r(N)}}{\log t'_{r(N+n)} - \log t'_{r(N)}} \quad \text{onde,}$$

I é o índice de retenção na fase líquida a à temperatura b, e os tempos de retenção corrigidos são valores equivalentes aos volumes de retenção corrigidos na equação 1.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, aliada ao cálculo do Índice de Kovats, tem sido empregada com sucesso nas pesquisas visando a identificação de compostos voláteis.

1.1.3 - Análise Sensorial

Quando se tem como objetivo estudar a qualidade sensorial de um alimento, isto é, o resultado das sensações experimentadas pelo homem ao ingeri-lo, deve-se perguntar a ele a resposta. A necessidade de produzir-se dados precisos e reprodutíveis impulsionou o desenvolvimento da análise sensorial (COSTELL & DURAN, 1981). Esse tipo de análise pode ser definido como um conjunto de técnicas para medida e avaliação de determinadas propriedades dos alimentos por um ou mais dos sentidos humanos.

Entre os testes empregados em análise sensorial estão os testes de diferença, os testes de detecção do limiar de detecção (threshold); testes de ordenação, os testes baseados em escalas hedônicas e os testes descritivos. O procedimento analítico a ser empregado deve se definido detalhadamente em função da pesquisa e do problema em questão (JELLINEK, 1985).

Os testes descritivos permitem analisar e quantificar os diferentes atributos que configuram a qualidade sensorial de um alimento, e para tanto, várias técnicas foram desenvolvidas, como os perfis e a análise descritiva quantitativa (DAMÁSIO & COSTELL, 1991).

Na análise descritiva quantitativa é feito o monitoramento de cada provador e da equipe de uma maneira contínua através de testes sucessivos. É assumido que para uma determinada característica, cada provador dará contribuição relevante e a magnitude da contribuição será refletida no nível de significância estatística e no grau de confiança atribuído ao resultado. A performance dos provadores e a consistência dos resultados podem ser avaliados ao longo dos testes. O tratamento dos dados é feito por análise de variância de um ou dois fatores e também pelo grau de interação entre as respostas dos provadores (ASTM, 1981).

Um dos maiores desafios em pesquisa de sabor é estabelecer-se a correlação entre o perfil sensorial e a identidade química das substâncias voláteis presentes em determinadas concentrações nos alimentos.

As propriedades que resultam em estímulos sensoriais não podem ser medidas instrumentalmente. Isto é devido ao fato de que, em grande parte, os mecanismos de interação entre as substâncias que causam este tipo de estímulo e os receptores específicos são desconhecidos ou extremamente complexos.

Segundo POWERS (1982) a correlação entre a avaliação sensorial e a instrumental ou objetiva é geralmente feita por três motivos. Primeiramente, quando se quer classificar produtos de acordo com algum critério, em segundo lugar pode-se querer prever a qualidade sensorial à partir de medidas objetivas, e em terceiro lugar, pode-se ter como meta formular um produto equivalente, em qualidade, a um produto conhecido e aceito.

Nos últimos anos pôde-se observar o desenvolvimento de várias técnicas envolvendo a avaliação sensorial dos efluentes de colunas cromatográficas, visando este objetivo. Essas técnicas, que empregam o nariz humano como detector de parte do efluente cromatográfico, são denominadas de "Cromatografia Gasosa - Olfatometria".

Trabalhos visando a avaliação qualitativa dos efluentes cromatográficos, (técnica denominada de "sniffing") foram relatados já em meados da década de 60 (ACREE & BARNARD, 1994) .

Técnicas quantitativas visando a contribuição sensorial dos compostos voláteis foram posteriormente desenvolvidas, e podem ser classificadas em:

- Técnicas baseadas em diluições: Unidade de Odor , desenvolvida por Guadagni et alii (1966); CHARM , proposta por ACREE et alii (1984) e AEDA - Aroma Extraction Dilution Analysis, desenvolvida por SCHIEBERLE & GROSCH (1987) ;
- Técnicas baseadas na relação tempo-intensidade (OSME, desenvolvida por Mac DANIEL et alii (1990).

As técnicas Charm (Charm Analysis) e AEDA são baseadas na determinação do limiar de detecção (threshold) dos compostos eluídos da coluna cromatográfica, e consistem na detecção do aroma em sucessivas diluições do material a ser analisado, sendo comparáveis à metodologia desenvolvida por GUADAGNI et alii (1966). Estas técnicas podem identificar áreas no cromatograma que contenham compostos odoríferos importantes para o aroma e sabor do alimento, porém, o fato de que diferentes compostos odoríferos em uma mesma concentração e com valores de limiar de detecção bastante similares possam apresentar diferentes intensidades de aroma, e portanto contribuir de maneira diferenciada para a qualidade e intensidade do sabor global do alimento, limita o seu emprego (DA SILVA et alii, 1994).

Na técnica denominada OSME, o provador treinado registra a intensidade e a duração do odor de cada composto eluído da coluna cromatográfica, enquanto faz uma descrição qualitativa do aroma percebido. Assim, um osmegrama é obtido, o qual representa a contribuição odorífera dos compostos voláteis presentes no alimento (DA SILVA et alii, 1994).

A evolução da análise sensorial acompanhou a dos equipamentos e a dos recursos da informática, que permitem o processamento de uma grande quantidade de dados em menor tempo, propiciando o uso de técnicas estatísticas que permitem estabelecer correlações múltiplas. No entanto, a correlação entre análise sensorial e instrumental constitui ainda um grande desafio na área de pesquisa de sabor, devido, em grande parte, à variabilidade individual e a lacuna de conhecimento referente aos mecanismos fisiológicos de percepção de aroma.

1.2 - MEL

O mel é essencialmente uma substância açucarada produzida pelas abelhas a partir do néctar de flores ou ainda de exsudato de insetos, que sugam a seiva de algumas espécies vegetais.

Pesquisas arqueológicas e antropológicas mostram que o mel é produzido pelas abelhas há 20 milhões de anos, e que as primeiras civilizações prezavam este alimento ao ponto de considerarem as abelhas e o seu produto, o mel, sagrados. O homem primitivo consumia o mel e outros produtos da colméia (pólen, larvas) de maneira predatória, isto é, sacrificando as abelhas. Esse hábito foi posteriormente substituído pela apicultura, cujo desenvolvimento após a segunda metade do século passado, tornou o mel um produto mundial (CRANE, 1985).

Existem dezenas de variedades de mel de abelhas que podem ser diferenciadas pela flora, pelo lugar ou época de colheita ou ainda segundo as técnicas de preparação. O mel de origem floral pode proceder do néctar das flores de uma única espécie vegetal (méis monoflorais) ou de várias (méis poliflorais). Rigorosamente, não existe mel monofloral, contudo, uma pequena quantidade de néctar de outras plantas melíferas não influi marcadamente no sabor e cor de um mel onde predomine o néctar de uma única espécie de flores.

A produção mundial anual de mel é de cerca de 800.000 toneladas, das quais, mais da metade é produzida nos Estados Unidos, China e nos países integrantes da ex- União Soviética. Dessa quantia, cerca de 600 000 são consumidas no país de origem enquanto 150 000 são exportadas, principalmente pelo México, China, Argentina e Austrália, para a Alemanha, Inglaterra e Japão, predominantemente. Uma grande parte do mel comercializado é destinado ao uso doméstico, geralmente espalhado sobre pão ou algo similar. O consumo mundial médio anual, por pessoa é de cerca de 0,17 Kg , com variações bastante amplas entre países (CRANE, 1985).

Além de alimento, o mel tem ação terapêutica, sendo empregado sobretudo em casos de doenças respiratórias, e possui também ação antisséptica e bactericida (IORISH, 1981).

Os méis podem se diferenciar quanto à cor, aroma e sabor. Em relação à coloração, o mel pode ir do branco até o castanho escuro, passando pelo amarelo. Os méis claros são os que obtém maior cotação no mercado mundial (CRANE,1985),

embora considere-se que os méis escuros possuam maior teor de minerais (CAMPOS, 1987). Como curiosidade, pode-se citar o mel de acácia branca, que é incolor, transparente (IORISH, 1981).

O sabor e o aroma de méis são mais importantes que sua cor, mas são muito mais difíceis de serem avaliados quantitativamente. O aroma pode ser descrito como extremamente suave e agradável ou ainda muito desagradável, como o mel de tabaco (IORISH, 1981). CRANE (1985) destaca que aromas e sabores subjetivamente avaliados e descritos são de pouca utilidade para propósitos comparativos.

O sabor do mel, excetuando-se a doçura, está relacionado com o aroma, que depende de quantidades diminutas de substâncias complexas, derivadas das fontes florais. Assim, méis diferentes possuem aromas e sabores diferentes, e pessoas treinadas podem identificar méis provenientes de uma fonte, pelo seu aroma e sabor .

Em geral, os compostos voláteis mais agradáveis do mel são aqueles com menor ponto de ebulição, assim, o aroma e o sabor estão no seu ponto ótimo quando o mel é retirado diretamente da colméia, pois podem ser modificados pelo processamento usado para extraí-lo dos favos (CRANE, 1985). O “envelhecimento “ do mel leva a uma perda de seu aroma característico devido ao aparecimento de compostos como álcoois superiores, quando ocorre contaminação microbiológica, e de compostos furânicos, relacionados à degradação de açúcares presentes no mel (TATEO, 1982).

O mel é um produto biológico bastante complexo , tendo sido descritas em sua composição mais de uma centena de substâncias químicas diferentes (CRANE, 1985; IORISH, 1981) e, segundo CAMPOS (1987), embora várias classes de substâncias estejam presentes, pode-se resumir sua composição em três grupos: glicídeos (80%), água (17%) e outros (3%).

A composição química de méis foi objeto de várias revisões bibliográficas, como as de WHITE (1978) e CAMPOS (1981). Revisões relativas aos açúcares de méis,

seus principais constituintes, também podem ser encontrados na literatura internacional (SIDDIQUI, 1970 ; DONER, 1977).

Além dos méis ditos “nobres”, são encontrados também alguns poucos méis que possuem em sua composição substâncias tóxicas, cuja ação já havia sido descrita pelos antigos gregos, em 400 A.C. Esses méis tóxicos relatados são produzidos a partir de plantas pertencentes à família Ericaceae (Azalea, Andromeda, Kalmia). Outro caso de envenenamento por mel foi relatado na Nova Zelandia, nos anos 40. Neste caso, o melato, secretado pelo inseto *Scolypopa australis*, era tóxico.

Casos de intoxicação alimentar por *Clostridium botulinum* em mel já foram relatados na literatura americana, onde evidenciou--se que 10% das amostras analisadas apresentavam esse microrganismo. Isto ocorre quando o mel não é processado sob condições sanitárias adequadas (SOUZA, 1988).

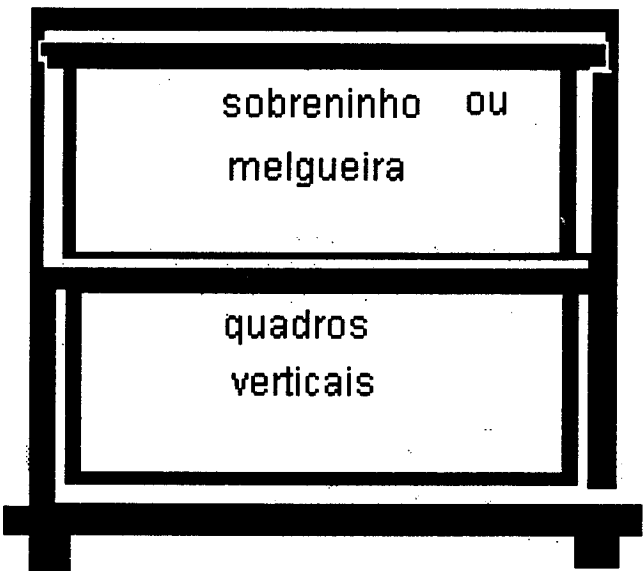
O mel está sujeito, ainda, à contaminação por medicamentos, como os antibióticos, que são usados para combater ou prevenir doenças que afetam as abelhas, e por pesticidas, cuja detecção muitas vezes é difícil, por estarem presentes em concentrações próximas às do limite de detecção das técnicas analíticas (CAMPOS, 1981).

Infelizmente, as adulterações são frequentemente observadas no mel vendido no mercado como produto natural puro, sendo mais comum a adulteração pela adição de diferentes xaropes açucarados, como o xarope de milho hidrolizado e aquele obtido de beterraba. Com a finalidade de desenvolver métodos capazes de detectar este tipo de adulteração, vários trabalhos foram desenvolvidos, e os seus resultados encontram-se na literatura internacional (WHITE & SICILIANO, 1980 ; DAYRELL & VITAL, 1991 ; WHITE, 1987 ; JEURING & KUPPERS, 1980 ; WOOTON & RYALL, 1985)

1.2.1- Apicultura : Algumas Considerações

A apicultura pode ser descrita como a criação de abelhas sociais, alojadas em colméias artificiais, utilizando métodos e equipamentos especialmente criados para melhor explorar as capacidades naturais das abelhas. Embora os gregos já usassem quadros rudimentares em suas colméias de *Apis*, a apicultura ganhou impulso após a introdução da colméia de quadros móveis, por Lorenz Lorraine Langstroth, em meados do século XIX na Filadélfia, Estados Unidos. O emprego desta colméia (figura 1.1) aliado à outras invenções como o uso de folhas de cera nos quadros, deram origem à apicultura moderna ou “mobilista”. Os avanços em outras áreas como a genética, o estudo da comunicação entre as abelhas, e controle de pragas e doenças de abelhas, muito contribuíram para o êxito desta atividade.

Figura 1.1 -Corte através de uma colméia com quadros móveis



Fonte:Crane,1985

Atualmente, a apicultura migratória possibilita a maximização da produção de mel por colméia, pois estas são levadas de uma região para outra, acompanhando as floradas que se sucedem. Mas o principal mérito da apicultura está na polinização de

plantas como peras, maçãs, laranjas, pêssegos e inúmeras outras espécies frutíferas e também de plantas nativas.

Somente os quadros contendo o mel operculado (o mel maduro, com baixo teor de umidade, lacrado por uma fina película de cera, chamada opérculo), situados na melgueira, podem ser retirados pelo apicultor, que remove os opérculos e procede à extração do mel com o auxílio de uma centrífuga própria para receber os quadros. Após a centrifugação o mel passa por peneiras para reter as impurezas e é decantado para que os resíduos de cera subam à superfície e sejam retirados. Este mel costuma ser envasado em latas de 18 Kg, onde permanece até a hora de ser envasado para ser vendido no comércio.

Outros produtos da colméia, como a própolis, a geléia real, o veneno da abelha e o pólen, têm também grande importância econômica para os apicultores.

1.2.2 - A Produção de Mel no Brasil

O Brasil apresentou, em 1991, uma produção de 18 668 t de mel (IBGE, 1993) contra as 800.000t produzidas por ano, mundialmente (CRANE, 1985). Segundo a Confederação Brasileira de Apicultores - CBA - esse dado corresponde a menos da metade da produção real de mel no país, devido à dificuldade de se obter informações precisas junto aos apicultores. A produção de mel (IBGE, 1993) para o Estado de São Paulo em 1991 foi de 2.096 t. Santa Catarina é o estado que apresenta maior produção, com 5.350 t/ano.

As importações de mel natural em 1990 somaram U\$ 4.668.827,00 (184% a mais que em 1989), provenientes principalmente da Argentina e do Uruguai.

Embora a produção de mel no Brasil seja inferior às possibilidades proporcionadas pelo clima e pela flora, ela aumentou cerca de 6 vezes em menos de 3 décadas (em meados da década de 50, o Brasil produzia cerca de 3 mil toneladas por

ano), passando por momentos críticos após a introdução da *Apis mellifera scutellata* (abelha africana) em 1956 (GONÇALVES, 1984).

Atualmente a apicultura é uma atividade valorizada no país, e o mel alcança preços altos no mercado varejista, embora o consumo per capita seja bem inferior ao de outros países (60g / pessoa /ano no Brasil).

O consumo de mel está ligado aos costumes e à cultura dos povos, porém existe uma tendência mundial que favorece o consumo de produtos naturais. Assim, havendo disponibilidade e, portanto preço acessível, certamente ocorrerá consumo maior de mel pela população. Maior produção (menor preço), levará também à possibilidade de exportação desse produto.

O aumento da produção do mel no Brasil dependerá de vários fatores, entre os quais, a definição de parâmetros de qualidade para esse produto, o que possibilitaria a sua exportação.

Existe pouca informação sobre a composição físico-química de méis produzidos no Brasil. Os dados encontrados na literatura relacionam-se, na maioria das vezes, com os parâmetros empregados na fiscalização do produto, direcionados para verificação de fraude, estado sanitário, atividade antibacteriana e sobre a origem botânica de méis brasileiros (IMPERATRIZ-FONSECA et alii, 1986; RAMALHO et alii, 1991; BARTH,1990; CORTOPASSI-LAURINO & GELLI, 1991). O trabalho de STONOGA (1990), versando sobre características de qualidade de méis colhidos em Curitiba evidenciou alto grau de qualidade e aceitação desse produto.

1.2.3 - Identificação da Origem Botânica e Geográfica de Méis

Segundo CRANE (1985), alguns poucos méis podem ser identificados com maior ou menor certeza por seu aroma, cor, velocidade de cristalização, sabor ou por uma combinação dessas e outras características.

Méis podem ser classificados com certo grau de certeza quando as colméias estão em áreas agrícolas, com uma espécie vegetal em floração, ou ainda em grandes áreas homogêneas de vegetação natural. No entanto, CRANE (1985) considera fácil proceder a uma identificação errônea da fonte floral do mel, seja por falta de observação ou conhecimento, seja por julgamento precipitado. Em lugares com agricultura mista e vegetação variada, pode ser difícil supor quais plantas contribuíram mais para a coleta do néctar pelas abelhas.

Por isso, foram desenvolvidos métodos para análise polínica do mel. O pólen é coletado pelas abelhas e transportado para a colméia quando da coleta do néctar, que dará origem ao mel. Na colméia, as abelhas os manipulam separadamente do mel e os armazenam em células diferentes. Apesar disso, alguns poucos grãos de pólen de uma flor podem ser encontrados no néctar, fazendo com que o mel contenha, geralmente, grãos de pólen das flores que contribuíram com o néctar para sua confecção.

Grãos de pólen de diferentes plantas podem ser identificados (empregando-se microscopia) por seu tamanho, forma e por seus padrões esculturais de superfície, pela presença de sulcos, poros e espinhos. O estudo dos grãos de pólen em méis de *Apis* é chamado de melissopalínologia e a identificação de diferentes grãos de pólen é baseada em conhecimento prático e consulta à material de referência (lâminas contendo grãos de pólen adequadamente preparadas). Além dos grãos de pólen encontram-se no mel outros elementos, que são detectados por microscopia, tais como: esporos e hifas de fungos, células de algas, pêlos vegetais e de insetos, poeira, cera de abelhas, etc. Alguns desses elementos tem importância para detecção da presença de melato.

Enquanto a determinação das famílias vegetais à partir do pólen é factível, torna-se mais difícil a definição dos gêneros de plantas pertencentes a uma mesma família e, na maioria dos casos, não se consegue determinar a espécie (BARTH, 1989), exceto quando se dispõe de laminário de referência da flora existente no local de produção do mel.

A análise polínica é trabalhosa e os pesquisadores discordam quanto à necessidade de promover-se a acetólise do pólen para obtenção de bons resultados, (LOW et alii, 1989 ; BARTH, 1989). Esta análise depende de pessoas treinadas, pois sua exatidão é diretamente relacionada com o grau de experiência do analista e do material de referência disponível (lâminas de grãos de pólen das espécies melíferas).

Quanto às espécies vegetais que contribuem para a elaboração do mel (plantas nectaríferas), não se deve ignorar o fato de que não existe uma relação geral e constante entre a quantidade de néctar e de grãos de pólen produzidos nas flores. Existem plantas que são classificadas como sub representadas nos espectros polínicos, que são plantas fornecedoras de muito néctar e pouco pólen. No mel dessas espécies, uma pequena quantidade de grãos de pólen pode indicar que uma grande quantidade de néctar foi coletado. Como exemplo tem-se as laranjeiras e as frutas cítricas (*Citrus sp.*), algumas mimosáceas (*Acácia sp.*), etc. As plantas super representadas nos espectros polínicos são aquelas que fornecem pouco néctar mas muito pólen. Nesse caso, considera-se que o mel é predominantemente desse tipo de planta quando o pólen apresentar percentagem elevada na amostra. Como exemplo, pode-se citar as várias espécies de eucalipto *Eucalyptus sp.*, e espécies do gênero *Mimosa* (espinheiros, bracatinga, etc.).

A determinação da origem geográfica também é difícil, não havendo métodos específicos. Dentro do espectro polínico dos méis, procura-se definir combinações de grãos de pólen mais típicos de determinada região geográfica, flora ou país.

Outros métodos, físicos e químicos, aliados às análises estatísticas, visando a identificação da origem botânica e/ou a determinação da origem geográfica tem sido pesquisados . Na literatura, estão relatados os trabalhos de GILBERT et alii (1981) e de PIRINI et alii (1992), que verificaram haver correlação entre alguns aminoácidos livres presentes no mel e sua origem botânica e geográfica; os trabalhos de FERRERES et alii (1991), que desenvolveram uma metodologia analítica para análise de flavonóides em mel; e o de SABATIER et alii (1992), que estudaram a correlação entre os flavonóides contidos em mel de girassol e sua origem botânica. A avaliação

da cor pelos métodos CIE (Comission International de l'Éclairage) e de Hunter foi sugerida por CASTRO et alii (1992) como ferramenta auxiliar na classificação de méis monoflorais. TAN et alii (1988, 1989 e 1990) mostraram que o perfil cromatográfico de substâncias orgânicas de mel, extraídas com solvente orgânico (partição líquido / líquido), pode ser usado para distinguir-se entre méis uniflorais da Nova Zelândia. SANCHO et alii (1991) propuseram uma análise estatística multivariada empregando 11 variáveis (pH, lactona/acidez livre, lactona, acidez, índice de formol, prolina, açúcares redutores totais, frutose, sacarose, frutose / glucose, e atividade de água), para correlacionar o mel e sua região de origem. Neste trabalho, foi proposta uma função capaz de classificar, com 77,4% de acerto, as amostras em função da região de origem. STEEG & MONTAG (1988), estudando a relação entre a origem botânica de alguns tipos de méis com os ácidos aromáticos originados do metabolismo do fenilpropanol, concluíram que esses ácidos poderiam ser usados para determinar a origem floral dos méis em questão.

Os trabalhos citados concluíram que os compostos químicos presentes em menor quantidade no mel, poderiam ser empregados para certificação da origem botânica. No entanto, os autores ressaltaram a necessidade de um maior número de pesquisas nesse sentido.

1.2.4 - Compostos Voláteis de Mel

Os primeiros compostos voláteis de méis foram estudados em meados da década de 60, com o auxílio de cromatografia gasosa. DORRSCHIEDT & FRIEDRICH, em 1962 (citados por MAGA, 1983) detectaram cerca de 31 picos referentes aos compostos voláteis em 7 méis de regiões geográficas diferentes, porém conseguiram identificar apenas dois: acetato de metila e butirato de metila.

Atualmente, cerca de 300 compostos já foram identificados e descritos como voláteis de mel (tabela 1). No entanto, vários trabalhos que tinham como objetivo estudar compostos voláteis de mel empregaram metodologia inadequada para

isolamento dessa fração. Entre eles os trabalhos de GRADDON et alii (1979) e WOOTON et alii (1978), que empregaram extração com solvente orgânico, e portanto o isolado obtido certamente continha compostos não voláteis. O trabalho de FERBER & NURSTEN (1977), embora seja citado na revisão feita por MAGA (1983) intitulada "Honey Flavor", versou sobre compostos voláteis presentes na cera de abelhas.

WOOTON et alii (1978) verificaram o efeito do armazenamento a 50°C, por 44 dias, na composição dos voláteis e pesquisaram os constituintes voláteis de alguns méis monoflorais, entre os quais 4 de espécies diferentes de eucalipto. O método empregado foi extração com solvente orgânico (acetato de etila) e concentração sob fluxo de nitrogênio. A separação de rotina foi efetuada em coluna empacotada de vidro, e o cromatógrafo acoplado ao espectrômetro de massas foi equipado com uma coluna cromatográfica de maior resolução, tipo SCOT (Support-Coated Open Tubular). A identificação dos componentes foi feita por espectrometria de massas, infravermelho e a confirmação da identidade, por comparação do tempo de retenção dos compostos e de padrões em duas colunas empacotadas de polaridades diferentes. A técnica de "sniffing" foi empregada para o estabelecimento das características de odor dos componentes individuais.

Dos 57 componentes separados com a coluna de maior resolução, os autores conseguiram identificar 15 (acetoina, ácido acético, furfural, 2-acetilfurano, ácido isovalérico, beta feniletilacetato, salicilato de etila, acetato de benzila, álcool benzílico, beta feniletanol, hidroximetilfurfural, 2,5-furandialdeído, 2,4,6- trimetilfenol e 2-heptilfurano). Os compostos descritos como possuindo "aroma de mel" não foram identificados porque estavam presentes em concentração muito baixa, dificultando a obtenção de bons espectros. Após o armazenamento os méis perderam o aroma característico, embora ocorresse um aumento nos compostos voláteis totais. Os compostos caracterizados por possuírem aroma de mel, diminuíram ou desapareceram, enquanto outros compostos, como o hidroximetilfurfural (HMF), furandialdeído, furfural e outros componentes não identificados aumentaram consideravelmente em todas as amostras. Os autores concluíram que vários

componentes do mel poderiam representar índices úteis de qualidade do mel e do abuso do emprego de calor durante o processamento.

No trabalho de GRADDON et alli (1979), em que foram pesquisados 7 amostras de méis, entre as quais duas de eucalipto, a maioria dos compostos identificados pertencia à classe dos hidrocarbonetos, principalmente alcanos de alto peso molecular, provenientes da cêra da abelha, que não fôra adequadamente separada durante a colheita e o processamento do mel. O método de isolamento dos compostos voláteis, extração com diclorometano e concentração sob fluxo de nitrogênio, permitiu a extração dos compostos de alto ponto de ebulição, cuja presença já era evidenciada pela aparência do concentrado, de coloração amarela e tipicamente sólido abaixo dos 30°C. Os compostos não voláteis deterioraram progressivamente a coluna tipo SCOT, obrigando os autores a utilizarem uma coluna empacotada, com perda da resolução, porém permitindo a eluição dos alcanos.

Hidroxiacetilfurfural, produzido pela decomposição de hexoses, foi determinado em méis australianos como um componente majoritário (5 - 20 ppm) e os níveis de furanoato de metila e furfural foram proporcionais ao do HMF, sugerindo que todos eles originaram-se da degradação não enzimática dos monossacarídeos.

BICCHI et alii (1983) estudaram méis uniflorais e poliflorais italianos (região do Piemonte) e compararam 4 métodos de isolamento dos compostos voláteis. Os autores verificaram que o método modificado de Nickerson-Likens produziu um extrato com muitos derivados furânicos, provavelmente artefatos provenientes de reações de escurecimento não enzimático e reações de condensação entre açúcares na temperatura usada (100°C). A extração preliminar dos compostos voláteis da matriz de açúcares com acetona, seguida pela técnica de extração de Nickerson-Likens, eliminou praticamente os derivados furânicos do extrato, apesar do emprego de temperatura (100°C). A extração contínua em extrator de Soxhlet resultou em um isolado sem aroma de mel, com desperdício de solvente e tempo. A extração direta com acetato de etila resultou em isolado cujos componentes não apresentaram aroma, ao serem avaliados na saída da coluna cromatográfica, por sniffing. Foram

identificados 59 compostos pela comparação com padrões do tempo de retenção e dos espectros de massas, ou por comparação de espectros encontrados na literatura. Os autores atribuíram ao fenilacetaldéido, o composto mais abundante, o aroma floral característico dos méis poliflorais em estudo. Verificou-se que o perfil cromatográfico variou em função da origem botânica, porém manteve-se equivalente entre um ano e outro. Os autores concluíram que a presença de alguns compostos, diferentes em função da origem botânica dos méis, foram responsáveis por seu aroma (bouquet) característico.

VISSER et alii (1988) verificaram o efeito do calor nos compostos voláteis de mel unifloral de manuka (*Leptospermum scoparium*) da Nova Zelândia. As amostras foram aquecidas a 50 ,60, 70 e 80 °C, por períodos de 16, 32, 48 e 64 horas. O isolamento dos compostos voláteis foi feito de acordo com o procedimento de BICCHI et alii (1983). A separação dos compostos foi efetuada em coluna capilar de sílica fundida e a identificação por espectrometria de massas. Os componentes mais abundantes foram 4-metoxipropilbenzeno e fenilacetaldéido. Outros compostos presentes em concentrações importantes foram o acetato de etila, o óxido cis de linalol, metilbenzeno e 2-etil-2-imidazolina. A presença de alguns compostos (4-metoxibenzaldeído, 4-metoxifeniletanol, 4-metoxiacetofenona, 4-metoxipropilbenzeno e ácido 4-metoxibenzoico) foi considerada como característica deste tipo de mel .

Na análise quantitativa, os autores atribuíram as diferenças estatísticas observadas entre as repetições ao fato de que alguns compostos voláteis seriam mais sensíveis ao procedimento de extração, sendo que os compostos mais voláteis e os menos voláteis exibiram uma maior variabilidade.

Na amostra mais aquecida (80°C/64 horas), 12 novos compostos foram formados. Foi verificado que o teor de compostos voláteis podia aumentar ou diminuir em condições mais severas e que também podia ocorrer um máximo ou mínimo em sua quantidade em temperaturas intermediárias, mostrando que o binômio tempo/temperatura tem ação complexa sobre os compostos voláteis de mel, envolvendo reações de decomposição e síntese. O furfural apresentou aumento

significativo de porcentagem de área após o aquecimento, maior que o observado para o hidroximetilfurfural. Este fato levou os autores a sugerirem que furfural poderia ser um melhor indicador para méis aquecidos do que o hidroximetilfurfural.

Os compostos voláteis de mel relatados na literatura acima citada e aqueles descritos na revisão de MAGA (1983) encontram-se na tabela 1 .

Tabela 1.1 - Compostos voláteis de méis relatados na literatura

COMPOSTO IDENTIFICADO	*MAGA (1983)	VISSER et alii (1988)	BICHI et alii (1983)	BOUSETA et alii (1992)	VERTON e MANURA (1994)
ORIGEM BOTÂNICA	vários (revisão)	manuka (<i>Leptosper- mum scoparum</i>)	Méis poliflorais dos Alpes, <i>Robinia</i>	castanheiro, dente de leão , eucalipto ,pi - nheiro,lavanda, limeira, alfafa, laranja, nabo silvestre, rhododendron, <i>Robinia</i> ,alecrim girassol, cravo branco	silvestre, mirtilo, laranja, cravo, tupelo, alfafa, flor do campo, maça
MÉTODO DE ISOLAMENTO	revisão- vários	sde**	sde**	Dinamic Headspace	Dinamic Headspace
1,2-dimetoxi-4-(2-propenil)- benzeno				x	x
(1-metiletil)-benzaldeido					x
(2-furanil)-etanona					x
(3-metilfenil)-etanona					x
1-calameneno		x			
1-felandreno					x
1-fenil-etanona					x
1-metil-4-isopropenil benzeno			x		
1-metoxi-4-(1-propenil)-fenol					x
1-octanol	x				
1-p-menten- 9- al		x			
1-pentanol	x				
1-propanol	x				
1H-indol					x
2,4,5-trimetil-benzaldeido					x
2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol					x
2-acetilfurano		x	x		
2-butanol	x				x
2-butanona	x				
2-buten-1-ol	x				
2-butenal	x				
2-carbometoxifurano			x		

5-hidroxi metilfurfural	x	x	x		
5-metil-2-furfural		x			
5-metil-3hidrofuran-2-ona		x			
5-metilfuran -2-ona		x			
acetaldeido	x			x	
acetato de carvomentila		x			
acetato de etila		x		x	x
acetato de metila	x				
acetato de 4-terpenila		x			
acetato de crisantenila		x			
acetato de etoxietila		x			
acetato de hexila	x				
acetato de linalila	x				
acetato de octila	x				
acetil valeril(2,3-heptanedrona)					x
ácido 2-fenilacético	x				
ácido 2-metilpropiónico	x		x		
ácido 3-metilbutírico	x				
ácido 4-metoxibenzóico	x				x
ácido acético	x				
ácido benzóico	x				x
ácido butírico	x				
ácido capróico					x
ácido citronélico		x			
ácido crotônico	x				
ácido fórmico	x				
ácido geránico	x				
ácido hexanóico	x				
ácido palmítico	x				x
ácido pentanóico	x				
ácido perilico	x				
ácido propiónico	x				
ácido valérico					x
álcool tetraidrofurfurílico					x
álcool benzílico	x	x	x		
álcool furfurílico	x	x			
alcohol isoamílico					x
alfa copaeno					x
alfa terpineol	x				
alfa-pineno				x	
alfa-terpineol				x	x
alfa-terpinoleno					x
alfa-tujeno					x
alil fenilacetato			x		
amil-isoamil formato	x				
antranilato de dimetila					x
asarone					x
benzaldeido	x	x	x	x	x
benzoato de isopropila			x		
benzoato de metila			x		
beta damascenona					x

beta-bisaboleno					X
beta-pineno		X			
butanal	X				
butanediona	X				
butanol				X	
butanona-2				X	
butiraldeido					X
butirato de etila					X
caproaldeido				X	X
carvacrol	X				
cianeto de benzila					X
ciclohexanona					X
cimeno					X
cineol			X		
cis-, trans-8-p-menten-1,2-diol	X				
cis-3-hexenil butirato		X			
citral					X
citronelil formato	X				X
citronelol	X				
decano					X
decanol					X
delta -3-3-careno					X
diacetil				X	X
diclorobenzeno				X	
diclorometano				X	
dicumil peróxido					X
dihidro-2-metil-3(2h)- furanoato					X
dimetilbenzeno		X			
dimetildissulfeto				X	X
dimetilfenil-etanona				X	X
dimetiloctan-3-ol	X				
dimetilsulfeto				X	
dimetiltrissulfeto				X	
estireno	X	X		X	
etanediol monoacetato	X				
etanol	X			X	
eter dietílico	X				
etilformato				X	
eugenol	X	X			
fenil etanol			X		
fenilacetaldeído		X	X		X
fenol		X			X
formato de metila		X		X	
furfural	X	X	X		X
furoato de metila	X				
gama-terpineno	X				X
geraniol	X				
heptadecano		X			X
heptanal				X	X
heptanona-2				X	X
hexadecano		X			X

hexanal	x			
hexano			x	x
hexanoato de etila	x			
hexanoato de metila	x			
hidroximetil-etil cetona				x
isoamilálcool acetato				x
isobutanal			x	
isobutanol			x	x
isopropil-1-metil benzeno	x			
laurato de etila				x
lilac aldeido				x
limoneno			x	x
linalool	x			x
m-xileno			x	
mentol	x			
metanol	x			
metil acetofenona	x			
metil(1-metiletenil)-benzeno				x
metil-2-decalona			x	
metil-3,5-dimetoxibenzoato			x	
metilbenzeno			x	
metoxipropilbenzeno			x	
miristato de etila				x
miristicina				x
n-eicosano		x		
n-heneicosano		x		
n-pentacosano		x		
n-tricosano		x		
nerolidol				x
nonadecano				x
nonano			x	x
o-xileno			x	
octadecanoato de etila		x		
octano			x	x
oleato de etila	x			
óxido cis-linalool	x	x	x	x
óxido trans linalool	x	x	x	x
p-cimen-alfa-ol		x		
p-cimeno	x	x		
p-cimeno-8-ol	x			
p-isopropilbenzaldeido	x			
p-menta-1(7),8(10)-dien-9-ol				x
p-xileno			x	
palmitato de etila	x	x		
pentadecano				x
pentadiona		x		
pentanal	x			
pentanediona-2,3			x	
pentano			x	
pentanoato de metila			x	
pentanona-2			x	

propionato de linalila		x
tetradecano		x
tetraidrofurano	x	x
tolueno	x	x
trans-cariofileno		x
trans-rose óxido	x	
trimetilbenzeno	x	
trimetilfenol	x	
trimetilfenol	x	
valeraldeído		x

* foram excluídos desta tabela os compostos relatados por Ferber e Nursten (1977) e os relatados por Graddon et alii (1979), visto que o primeiro identificou compostos presentes na cera de abelhas e o segundo empregou extração com solvente orgânico para isolamento dos compostos analisados.

** sde = extração e concentração simultaneos (Nickerson-Lickens)

BOUSETA et alii (1992) estudaram a composição dos compostos voláteis de 84 méis uniflorais. Os autores empregaram a técnica de Headspace dinâmico, com um sistema do tipo purge-and-trap. Os compostos foram identificados a partir da comparação de seus espectros de massas com aqueles encontrados na literatura e por co-injeção de padrões. A análise quantitativa foi feita pela adição de padrões às amostras de mel, cujos fatores de resposta foram calculados. Os autores separaram cerca de 60 picos representativos dos compostos voláteis, dos quais 47 foram identificados. Estes compostos pertenciam a 8 maiores grupos: aldeídos, cetonas, eter, alcoois, ésteres, compostos sulfurados, hidrocarbonetos e compostos clorados. Os autores concluíram que alguns compostos poderiam ser característicos da origem floral, como por exemplo as dicetonas, compostos sulfurados e alcanos presentes em méis de eucalipto, enquanto outros compostos, como aldeídos ramificados e alcoois, refletiam a contaminação microbiológica e condições de armazenamento e processamento de méis e não sua origem botânica. Os compostos identificados neste trabalho encontram-se nas tabelas 1.1 e 1.2.

OVERTON & MANURA (1994) empregaram a técnica de Headspace Dinâmico acoplada a um sistema 'purge-and-trap' para identificação de compostos voláteis em nove amostras de méis comerciais (mirtilo, cravo, alfafa, maçã, laranja, tupelo e 3 méis silvestres). Foi preciso, no entanto, aquecer o sistema de captura a 80°C para diminuir a viscosidade da amostra. A quantificação dos compostos voláteis foi feita empregando-se adição de 100 ng de padrão (d- 14 cimeno) no polímero poroso após a

a viscosidade da amostra. A quantificação dos compostos voláteis foi feita empregando-se adição de 100 ng de padrão (d- 14 cimeno) no polímero poroso após a captura. Vale ressaltar que a quantificação foi feita com o detetor de massas. Os autores empregaram apenas a espectrometria de massas para identificação dos compostos, e não apresentaram os espectros obtidos. Foram identificados, ao todo, 102 compostos. Os méis analisados continham vários compostos terpênicos e outras classes de compostos com características sensoriais, tais como, lilac aldeído, ácidos aromáticos e monoterpenos que poderiam ser empregados como marcadores da origem botânica. No entanto, o composto antranilato de metila, que é considerado importante para méis cítricos (WHITE, 1978), não foi relatado. Compostos de baixo peso molecular, como aldeídos de cadeia ramificada e álcoois também foram identificados neste trabalho.

A tabela abaixo mostra os compostos voláteis identificados por BOUSETA et alii (1992) e OVERTON & MANURA (1994) em mel de eucalipto e de laranja .

Tabela 1.2-- Compostos voláteis isolados de mel de laranja e de eucalipto empregando-se "Headspace Dinâmico", relatados na literatura. Valores expressos em ppb.

TIPO DE MEL	eucalipto ^a	laranja ^a	laranja ^b
Nº DE AMOSTRAS ANALISADAS	3	9	1
Aldeídos			
acetaldeído,	542	1539	
2-metil-butanal	19	9	
3-metil-butanal	55	19	6,68
benzaldeído	5	---	198,80
caproaldeído	3	53	
heptanal	3	5	
isobutanal	36	17	
valeraldeído	2	----	
2-metil crotonaldeído			3,68
fenilacetaldéido			62,12
lilac aldeído			39,80
Cetonas			
acetona	165	209	
butanona-2,	46	17	
diacetil	2220	230	44,84
pentanediona-2,3	72	6	
pentanona-2,	----	2	

3,5,5-trimetil-2-ciclohexen-1-ona			43,48
3-hidroximetil etil cetona			24,00
acetilvaleril(2,3heptanedrona)			17,92
Compostos Cíclicos			
furano	16	4	
tetraidrofurano	---	30	
furfural			131,48
Alcoois			
etanol	76	77	
3-metil-butanol	---	64	
isobutanol	29	49	2,84
1- alfa terpineol			14,40
álcool fenil etílico			3,06
linalool			22,80
óxido de linalool			204,84
p-menta-1(7),8(10)-dien-9-ol			39,60
álcool tetraidrofurfuril			63,72
Esteres			
acetato de etila	19	10	
formato de etila	87	159	
beta-feniletil acetato			
Compostos Sulfurados			
dimetilsulfeto	204	132	
dimetildissulfeto	123	---	4,56
dimetiltrissulfeto	12	---	
Hidrocarbonetos			
alfa-pineno	11	---	
hexano	117	12	
limoneno	1	1	1,84
nonano	106	49	2,84
octano	7440	805	5,12
p-m-xileno	---	2	
pentano			
tolueno	8	5	2,32
heptadecano			2,64
pentadecano			2,84
Compostos Clorados			
diclorometano	4519	597	
1,3- diclorobenzeno	333	126	
Outros			
2-metil-propionitrilo			14,24
2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol			2,24

a - Bousset et alii 1992

b - Overton e Manura 1994

Vários métodos foram empregados para analisar os compostos voláteis de mel, o que não é uma tarefa fácil pois a matriz de açúcares da qual o mel é composto, pode sofrer modificações que levam à introdução de artefatos na análise. Cerca de 250 compostos voláteis já foram identificados em diferentes amostras de méis, e,

embora pareça haver uma relação entre alguns compostos presentes e a origem botânica (OVERTON & MANURA, 1994) ainda são necessários outros trabalhos que possam confirmar essa hipótese.

1.3 - BIBLIOGRAFIA

- 01 - ACREE,T,E. ; BARNARD,J. & CUNNINGHAM,D.G . A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. Food Chem.. Barking, , 24,p. 273-286, 1984.
- 02 - _____.Gas chromatography-olfactometry and Charm Analysis. In: MAARSE AND VAN DER HEIJ,D.G. eds Trends in flavor research.. Oxford, Elsevier Science Publishers,1994.
- 03 - ALENCAR,J.W. ; CRAVEIRO,A.A ;MATOS,F.J.A. - Kovats indices as a preselection routine in mass spectra library searches of volatiles. J. Nat prod., Ohio, 47 (5): 890-892, 1984
- 04 - ALENCAR,J.W. , CRAVEIRO,A.A , MATOS,F.J.A. , MACHADO,M.I.L. - Kovats indeces simulation oil analysis. Química Nova, São Paulo, 13 (4) :282-284, 1990
- 05 - ANUÁRIO Estatístico do Brasil.. Rio de Janeiro. IBGE . 1993,seção 3, pág.59.
- 06 - BARTH,O.M. O pólen no mel brasileiro . Rio de Janeiro : Gráfica Luxor, 1989, 150p
- 07 - BARTH,O.M. Pollen in monofloral honeys from Brasil. J. Apic. Res., Cardiff, ,29 (2): 89-94, 1990.
- 08 - BICCHI,C.,BELLIARDO,F. & FRATTINI,C. Identification of the volatile components of some piemontese honeys. J.Apic.Res. , Cardiff, 22(2): 130-136,1983

- 09 - BONAGA,G. & GIUMANINI,A.G. The volatile fraction of chestnut honey. J. Apic. Res., Cardiff ,25 : 113-120, 1986.
- 10 - BOUSETA,A. , COLLINS,S. & DUFOUR,J.P. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dinamic Headspace CG-MS system. J. Apic. Res., Cardiff , 31 (2):96-109,1992
- 11 - CAMPOS,M.G.R. Contribuição para o estudo do mel, polen, geléia real e própolis. Bol. Fac. Farm. Coimbra, Coimbra ,11 (3): 17-47, 1987.
- 12 - CASTRO,R.M. ; ESCAMILLA,M.J & REIG,F,BOSCH. - Evaluation of the color of some spanish unifloral honey types as a characterization parameter. J.of AOAC Int. 75(3) : 537-542, 1992.
- 13 - CLASSEN,C. , HOWES,D. & SYNNOTT,A. Aroma - a história cultural dos odores. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 1996,262p.
- 14 - CORTOPASSI-LAURINO,M & GELLI,D.S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et Méliponinés du Brésil. Apidologie, Paris, 22, p. 61-73, 1991
- 15 - COSTELL,E & DURAN,L. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. I. Introducción. Rev.Agroquím. Technol. Aliment., Valência 21(1): 1 - 10 1981.
- 16 - CRANE,E. - O livro do mel. Trad. Astrid Kleinert Giovannini 2ª ed. São Paulo: Ed.Nobel, 1985, 226p.

- 17 - DA SILVA, M.A.A.P. , LUNDAHL,D.S. & Mac DANIEL,M.R. - The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfatometry technique. In: MAARSE,H. & VAN DER HEIJ, D.G. (Eds),_Trends in flavor research. Developments in Food Science ,35, London , Elsevier Science Publishers, 1994, 191 - 209 pp.
- 18 - DAMASIO,M.H. & COSTELL,E. Análisis sensorial descriptivo:generación de descriptores y selección de catadores. Rev. agroquím. Tecnol. Aliment., Valência, 31(2): 165-178, 1991.
- 19 - DAVIS,R. FREARSON,M. Mass spectrometry. Analytical chemistry by open learning, Chichester : Wiley & Sons, 1987, 603p.
- 20 - DAYRELL,I.O. & VITAL,N.C. Comparação entre dois métodos oficiais para determinação de hidroximetilfurfural (HMF) em mel brasileiro. Ciênc. Tecnol.Aliment., Campinas , 10 (2): 137-141, 1991.
- 21 - DONER,L.W. The sugars of honey - A review. J. Sci. Food Agric, London, 28: 443-456, 1977.
- 22 - FERBER,C.E.M & NURSTEN,H.E. - The aroma of beeswax. J. Sci. Food Agric., London, 28: 311-318, 1977.
- 23 - FERRERES,F. ,TOMÁS-BARBERAN,F.A. , GIL,M.. TOMAS-LORENTE,F. An HPLC technique for flavonoid analysis in honey. J.Sci.Food Agric., London, 56, p. 49-56,1991
- 24 - FLATH,R.A. & FORREY,R.R.R . Volatile components of papaya (Carica papaya,L., Solo variety). J.Agric.Food Chem., Santa Monica, 25; 103, 1977
- 25 - GIESE,J. - Modern alchemy: Use of flavors in food. Food Technol., Chicago,. 48(2): 106-116 , 1994.

- 26 - GILBERT,J. ,SHEPHERD,M.J. , WALLWORK,M.A. , HARRIS,R.G.
Determination of the geographical origin of honeys by multivariate analysis of gas chromatographic data on their free amino acid content. J. Apic. Res., Cardiff, 20 (2); 125-135, 1981.
- 27 - GONÇALVES,L.I. Retrospecto sobre a apicultura Brasileira. in : Simpósio sobre Apicultura, Nogueira R.H.F. Campinas : Cargill, 1984, p. 56-70
- 28 - GRADDON,A.D. , MORRISON,J.D. & SMITH,J.F. Volatile constituents of some unifloral australian honeys. J,Agric.Food Chem., Santa Monica , 27 (4): 832-837, 1979.
- 29 - GROB, Jr. & ROMAN, A. Sample transfer in splitless injections in capillary gas chromatographic. J. Chromatogr., Amsterdam , 214-118, 1981.
- 30 - GUADAGNI,D.G ;BUTTERY,R.G. & HARRIS,J. Odor intensities of hop oil components. J. Sci. Food Agric., London, 17, 142-144, 1966
- 31 - GUICHARD,E. , SCHLICH,P. & ISSANCHOU,S. Composition of Apricot aroma: correlations between sensory and instrumental data. J. Food Sci., Chicago, 55(3), p. 735-738,1990.
- 32 - GUICHARD,E. , & ISSANCHOU,S. Extraction of volatile compounds from raspberry by diferent methods - aplication of principal component analysis to gas chromatographic data. Sci. Aliments, Paris, 3 (3) :. 427-438, 1983.
- 33 - IMPERATRIZ-FONSECA,V.L. et alii . Preliminary study of Brazilian honeys.- Beekeeping technology and equipament, 312-316,1986.
- 34 - IOIRISH,N. As abelhas, farmacêuticas com asas. Trad. José Antonio Marques. Moscou : Mir , 1981, 228p.

- 35 - JELLINEK,G Sensory evaluation of food - theory and practice. Chicester: Ellis Horwood, 1985, 429p.
- 36 - JENNINGS,W. Gas chromatography with glass capillary coluns. Cap.7. Londres: Academic Press, 1980
- 37 - JEURING,H.J. & KUPPERS,F.J.E.M. - High performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey. J. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, 63(6), 1215-1218 , 1980.
- 38 - LEE,C.Y.; SMITH,N.L. ; KIME,R.W. ; MORSE,R.A. - Source of the honey protein responsible for apple juice clarification. J. Apicultural Res. Cardiff, 24(3): 190-194, 1985.
- 39 - LOW,N.H. , SCHWEGER,C. & SPORNS,P. Precautions in the use of melissopalynology. J. Apic. Res., Chicago, 28(1) : 50 - 54, 1989.
- 40 - MAARSE,H & VAN DER HEIJ (eds.) Trends in Flavor Research . Developments in Food Science, 35 , Amsterdan: Elsevier Scientific Publishing, 1994, 516 p
- 41 - MACDANIEL,M.R.. , MIRANDA-LOPEZ,R. , MICHAELS,B.T.WW.. , LIBBEY,L.M. Pinot noir aroma: a sensory / gas chromatographic approach. In: G. Charalambous (ed.), Flavors and off-flavors. Amsterdan :Elsevier Science Publishers, 1990, pp. 23-36.
- 42 - MACLEOD,A,J, & CAVE,S.J. Volatile components of eggs. J.Sci.Food Agric., London, 26: 351, 1975.
- 43 - MAGA,J.A. - Honey flavor . Lebesm.Wiss.u.Technol., 16 , p. 65-68, 1983.
- 44 - MIDDLEDITCH,B.S - Analytical artifacts CG,MS,HPLC,TLC and PC. v.44, Amsterdan: Elsevier Scientific Publishing, , 1989 , 1033 p.

- 45 - MILLER,J.M. - Chromatography: concepts and contrasts. New York: Wiley & sons, 1988, cap.6, p. 75-87.
- 46 - NAWAR,W.W Some considerations in interpretation of Direct Headspace gas chromatographic analysis of food volatiles. Food Technol.,Chicago,20(2):115-117,1996.
- 47 - NICKERSON,G.B. & LIKENS,S.T. - Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. J.Chromatogr., Amsterdam, 21 (1) , 1966.
- 48 - OVERTON,S.V. & MANURA,J.J - Flavor and aroma in commercial bee honey - a purge and trap thermal desorption technique for identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey . Am. Lab., Connecticut, April, 45-53, 1994.
- 49 - PIRINI,A. , CONTE,L.S. , FRANCIOSO,O. , LERCKER,G. Capillary gas chromatography determination of free amino acids in honey as a means of discrimination between different botanical sources. J. High Res. Chrom., Oxford, 15 : 165-170,1992.
- 50 - POWERS ,J. J. Techniques of analysis of flavors - integration of sensory and Instrumental methods.. In: MORTON I.D & MACLEOD, A.J (org.) Food Flavors .Developments in Food Science - 3A . Oxford: Elsevier Science Publishing, cap 2,1982.
- 51 - RAMALHO,M. , GUIBU,L.S. , GIANNINI,T.C. , KLEINERT-GIOVANNINI,A., IMPERATRIZ-FONSECA,V.L. .Characterization of some southern Brazilian honey and bee plants through pollen analysis. J. Apic. Res.., Cardiff, 30(2) : 81-86, 1991.

- 52 - SABATIER,S. , AMIOT,M.J. , TACCHINI,M. , AUBERT,S. Identification of flavonoids in sunflower honey. J. Food Sci., Chicago, ,57(3): 773-774,777,1992..
- 53 - SANCHO,M.T., MUNIATEGUI,S. , HUIDOBRO,J.F. ,SIMAL-LOZANO,J. Provincial classification of Basque Country (northern Spain) honeys by their chemical composition. J. Apic. Res., Cardiff, 30(3/4): 168-172, 1991.
- 54 - SCHIERBERLE,P. & GROSCH,W. -Evaluation of the flavor of wheat and rye bread by aroma extract dilution analysis. Z. Lebensm. Unters. Forsch., Berlin, 185, 1987, p. 111-113.
- 55 - SIDDIQUI ,I. R. - The sugars of honey. Adv. Carbohydr. Chem., New York, ,25.: 285-309, 1970.
- 56 - SILVERSTEIN,R.M. ;BASSLER,G.C. ; MORRIL,T.C - Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994,387p.
- 57 - SOUZA,M.L.A. Considerações sobre as propriedades do mel. Ci. Méd. Niterói, 7(1/2): 49-51, 1988.
- 58 - STEEG,E. & MONTAG,A. Quantitative bestimmung aromatischer carbonsauren in honig. Z. Lebenm. Unters. Forsch, Berlin, 187 :15-120, 1988
- 59 - STONOGA,V.I. Características de qualidade dos méis da região metropolitana de Curitiba. Dissertação apresentada à Universidade Federal do Paraná para obtenção do título de mestre, 1990. 206p.

- 60 - TAN,SENG-TO et alii - Extractives from New Zealand honeys.1.White Clover, Manuka, and Kanuka Unifloral honeys. J.Agric.Food Chem., Santa Monica, 36: 453-460, 1988.
- 61 - TAN,SENG-TO , WILKINS,A.L. , MOLAN,P.C. , HOLLAND,P.T. & REID,M. . A chemical approach to the determination of floral sources of New Zealand honeys. J. Apic. Res., Cardiff, 28 (4): 212-222, 1989.
- 63 - TATEO, F. - Il problema degli aromi nel miele. Industrie alimentare., Pinerola, 97-100 , 1982.
- 64 - TERANISHI,R. , ISSENBERG,P. , HORNSTEIN,I. , WICK,E.L. Flavor research- principles and techniques. New York: Marcel Dekker, Cap.2, 1971, p.37-77.
- 65 - TERANISHI,R. , FLATH,R.A. & SUGISAWA, H. Flavor research - recent advances. New York: Marcel Dekker , Cap. 2, 1986, 15 -51pp.
- 66 - VISSER,F.R., ALLEN,J.M. & SHAW,G.J. The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J.Apic.Res., Cardiff, 27 (3):175-181,1988
- 67 - WHITE,J. W. Jr - Honey. Adv. Food Res.,24 : 287-374, 1978.
- 68 - _____ Wiley led the way: A century of federal honey research. J. Assoc. Off.Anal. Chem., Arlington, 70(2) : 181-189, 1987.
- 69 - _____ & SICILIANO, J. . Hydroxymethylfurfural and honey adulteration. J. Assoc. Off. Anal.Chem., Arlington , 63(10): 7-18, 1980.
- 70 - WILLIE,S.G. , ALVES,S. , FILSOOF,M. , JENNINGS,W.G. . Headspace sampling: use and abuse . In: Analysis of foods and beverages. New York: Academic Press. 1978, p. 1-13p.

- 71 - WOOTON,M. , EDWARDS,R.A. & FARAJI-HAREMI . Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian Honeys.III Changes in volatile compounds . J.Apic.Res., Cardiff, 17 (3): 167-172, 1978
- 72 - WOOTON,M. & RYAL, L. A comparison of codex alimentarius commission and HPLC methods for 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde determination in honey. J. Apic. Res. Cardiff ., 24 (2): 120-124, 1985 .

CAPÍTULO II

PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS VOLÁTEIS DE MEL

II - PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS VOLÁTEIS DE MEL

2.1 - INTRODUÇÃO

A etapa inicial de pesquisa de sabor em geral, e de aroma, em particular, refere-se ao isolamento dos compostos voláteis, na proporção em que se encontram no alimento, e em quantidade suficiente para se proceder às análises posteriores de identificação.

Quando a metodologia utilizada nessa etapa inicial da pesquisa não é capaz de isolar de forma representativa os compostos voláteis responsáveis pelas características sensoriais importantes no aroma e sabor do produto em estudo, os resultados gerados perdem o significado. Pesquisadores como TERANISHI et alii (1986) enfatizaram a necessidade de se proceder à avaliação sensorial dos compostos voláteis isolados, de forma a assegurar que o aroma característico do produto seja mantido. Esses autores recomendaram que essa análise seja tão criteriosa quanto as demais análises empregadas na separação e identificação dos compostos odoríferos.

Ainda que a avaliação sensorial dos isolados contendo os compostos voláteis seja muito importante para dar validade à metodologia de isolamento, são poucos os pesquisadores que, ao reportarem seus estudos, detalharam as técnicas de análise sensorial na avaliação do aroma do isolado (ABBOT et alii, 1993; KERROLA & KALLIO, 1993).

O estudo dos compostos voláteis do mel tem gerado pesquisas que visam caracterizá-los com o objetivo de usá-los como parâmetro de qualidade para o produto (WOOTON et alii, 1978 ; GRADDON et alii, 1979 ; BICCHI et alii, 1983; VISSER et alii, 1988 ; BOUSETA et alii, 1992 ; OVERTON & MANURA, 1994).

Com exceção dos trabalhos de OVERTON & MANURA (1994) e BOUSETA et alii (1992), que utilizaram técnica de Headspace Dinâmico para isolamento dos compostos voláteis de mel, a maioria das pesquisas realizadas sobre aroma e sabor

de mel empregaram a análise total, usando os processos de destilação e concentração (WOOTON et alii, 1978; GRADDON et alii, 1979; BICCHI et alii, 1983; VISSER et alii, 1988). Uma vez que estes compostos estão presentes em concentrações extremamente pequenas, e visto que a matriz deste produto é composta principalmente por frutose e glicose, ao empregarem-se técnicas de isolamento que utilizam calor, aumenta-se muito a possibilidade de introdução de artefatos, como os compostos furânicos, comprometendo-se assim os resultados obtidos.

2.2 - OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo a padronização de uma metodologia de isolamento de voláteis de mel que evitasse o emprego de calor e não modificasse o aroma característico do produto, otimizando a escolha do solvente e do tempo de isolamento através de técnicas sensoriais e instrumentais.

2.3 - MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 - Seleção da Matéria Prima

Cinco quilos de mel unifloral de laranja, colhido em Novembro de 1994 no Estado de São Paulo, foram adquiridos diretamente do apicultor e submetido à análise polínica para confirmação da origem floral.

2.3.2 - Amostragem e Preparo da Amostra

Em cada teste (para escolha do solvente e do tempo de captura), trezentos gramas de mel foram homogeneizados com 200 ml de água destilada, a fim de diminuir a viscosidade, e submetidos ao isolamento dos compostos voláteis.

2.3.3 - Isolamento dos Compostos Voláteis

Os compostos voláteis do “Headspace” do mel foram isolados através da adsorção dos mesmos em polímero poroso, conforme o método descrito por FRANCO

& RODRIGUEZ-AMAYA (1983). A Figura 2.1 mostra o aparato empregado nesta etapa. Inicialmente os compostos voláteis foram capturados por 3 horas em polímero Porapak-Q e, para a dessorção dos mesmos foram testados dois tipos de solventes: acetona (polar) e hexano(apolar). Para o melhor solvente, outros dois intervalos de tempos (2, e 4 horas) de captura foram também testados. Os solventes empregados possuíam grau cromatográfico, provenientes da Carlo Erba, Itália.

A validade do método de isolamento dos compostos voláteis das amostras de mel foi testada através de análise cromatográfica e análise sensorial de cada isolado obtido. O melhor método foi definido como aquele que produziu o isolado com maior número de picos cromatográficos e maior intensidade de aroma característico de mel, conforme determinado por equipe sensorial selecionada e treinada e análise estatística dos resultados.

2.3.4 - Análise Cromatográfica

Cada isolado foi analisado por cromatografia gasosa em Cromatógrafo Varian modelo 3300 equipado com uma coluna SE-54 de 50 m de comprimento e 0,2 mm de diâmetro interno. As condições cromatográficas foram:

I) Temperatura inicial da coluna a 50°C, mantida por 8 minutos. Em seguida a temperatura foi elevada a 75°C com um gradiente de temperatura de 2°C/min e depois a 150°C em um gradiente de 3°C/min.; II) a temperatura final de 200°C foi atingida a um gradiente de 5°C/min.; III) temperatura do injetor foi de 230°C e IV) temperatura do detetor de ionização de chama foi de 250°C. O injetor empregado foi do tipo “splitless” e a velocidade linear do gás de arraste (hidrogênio) foi de 45 cm/s .

2.3.5 - Análise Sensorial

A intensidade de aroma característico de mel presente em cada isolado foi determinada por equipe sensorial selecionada e treinada. Indivíduos foram recrutados entre estudantes e funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP e pré-selecionados com base em suas capacidades individuais de discriminar diferenças de intensidade de aroma característico de mel. Com este objetivo, numa sessão de treinamento, os candidatos foram inicialmente familiarizados com o aroma característico de mel de laranja. A seguir, os candidatos receberam 3 amostras de mel diluídas em água nas proporções mel:água de 1:2, 1:30 e 1:50 e foram solicitados a avaliar a intensidade do aroma característico de cada amostra utilizando a ficha apresentada na Figura 2.2.

Quarenta mililitros de cada amostra foram oferecidos em cálices tipo tulipa envoltos em papel alumínio e tampados com vidro de relógio. As amostras foram codificadas com números de três dígitos e avaliadas em cabines individuais sob luz vermelha.

Cada provador analisou cada uma das amostras em três repetições. Uma análise de variância univariada (ANOVA) foi efetuada com os resultados de cada provador (fontes de variação: amostra e repetição). Para cada provador computou-se o nível de significância (p) para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$. Provadores apresentando $p_{amostra} \leq 0,30$ e $p_{repetição} \geq 0,05$ e resultados consensuais com os demais membros do grupo sensorial (comparação de médias) foram selecionados para compor a equipe sensorial, conforme sugerido pelo ASTM (1981).

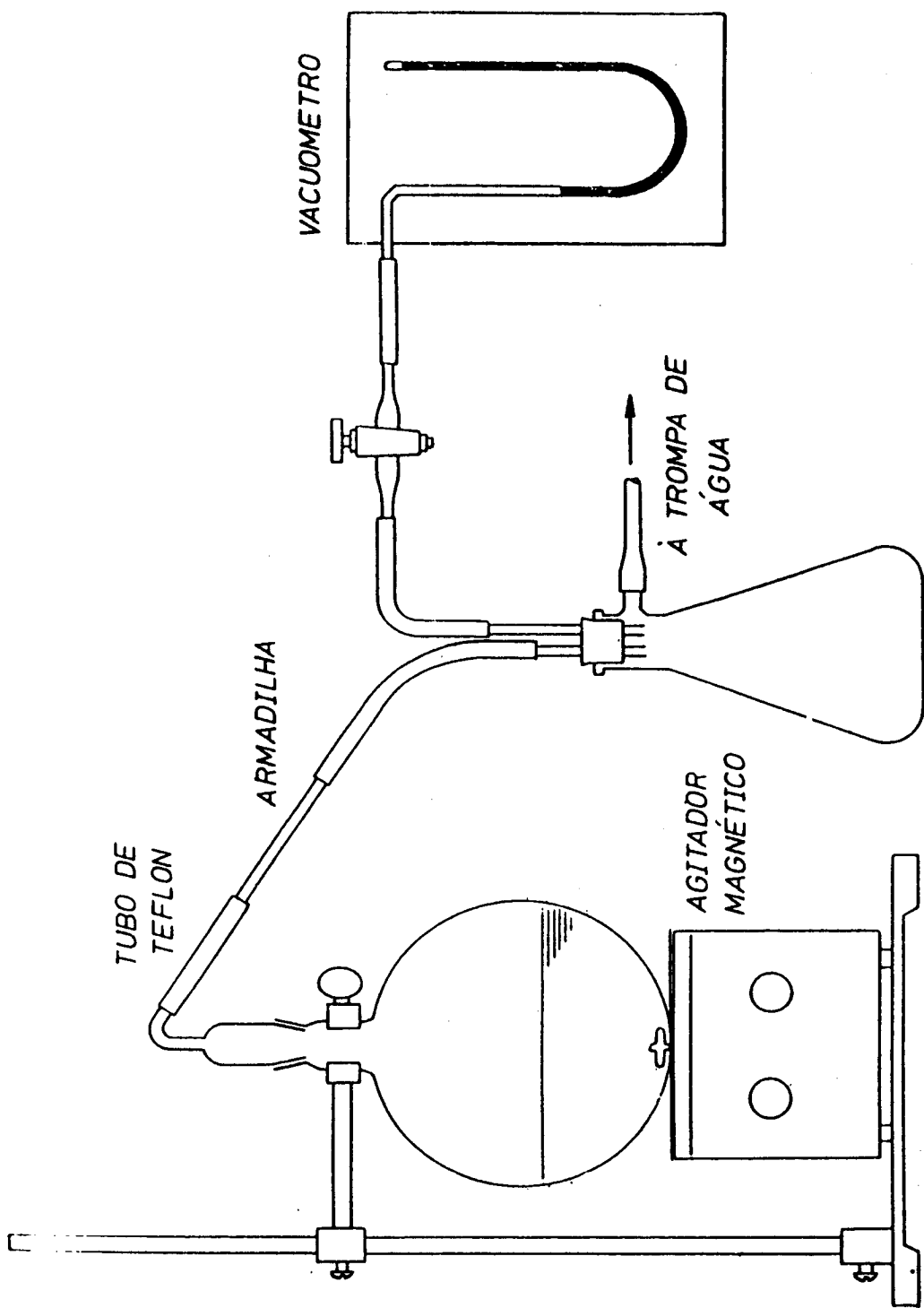


Figura 2.1 - Aparato empregado para captura dos compostos voláteis

Figura 2.2 - Ficha de avaliação utilizada na seleção de candidatos para compor equipe sensorial

Nome _____ Data / /

Avalie, por favor, a intensidade de aroma cacterístico de mel em cada uma das amostras codificadas e expresse a sua impressão utilizando a escala abaixo.

amostra

fraco

forte

fraco

forte

fraco

forte

Comentários: _____

A equipe sensorial selecionada e treinada, avaliou então, a intensidade de aroma característico de mel dos isolados provenientes da eluição do polímero com solventes distintos e diferentes tempos de captura utilizando uma escala não estruturada de 9 cm contendo nos extremos os termos fraco e forte, em ficha similar àquela detalhada na figura 2.2.

Os isolados foram apresentados em fita de papel própria para análise de essências. Com o auxílio de uma seringa, 5 µl do isolado foram transferidos para a fita de papel e solicitou-se a cada provador, que aspirasse este material após a evaporação do solvente. O tempo entre a adição do isolado na fita e a avaliação de cada provador foi rigorosamente monitorado, permanecendo o mesmo para todos os provadores em todas as repetições. Cada provador realizou individualmente a análise de cada isolado em quatro repetições. Os resultados foram analisados por análise de variância univariada (ANOVA), e teste de Tukey para verificar se havia diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos empregados.

2.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 - Seleção da Equipe Sensorial

As Tabelas 2.1 e 2.2 mostram os resultados estatísticos obtidos pelos provadores na etapa de seleção da equipe sensorial. Apesar do curto período de treinamento, os resultados indicaram que todos os candidatos, à exceção do provador 12, demonstraram excelente capacidade para discriminar diferenças de intensidade em aroma característico de mel ($p < 0,05$), boa repetibilidade em seus julgamentos ($p \geq 0,05$) e consenso com a equipe sensorial. Os candidatos 2, 3, 6, 7, 9, 10, 11 e 13 foram selecionados para a avaliação sensorial dos isolados por apresentarem maior disponibilidade de tempo para as avaliações.

Tabela 2.1- Nível de significância (p) de $F_{amostra}^1 / F_{repetição}^2$ para cada provador

	PROVADOR												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Prob.F amostra	0,0301	0,0001	0,0001	0,001	0,0415	0,0141	0,0529	0,0001	0,0001	0,0014	0,0146	0,0094	0,0001
Prob. F repetição	0,1028	0,1281	0,0555	0,6833	0,9897	0,1928	0,9789	0,9388	0,4110	0,1224	0,1618	0,0127	0,7153

¹ p de $F_{amostra} \leq 0,30$ indica provador com suficiente poder discriminativo

² p de $F_{repetição} \geq 0,05$ indica provador com suficiente repetibilidade

Tabela 2.2 - Médias da equipe sensorial (ES) e de cada provador (1 -13) para aroma característico de mel

ES		PROVADOR												
amostra		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	6,5a **	4,6	8,0	6,4	8,4	5,8	6,8	8,6	6,5	6,3	5,7	2,4	7,5	8,1
2	2,9b**	1,8	1,1	2,5	5,0	3,5	2,2	4,8	1,6	3,5	1,2	2,4	7,5	8,2
3	1,0c**	0,2	0,2	0,2	0,5	1,1	0,1	2,2	0,3	0,6	0,4	0,2	5,4	0,9

* amostra 1 = diluição 1:2; amostra 2 = diluição 1:30; amostra 3 = diluição 1:50
** médias com letras diferentes, em uma mesma coluna diferem significativamente entre si ao nível de significancia $\leq 0,05$.

2.4.2 - Otimização da Metodologia de Isolamento dos Voláteis

2.4.2.1 - Escolha da Técnica de Isolamento

Foi escolhida uma técnica de enriquecimento dos voláteis do “Headspace”, que permite ao mesmo tempo concentrar os compostos voláteis e isolá-los da matriz de compostos não voláteis, sem emprego do calor, o que poderia introduzir artefatos provenientes da degradação de açúcares do mel.

A técnica desenvolvida por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) e demonstrada como uma técnica sensível, altamente reprodutível e que não altera a composição original da amostra, desde que as condições de isolamento dos compostos voláteis sejam rigorosamente padronizadas para cada tipo de amostra, já foi empregada com sucesso para isolar compostos voláteis de frutas (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA,1993; FRANCO et alii,1993; FRANCO et alii,1993a). Esta técnica, portanto, parecia adequada aos propósitos de isolamento dos voláteis de mel e foi escolhida. No caso do mel, porém, a matriz de compostos não voláteis, muito viscosa, não permitiu o enriquecimento dos voláteis nos primeiros ensaios e portanto foi feita uma diluição apropriada da amostra (300g de mel homogeneizados com 200 ml de água).

2.4.2.2 - Efeito do Solvente na Eluição do Polímero e Efeito do Tempo de Captura nos Compostos Voláteis de Mel

Os resultados da análise cromatográfica dos isolados obtidos através da eluição com hexano e acetona (figura 2.3), evidenciaram que o isolado em acetona possuiu um maior número de compostos voláteis, sugerindo que a acetona foi um solvente mais eficiente para a dessorção dos compostos voláteis adsorvidos na armadilha. Os resultados instrumentais foram confirmados pela análise sensorial (tabela 2.3) na qual o isolado acetônico foi considerado pela equipe sensorial treinada, como possuindo intensidade moderada de aroma característico de mel, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) do isolado de hexano, o qual praticamente não apresentou aroma característico de mel. Além de mais eficiente que o hexano quanto à capacidade de eluição dos compostos voláteis de mel capturados em Porapak Q, a acetona possibilitou que os compostos voláteis fossem isolados em quantidade e proporção adequados, apresentando portanto, aroma característico de mel.

A figura 2.4 mostra os cromatogramas dos isolados acetônicos após 2 e 4 horas de captura. O isolado obtido após duas horas de captura apresentou menor número de picos, e os isolados obtidos após 3 e 4 horas não apresentaram diferenças visíveis entre si (figuras 2.3 e 2.4). O tempo de captura de 2 horas foi insuficiente para isolar os compostos voláteis presentes no “Headspace” da amostra de mel, enquanto o tempo de captura de 4 horas não apresentou vantagem sobre o tempo de 3 horas. Da mesma forma, os resultados da equipe sensorial (tabela 2.3) mostraram que, embora a média de intensidade de aroma característico de mel aumentasse com o incremento do tempo de captura dos compostos voláteis, esse acréscimo não correspondeu a uma diferença significativa ao nível de 0,05 de significância, sugerindo que um tempo de captura de 3 horas produziu um isolado de aroma tão característico quanto um tempo de 4 horas.

Tabela 2.3 - Intensidade média de aroma característico de mel¹ dos isolados obtidos por eluição com diferentes solventes, através da técnica de análise de "Headspace"

SOLVENTE ⁽²⁾	MÉDIA (TUKEY) ³
acetona	5,4 ^a
hexano	1,0 ^b

¹ médias com letra em comum, não diferem significativamente entre si ao nível de significância ≤ 0,05

² tempo de extração igual a 3 horas.

³ escala de intensidade onde 1= fraco e 9 = forte.

Tabela 2.4 - Intensidade média de aroma característico de mel¹ dos isolados obtidos da eluição com acetona através da técnica de análise de "Headspace", com diferentes tempos de captura.

TEMPO	INTENSIDADE DE AROMA CARACTERÍSTICO ²
3	5,4 ^a
4	6,2 ^a

1 -Médias com letra em comum, não diferem significativamente entre si ao nível de significância ≤ 0,05.

2 -Escala de intensidade onde 1=fraco e 9=forte.

Figura 2.3 - Efeito do solvente na eluição dos compostos voláteis do polímero após 3 horas de captura a) hexano b) acetona

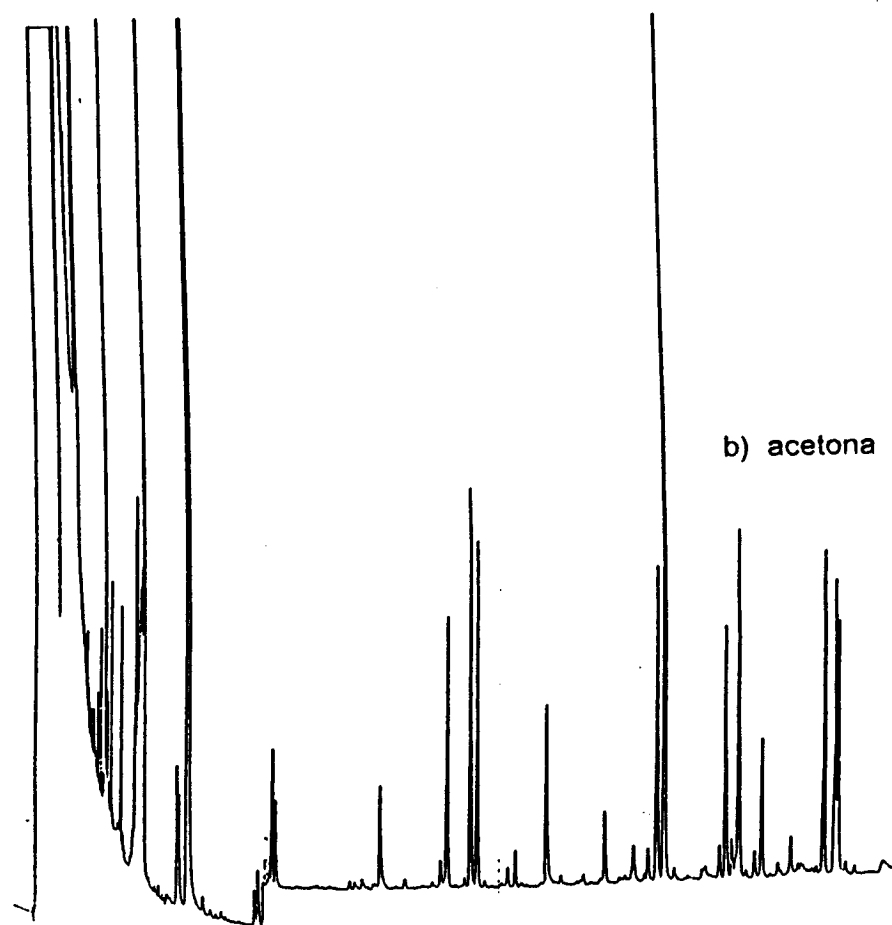
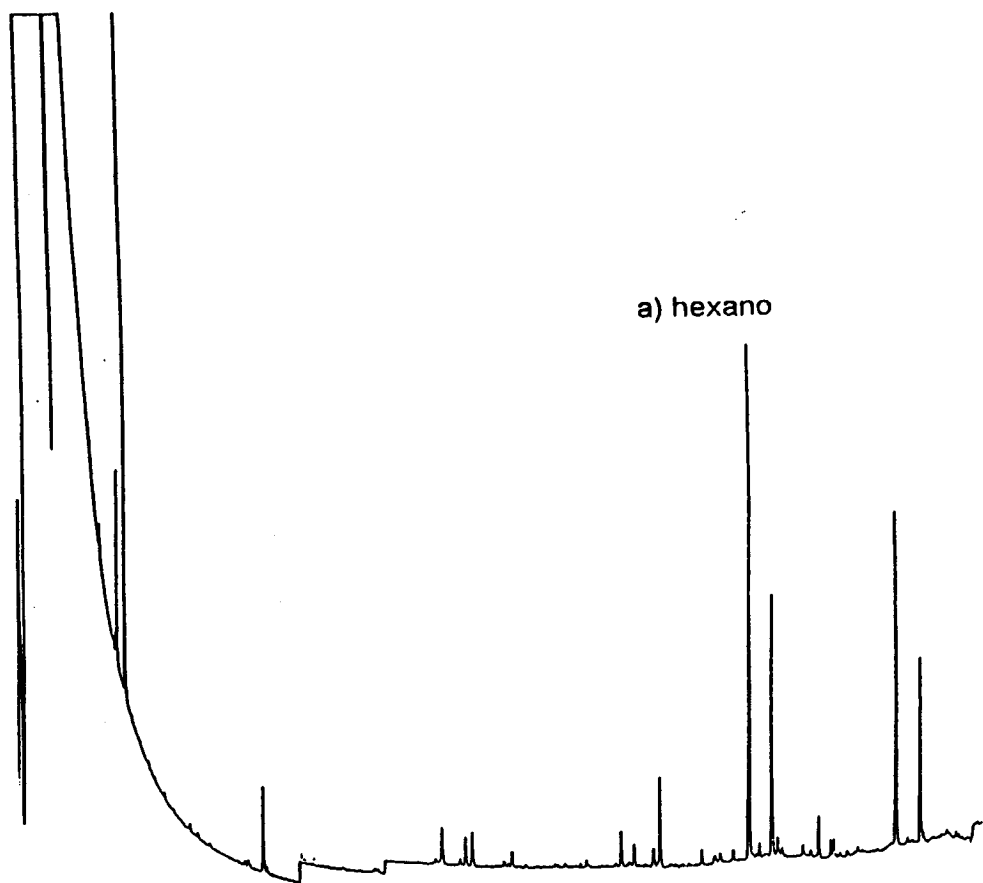
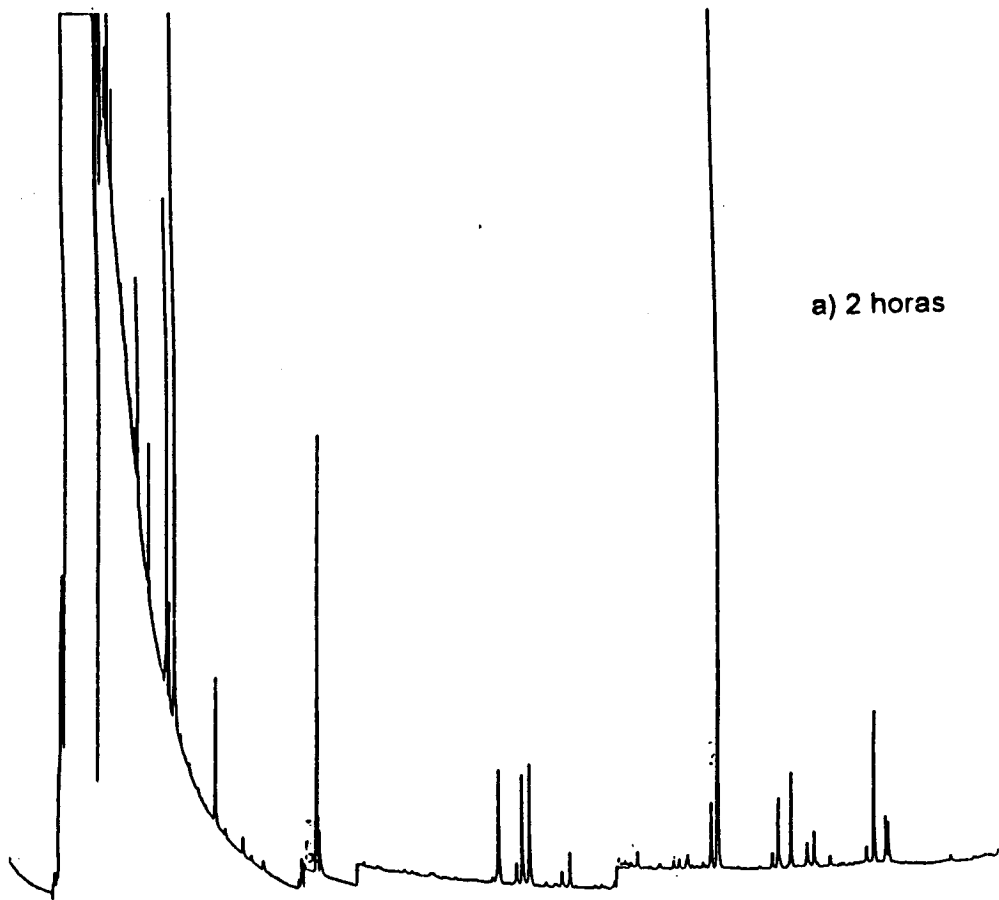


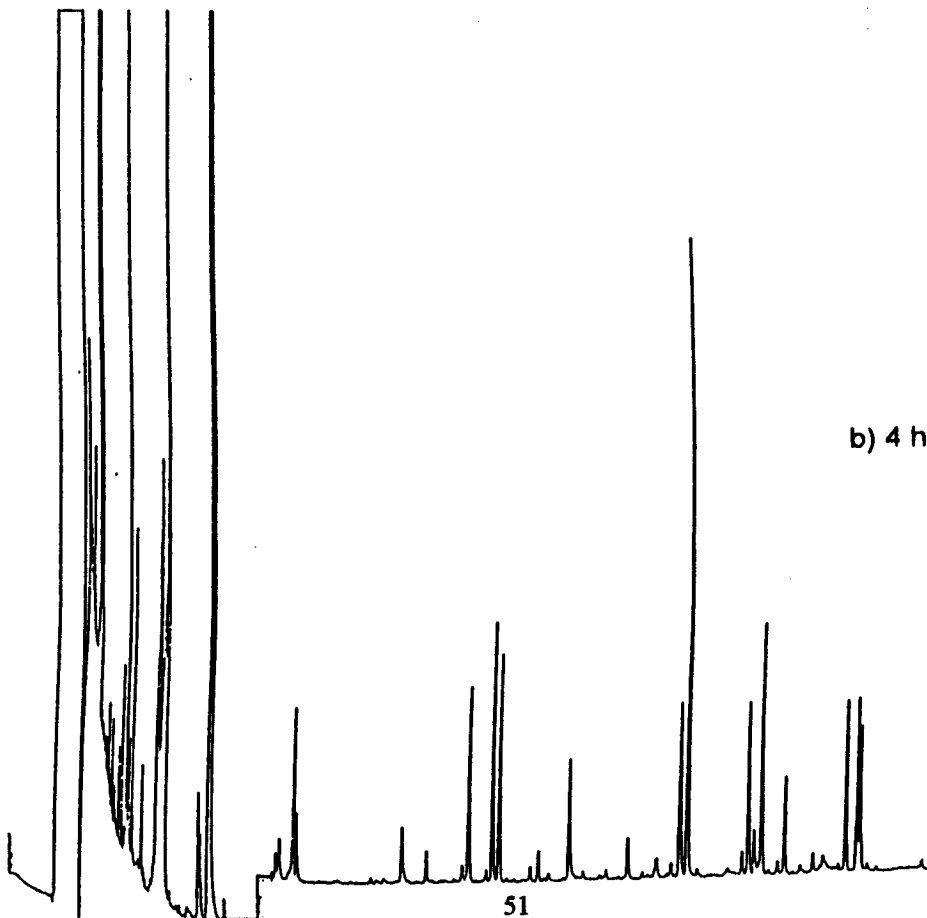
Figura 2.4 - Efeito do tempo de captura em polímero poroso Porapak Q nos compostos voláteis do mel

a) 2 horas

b) 4 horas



a) 2 horas



b) 4 horas

2.4.3 - Análise Polínica

A tabela 2.5 apresenta o resultado da análise polínica dos méis analisados.

Tabela 2.5 - Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados no mel de laranja empregado para padronização da etapa de isolamento dos compostos voláteis

TIPO DE MEL	ESPECIE VEGETAL	%
Laranja colhido em 1994	<i>Citrus sinensis</i>	53,3
	<i>Eucalyptus sp</i>	20,6
	outros	26,1

2.5 - CONCLUSÕES

1- A metodologia de isolamento dos compostos voláteis de mel, utilizando-se a técnica de "Headspace" Dinâmico, com tempo de captura de 3 horas e acetona como solvente para eluição dos compostos voláteis do polímero poroso, sem emprego de calor, resultou em isolados contendo o aroma original do produto.

2 - O treinamento e a seleção da equipe sensorial para a avaliação dos isolados pode ser feita de forma relativamente rápida, permitindo a obtenção de resultados sensoriais que não só discriminaram os isolados com base em intensidade de aroma característico, mas permitiram avaliar as condições de padronização da etapa de isolamento, produzindo resultados que parecem se correlacionar significativamente, com resultados instrumentais.

2.6 - BIBLIOGRAFIA

- 01 - ABBOTT,N. , ETIÉVANT,P., LANGLOIS,D. ,LESSCHAEVE,I., ISSANCHOU,S.
Evaluation of the representativeness of the odor of beer extracts prior to analysis by GC eluate sniffing. J. Agric.Food Chem., Santa Monica ,41,: 777-780 , 1993.

- 02 - ASTM (American Society for Testing and Materials). Guidelines for the selection and training of sensory panel members. ASTM Sp. Tech. Publ. n° 758, 1981.
- 03 - BICCHI,C., BELLIARDO,F.& FRATTINI,C. Identification of the volatile components of some piedmontese honeys. J. Apic.Res, Cardiff, 22 (2): 130-136,1983.
- 04 - BOUSETA,A. , COLLIN,S.& DUFOUR,J.P. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic Headspace GC - MS system. J. Apic. Res., Cardiff, 31(2): 96-109, 1992.
- 05 - FRANCO, R.B. & RODRIGUEZ- AMAYA ,D.B. Trapping of sousop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction. J. Sci. Food Agric. , London, 34 (3) :293-299,1983.
- 06 - FRANCO,M.R.B & RODRIGUEZ-AMAYA,D.B. componentes voláteis de duas cultivares de mamão. Arq.Biol.Tecnol.Par. 36(3):613-632,1993.
- 07 - FRANCO,M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA,D.B.; DAMÁSIO,M.H ; CARRILLO,J.L.L. Componentes voláteis e sabor de mamão (*Carica papaya*,L.): uma reavaliação. Alim.nutr.,São Paulo,5:99-107,1993.
- 08 - FRANCO,M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA,D.B. & DAMÁSIO,M.H. Volatile components and flavor of papaya (*Carica papaya*,L.). in: CHARALAMBOUS,G. Food flavors, ingredients and composition. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1993a, 371-379p.
- 09 - GRADDON,A.D. , MORRISON,J.D. & SMITH,J.F. - Volatile constituents of some unifloral australian honeys. J.Agric.Food Chem., Santa Monica, 27 , (4): 832-837, 1979.

- 10 - KERROLA,K. & KALLIO,H. Volatile compounds and odor characteristics of carbon dioxide extracts of coriander (*Coriandrum sativum* L.) Fruits. J. Agric. Food Chem., Santa Monica ,41: 785-790,1993.
- 11 - OVERTON.S.V & MANURA,J.J. Flavor and aroma in commercial bee honey - a purge and trap thermal desorption technique for the identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey. American laboratory,Conecticut ,26 (6) :45-53, 1994.
- 12 - TERANISHI,R. , FLATH,R.A. & HIROSHI,S. Flavor research - recent advances. New York : Marcel Dekker, cap.2., p.10-51., 1986.
- 13 - VISSER,F.R., ALLEN,J.M. & SHAW,G.J. The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J.Aplic.Res., Cardiff ,27(3): 175-181,1988.
- 14 - WOOTON,M. , EDWARDS,R.A. & FARAJI-HAREMI . Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian Honeys.III Changes in volatile compounds. J.Aplic.Res., Cardiff, ,17(3): 167-172, 1978.

CAPÍTULO III

COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM MÉIS DE EUCALIPTO E LARANJA: ESTUDO DA ORIGEM FLORAL

III - COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM MEL DE EUCALIPTO E LARANJA : ESTUDO DA ORIGEM FLORAL

3.1 - INTRODUÇÃO

Méis de diferentes origens botânicas possuem sabor e aroma bastante distintos, característica essencial na escolha do mel pelo consumidor e fator relevante em concursos de qualidade (CRANE, 1985; RAMALHO, 1986).

O sabor e aroma de méis dependem de compostos voláteis presentes na matriz e no "Headspace". Méis uniflorais apresentam compostos voláteis derivados da fonte de néctar que são os responsáveis pelo seu aroma característico (OVERTON & MANURA, 1994).

Várias modificações relativas ao aroma característico de mel podem ocorrer à partir do momento em que ele é retirado dos favos. A contaminação microbiológica, o processamento ao qual é submetido e o armazenamento prolongado ou impróprio resultam no aparecimento de diferentes classes de compostos, sendo que alguns são empregados como critério de controle de qualidade, como por exemplo, o hidroximetilfurfural que é um produto de degradação de hexoses em meio ácido. Além disso, com o passar do tempo, o mel "envelhece" perdendo seu sabor característico (CRANE, 1985, RAMALHO et alii, 1987).

Outro aspecto relevante do estudo dos compostos voláteis de méis incide na busca de classes de compostos que possam ser usados como "impressão digital", ou seja, que possam indicar sua origem botânica, o que geralmente é feito por análise polínica, com possibilidades limitadas. A indicação da origem geográfica é ainda mais difícil e alguns trabalhos relatados na literatura sugerem essa possibilidade (TAN et alii 1989; FERRERES et alii 1991; SABATIER et alii 1992; GILBERT et alii 1981).

Não há informação disponível sobre a composição de compostos voláteis de mel produzidos no Brasil, talvez devido à complexidade da amostra e do procedimento analítico.

3.2 - OBJETIVOS

Estudar os compostos voláteis isolados por um método do “Headspace” de méis monoflorais (eucalipto e laranja) que apresentam diferentes características sensoriais.

3.3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 - Seleção da Matéria Prima

Mel de eucalipto e laranja foram adquiridos em favos diretamente de apicultores do Estado de São Paulo logo após a colheita. Foram analisadas três lotes de mel de eucalipto (colhidos em julho de 1995 e junho de 1996) e dois lotes de mel de laranja (colhidos em outubro de 1995).

3.3.2- Amostragem

Para cada lote, cerca de 10Kg de mel foram extraídos dos favos. Cada análise foi feita tomando-se 300 g deste mel, que foram homogeneizadas com 200 ml de água destilada, a fim de diminuir a viscosidade. Cada análise foi feita em duplicata.

As amostras de méis foram extraídas diretamente do favo para que a única variável fôsse a origem floral do mel, eliminando as demais, como tempo de armazenamento e processamento, que varia entre os apicultores.

3.3.3 - Métodos

3.3.3.1 - Isolamento dos Compostos Voláteis

Empregou-se o procedimento desenvolvido por FRANCO e RODRIGUEZ-AMAYA (1983). Para tanto, o mel diluído em água foi submetido à captura durante 3

horas em polímero poroso Porapak Q, que foi posteriormente eluído com 300µl de acetona (Carlo Erba, grau cromatográfico), conforme padronizado no Capítulo 2.

3.3.3.2 - Separação dos Compostos Voláteis por Cromatografia Gasosa

A mistura complexa dos compostos voláteis foi analisada por cromatografia gasosa em Cromatógrafo Varian modelo 3300, equipado com uma coluna SE-54 de 50 m de comprimento e 0,2 mm de diâmetro interno.

Para a separação dos compostos voláteis de mel de eucalipto empregou-se a seguinte programação de temperatura: temperatura inicial da coluna foi de 50°C, mantida por 8 minutos. Com gradiente de temperatura de 1°C/min., elevou-se a temperatura a 75°C e depois a 110°C em gradiente de 2°C/min. A temperatura final foi de 200°C, obtida com um gradiente de 5°C/min. A quantidade de amostra injetada foi de 2 µl.

Para a separação dos compostos voláteis de mel de laranja empregou-se a seguinte programação de temperatura: temperatura inicial da coluna foi de 50°C, mantida por 8 minutos. Com gradiente de temperatura de 2°C/min., elevou-se a temperatura a 75°C e depois a 150°C com um gradiente de 5°C/min. A temperatura final foi de 200°C, tendo sido atingido com um gradiente de 6°C/min. A quantidade de amostra injetada foi de 1 µl.

O injetor empregado foi do tipo splitless e a velocidade linear do gás de arraste (hidrogênio) foi de 45 cm/s. A temperatura do injetor foi de 230°C e a do detetor de ionização de chama foi de 250°C.

3.3.4 Identificação dos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja

3.3.4.1- Espectrometria de Massas

Os isolados contendo os compostos voláteis de mel foram analisados em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC17A acoplado a um espectrômetro de massas QP

5000. Empregou se uma coluna DB-1 de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno.

Parâmetros empregados:

- Gás de arraste: Hélio (pressão na coluna mantida a 69,20 Kpa)
- Temperatura do injetor: 230°C
- Voltagem de ionização: 70eV

3.3.4.2 - Índice de Kovats

Adicionou-se ao isolado contendo os compostos voláteis de mel uma mistura de padrões de alcanos (em acetona) constituída de C₈, C₉, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈ e um microlitro foi injetado no cromatógrafo nas seguintes condições: temperatura inicial da coluna = 80°C , temperatura final = 200°C atingida em um gradiente de 2°C/min. Os outros parâmetros foram mantidos conforme as análises anteriores.

O Índice de Kovats foi determinado segundo a fórmula:

$$I_b^a = 100N + 100n \frac{\log t'_r(A) - \log t''_r(N)}{\log t''_r(N+n) - \log t''_r(N)} \quad \text{onde:}$$

I = índice de retenção na fase líquida a e na temperatura b, e t'_r(N) e t'_r(N+n) são os tempos de retenção corrigidos dos hidrocarbonetos de números de átomos de carbono (N) e (N+n), que são respectivamente, menor e maior do que o tempo de retenção corrigido do composto desconhecido t'_r(A).

3.3.5 - Análise Estatística

Foi efetuada análise de variância (ANOVA) para verificar se havia variabilidade estatística ao nível de 5% entre a porcentagem relativa dos picos representativos de compostos voláteis dos lotes de mel colhidos no mesmo ano.

3.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 - Porcentagens Relativas dos Picos Representativos dos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto Extraído Diretamente do Favo

Embora não tenha sido possível verificar as diferenças estatísticas na composição de compostos voláteis entre os 3 lotes, pois foram provenientes de diferentes anos (devido à seca que inviabilizou a colheita em São Paulo e Minas Gerais), foi obtido um cromatograma típico dos compostos voláteis de mel de eucalipto.

Foram detectados 21 picos representativos dos componentes voláteis no mel de eucalipto por cromatografia gasosa de alta resolução. A figura 3.1 mostra o cromatograma típico de três lotes do mel de eucalipto recém extraído do favo e a tabela 3.1 mostra as porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis.

Os picos majoritários no mel de eucalipto foram os numerados como 16, 2, 5 e 26, com 25%, 24%, 12% e 11% de porcentagem relativa, respectivamente (média entre os lotes).

No lote 2 (colhido em 1996), os picos 6, 7, 9, 10, 13, 20, 23 e 24 foram detectados apenas como traços, no lote 3 (colhido em 1996) foram detectados como 0%, traços, 0,5%, traços, 0%, 0%, traços e 2%, enquanto no lote 1 (colhido em 1995), apresentavam uma porcentagem relativa de pelo menos 0,4% (pico 20) e no máximo de 5,9% (pico 6).

É interessante observar que a proporção entre os picos 15 e 16 permaneceu praticamente a mesma (1:3) nos três lotes estudados.

Figura 3.1 - Cromatograma característico de mel de eucalipto recém extraído do favo

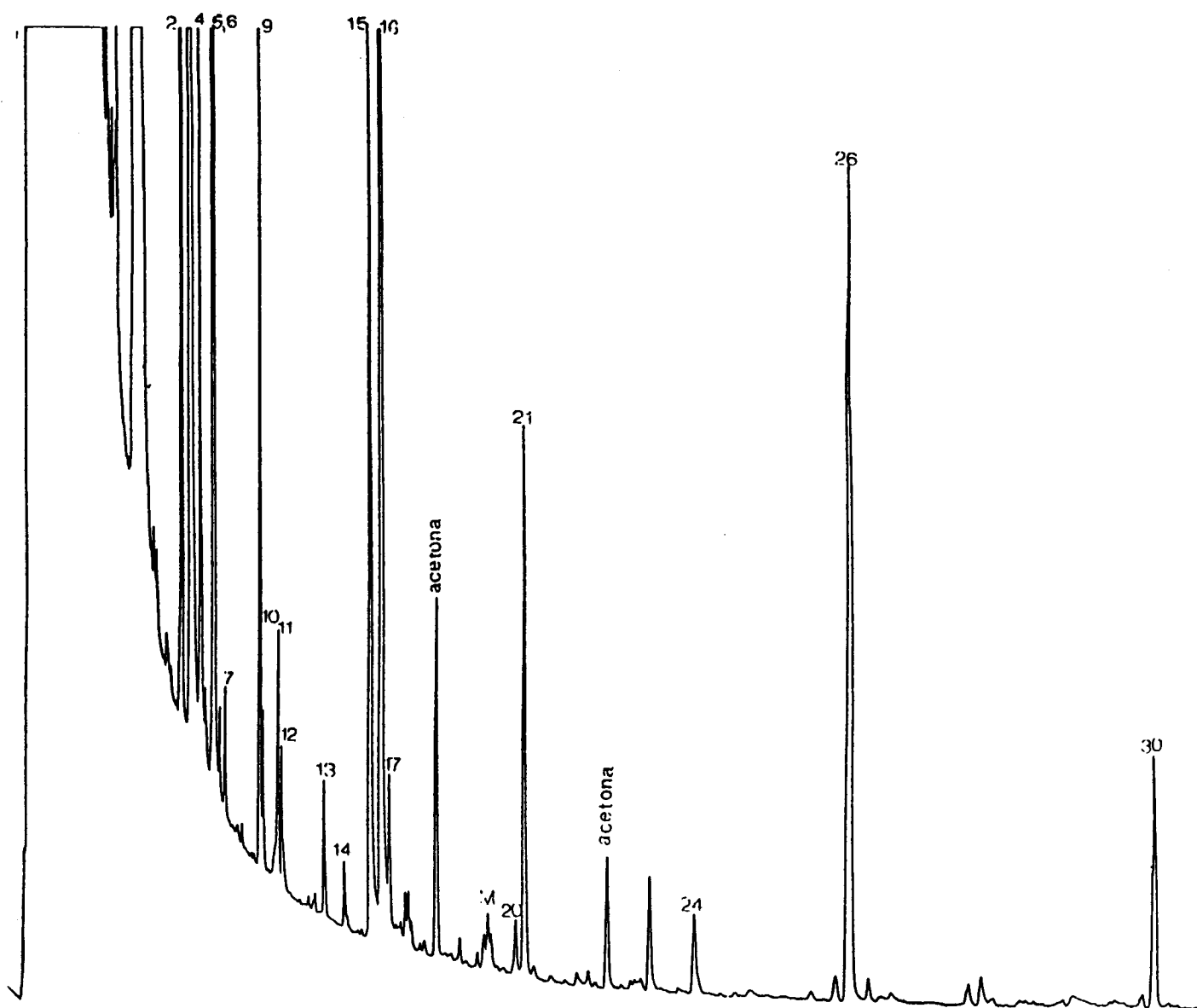


Tabela 3.1 - Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de eucalipto

pico n°	Tr (min.)	lote 1(1995)		lote 2 (1996)		lote 3 (1996)		entre lotes*	
		média	sd	média	sd	média	sd	média	sd
2	7,77	21,3	0,9	24,7	0,5	23,2	1,1	23,6	1,6
4	8,45	5,0	0,2	7,1	1,1	5,6	0,3	5,9	1,1
5	8,95	8,9	0,4	14,9	0,9	12,5	0,5	12,1	2,8
6	9,03	5,9	0,1	tr	----	0,0	0,0	nc	
7	9,48	0,5	0,0	tr	----	tr	----	nc	
9	10,79	5,5	0,0	tr	----	0,5	0,1	nc	
10	10,93	0,7	0,0	tr	----	tr	----	nc	
11	11,49	1,1	0,3	1,2	0,0	0,9	0,6	1,1	0,3
12	11,62	0,6	0,0	0,7	0,0	1,1	0,0	0,8	0,2
13	13,24	0,6	0,0	tr	----	0,0	0,0	nc	
14	13,98	0,3	0,0	0,2	0,3	0,4	0,0	0,3	0,2
15	14,91	7,7	0,8	7,5	0,2	7,4	0,0	7,5	0,4
16	15,34	22,5	1,9	25,4	1,6	28,0	2,0	25,3	2,9
17	15,66	1,4	0,6	2,1	0,1	0,0	0,0	nc	
m	19,53	tr	----	tr	----	tr	---	nc	
20	20,48	0,4	0,1	tr	---	0,0	0,0	nc	
21	20,77	4,1	0,4	2,1	0,1	4,7	0,0	3,6	1,3
23	25,48	0,8	0,3	tr	----	tr	----	nc	
24	27,15	0,7	0,3	tr	----	1,8	1,2	nc	
26	32,9	9,6	0,9	14,2	0,3	9,6	2,0	11,2	2,6
30	44,06	2,5	0,1	2,1	0,0	3,5	0,1	2,7	0,6

média de duplicata para cada lote

sd : desvio-padrão

Tr : tempo de retenção

tr : pico com porcentagem relativa < 0,05%

m; mistura não resolvida

nc : não calculado

* média calculada para os picos comuns nos dois lotes

3.4.2 - Porcentagens Relativas dos Picos Representativos dos Compostos Voláteis de Mel de Laranja Extraído Diretamente do Favo

Empregando cromatografia gasosa de alta resolução foram detectados 21 picos representativos dos componentes voláteis no mel de laranja. A figura 3.2 mostra o cromatograma típico de dois lotes do mel de laranja recém extraído do favo, enquanto a figura 3.3 apresenta o cromatograma obtido da injeção de 1 µl e 2µl do solvente (acetona) após a eluição do Porapak Q condicionado, ou seja, o branco. A tabela 3.2 mostra as porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis presentes nos dois lotes de mel de laranja .

Os picos majoritários foram os numerados como 18, 27, 26, 24, no cromatograma, com 18%, 14%, 11% e 9% de abundância relativa, respectivamente. Este resultado refere-se à média entre os lotes.

Para os picos presentes em quantidades superiores a 0,0% nos dois lotes, ocorreu variabilidade estatística a 5% de significância apenas para o pico 4, conforme verificado por análise de variância.

Figura 3.2 - Cromatograma característico de mel de laranja recém extraído do favo

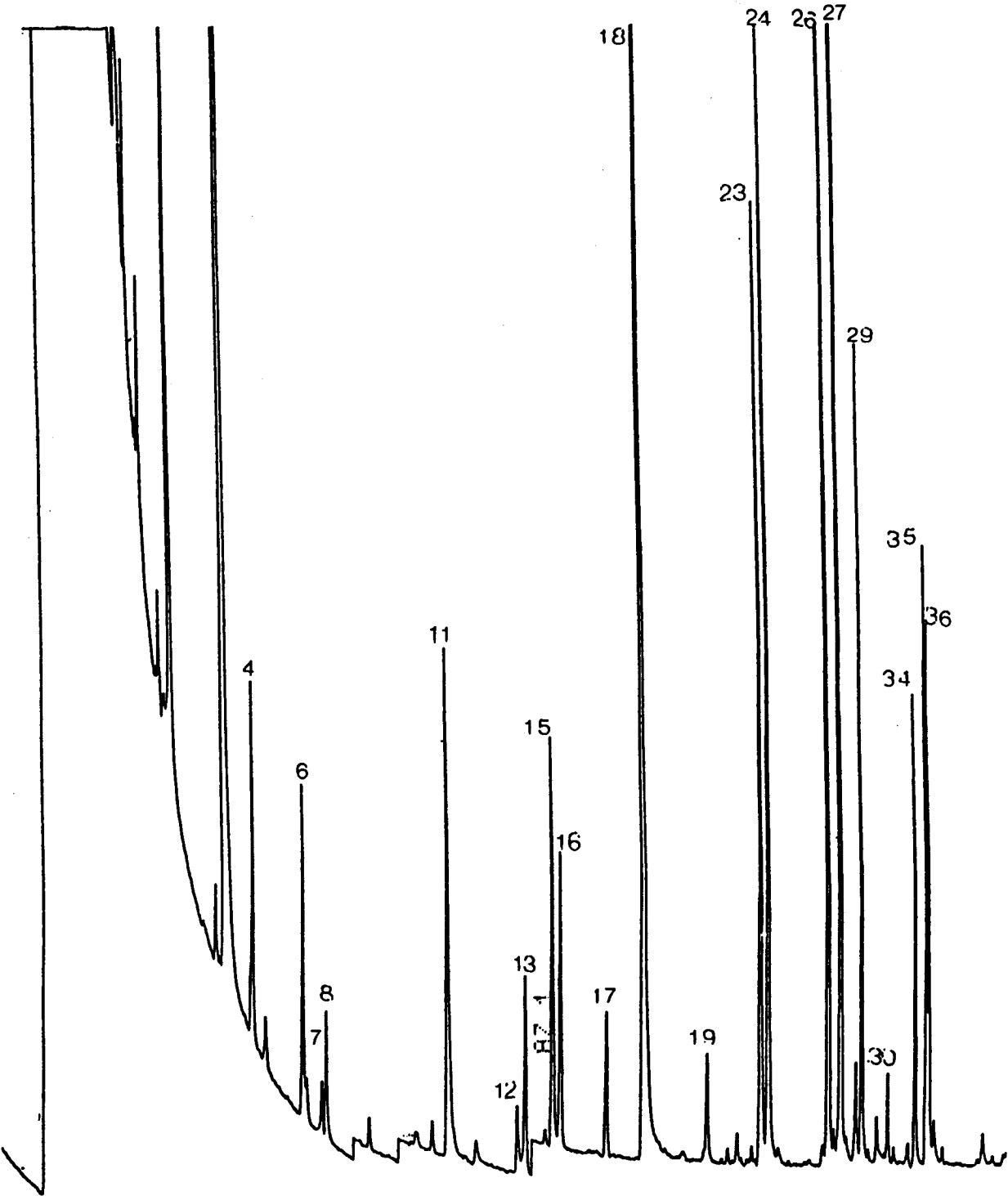


Figura 3.3 - Cromatograma do solvente (acetona) após a eluição do Porapak Q
condicionado a) 2 ml b) 1ml

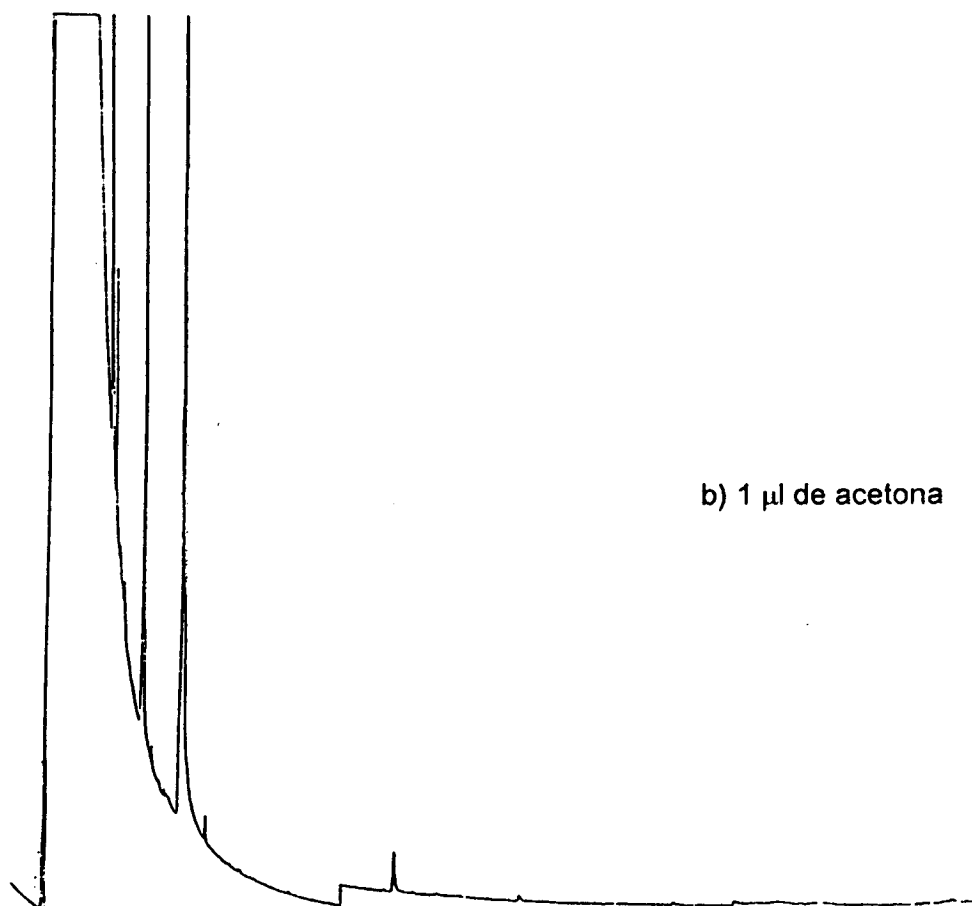
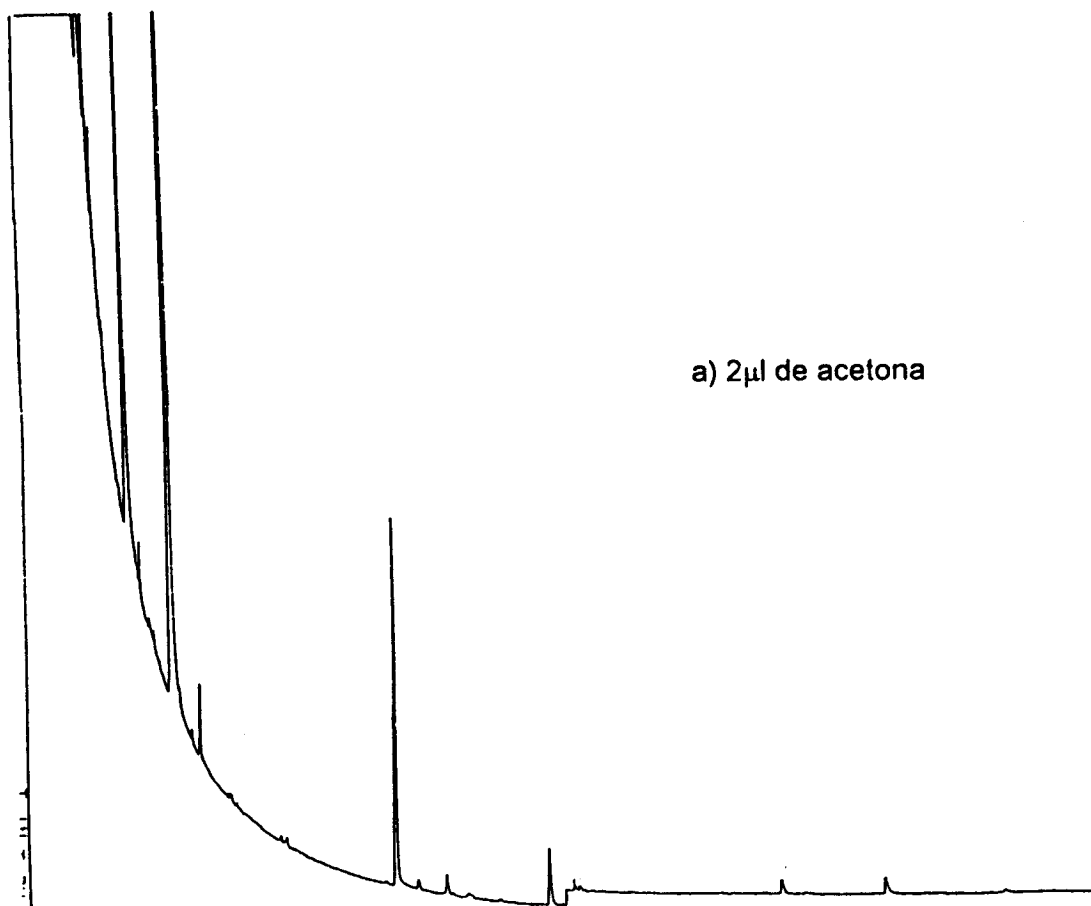


Tabela 3.2 - Porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de laranja

pico n°	Tr (min)	lote 1 média	sd	lote 2 média	sd	entre média	lotes* sd
4	8,28	6,2	0,1	1,2	0,4	3,7	3,5
6	9,91	5,6	0,0	4,6	1,5	5,1	0,7
7	10,66	tr	----	tr	----	nc	----
8	10,72	1,85	0,2	tr	----	nc	----
11	14,51	5,05	0,5	3,8	0,1	4,5	0,8
12	16,72	tr	----	0,8	0,1	nc	-----
13	16,98	3,4	0,1	3	0,4	3,2	0,3
15	17,85	5,8	1,4	3,3	0,2	4,6	1,7
16	18,11	3,8	0,2	3,9	0,2	3,9	0,1
17	18,78	2,6	1,5	tr	-----	nc	----
18	20,75	19,6	5,4	17,5	4,5	18,5	1,4
19	22,82	tr	----	tr	-----	nc	-----
23	14,49	4,8	2,5	4,8	0,8	4,8	0,0
24	24,73	9,8	1,6	8,4	0,1	9,1	1,0
26	26,6	9,4	0,8	12,9	2,1	11,2	2,5
27	26,98	11,2	0,9	15,8	3,0	13,5	3,3
29	27,66	3,3	0,1	4,4	0,8	3,9	0,8
31	28,42	tr	-----	tr	----	nc	----
34	29,36	2,9	1,6	2,3	1,0	2,6	0,5
35	29,71	2,5	0,1	3,5	0,4	3,0	0,7
36	29,79	2,3	0,1	3,0	0,4	2,7	0,5

média de duplicata para cada lote

sd : desvio-padrão

Tr : tempo de retenção

tr : picos com porcentagem relativa < 0,05%

nc : não calculado

* média calculada para os picos comuns nos dois lotes

3.4.3- Identificação de Alguns Compostos Voláteis Presentes em Mel de Eucalipto e Laranja

A identificação de alguns compostos voláteis foi feita empregando-se espectrometria de massas, Índice de Kovats e comparação com padrão puro, quando disponível.

3.4.3.1 - Mel de Eucalipto

A tabela 3.3 mostra os íons majoritários, obtidos da fragmentação por espectrometria de massas dos compostos voláteis presentes em mel de eucalipto. A tabela 3.4 apresenta os Índices de Kovats obtidos em coluna SE-54, e a tabela 3.5 apresenta as fórmulas estruturais dos compostos identificados.

Tabela 3.3 - Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas de compostos voláteis presentes em mel de eucalipto

Nº PICO / COMPOSTO*	M/Z (ABUNDÂNCIA RELATIVA)
4 / NI	43, 60(63), 41(53), 58(29), 42(26), 56(16), 40(14), 55(11)
6 / 5 (mistura?)	43, 45(33), 41(32), 83(30), 42(26), 56(22), 59(21), 44(7)
9 / 2-heptanona	43, 58(42), 40(19), 41(13), 51(5), 44(5), 42(5), 71(5)
10 / NI	45, 55(48), 42(43), 43(36), 41(31), 70(30), 40(25), 91(8)
11 / 2 heptanol	45,43(27), 41(26),55(18),44(17),42(9),56(6),57(4)
15 / NI	45, 57(69), 41(61), 43(60), 85(23), 44(10), 74(5), 69(4)
16 / NI	45, 43(95),41(93),41(93),69(55),57(29),44(19),87(15)
20 / NI	85, 41(91), 43(65), 57(31), 56(26), 67(25), 55(23), 42(16)
21 / NI	85, 41(87), 43(76), 57(29), 40(26), 67(26), 40(26), 56(24)
24 / 2-octanol	45, 43(38), 41(27), 44(26), 55(16), 69(7), 58(7), 57(6)
26 / nonanal	41, 40(90), 43(73),56(51),42(48),70(29),57(24),44(15)
30 / nonanol	41, 43(90), 44(80), 57(40), 42(36), 55(28), 56(25), 40(19)

*numeração correspondente à figura 3.1 (pág.60)
NI = não identificado

Tabela 3.4 - Índice de Kovats de alguns compostos voláteis de mel de eucalipto

Nº PICO / COMPOSTO	SE	
	experimental *	literatura **
9 / 2-heptanona	892	872
11 / 2-heptanol	900	888
24 / 2-octanol	1018	988
26 / nonanal	1128	1087
30 / nonanol	1211	1161

* temperatura inicial de 50°C e programação a 2°C/min. até 200°C
** condições de Jennings e Shibamoto , 1980 - temperatura inicial de 80°C e programação a 2°C/min até 200°C
***sequência de eluição em coluna SE-54, correspondente à figura 3.1 (pág.60).

A identificação do nonanal foi confirmada por enriquecimento com o padrão puro. A figura 3.4 mostra a comparação entre os espectros de massas obtidos experimentalmente para o nonanal, e o obtido na literatura (Mc LAFFERTY & STAUFFER, 1989). A tabela 3.4 mostra que o Índice de Kovats obtido experimentalmente para este composto, está próximo daquele descrito pela literatura (JENNINGS E SHIBAMOTO, 1980) em condições similares.

Tabela 3.5 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados em mel de eucalipto

Nome Comum	Nome Sistemático IUPAC	Estrutura	PM
2 heptanona	heptan 2 nona	$\text{CH}_3\text{CO}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	114
2 heptanol	heptil alcool	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	116
2-octanol	n-octan-2-ol	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	130
nonanal	nonaldeido	$\text{OCH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$	142
nonanol	nonil-alcool	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_8\text{OH}$	144

Os compostos 2- heptanona, 2-heptanol e o nonanol foram considerados tentativamente identificados. O Índice de Kovats obtido experimentalmente, 892, 900, 988 e 1211 para 2-heptanona, 2-heptanal, 2- octanol e o nonanal respectivamente, confirmaram a sequência de eluição na coluna empregada, e estão próximos daqueles relatados na literatura, em condições semelhantes (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980).

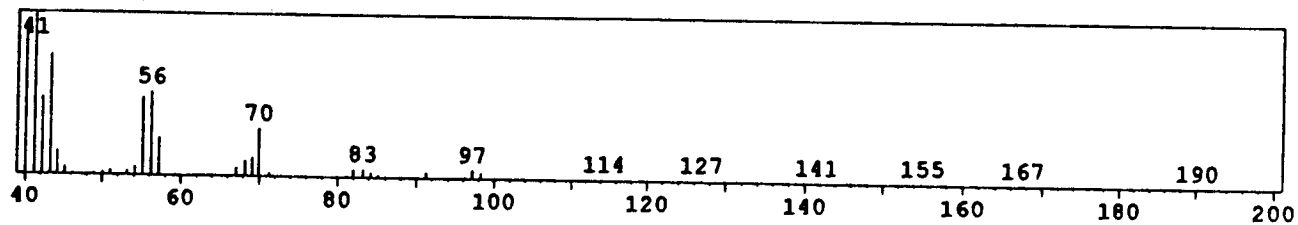
As figuras 3.5, 3.6, 3.7 e 3.8 apresentam a comparação entre os espectros de massas para a 2-heptanona, 2-heptanal, 2 - octanol e o nonanol, respectivamente, obtidos neste trabalho e aqueles relatados na literatura.

A presença de 2-heptanona em mel já foi relatada anteriormente por BOUSETA et alii (1992) em mel de nabo silvestre, e a presença de nonanal foi relatada em cera de abelhas por FERBER & NURSTEN (1977). A presença de 2-heptanol foi relatada por MAGA (1983). Os outros compostos, tentativamente identificados, nonanol, 2-octanol ainda não haviam sido relatados.

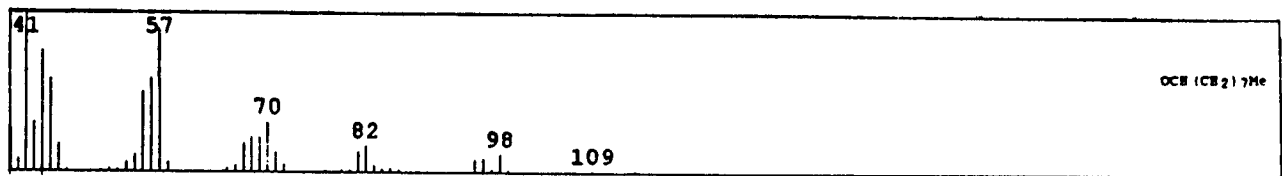
3.4.3.2 - Mel de Laranja

A composição dos íons majoritários, obtidos da fragmentação por espectrometria de massas, dos compostos voláteis presentes em mel de laranja está apresentada na tabela 3.6. A tabela 3.7 mostra os Índices de Kovats obtidos em coluna SE-54, e a tabela 3.8 as fórmulas estruturais dos compostos identificados.

Figura 3.4 - Espectro de massas do nonanal

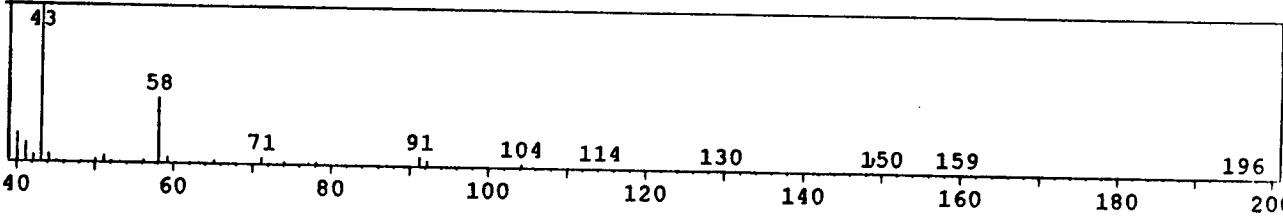


Espectro Obtido Neste Estudo

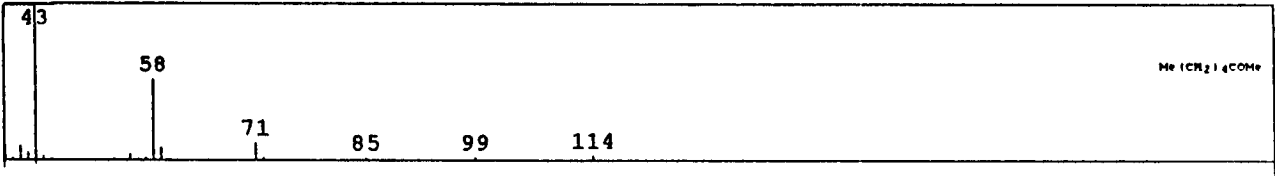


Espectro da Literatura

Figura 3.5 - Espectro de massas do 2- heptanona

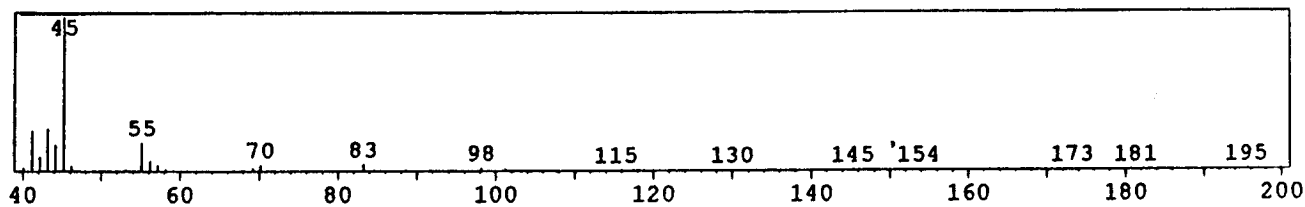


Espectro Obtido Neste Estudo

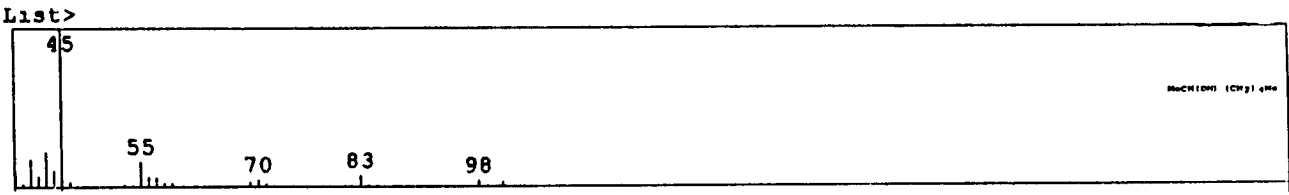


Espectro da Literatura

Figura 3.6 - Espectro de massas do 2-heptanol

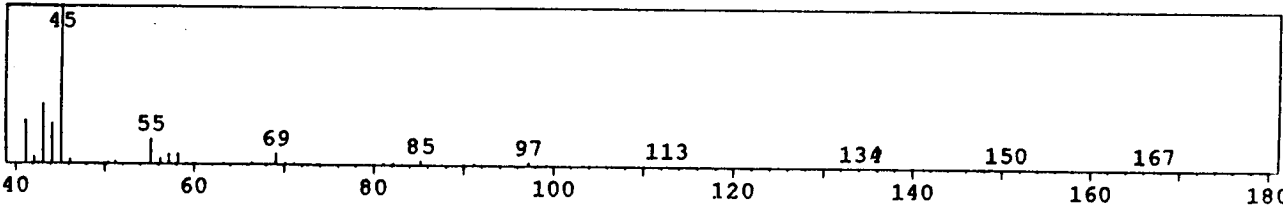


Espectro Obtido Neste Estudo

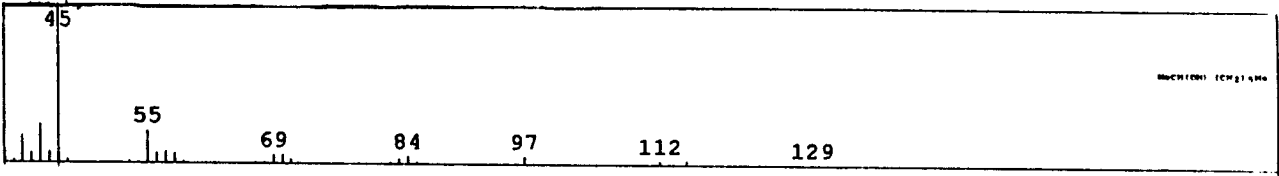


Espectro da Literatura

Figura 3.7 - Espectro de massas do 2-octanol

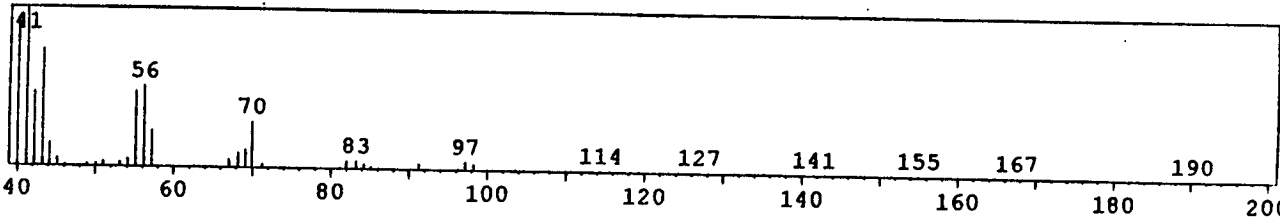


Espectro Obtido Neste Estudo

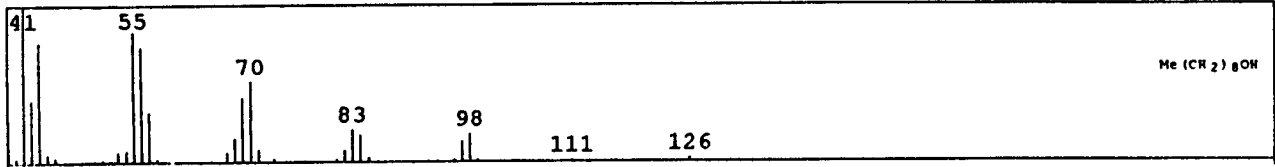


Espectro da Literatura

Figura 3.8 - Espectro de massas do nonanol



Espectro Obtido Neste Estudo



Espectro da Literatura

Tabela 3.6 - Íons majoritários provenientes da fragmentação por espectrometria de massas de compostos voláteis presentes em mel de laranja

PICO N° / COMPOSTO	M/Z (ABUNDÂNCIA RELATIVA)
6 / n-heptanal	43, 44(81), 41(81), 42(54), 40(49), 70(27), 55(26), 57(25)
7 / NI	45, 43(48), 41(15), 40(14), 55(11), 44(10), 55(10), 44(10)
11 / benzaldeído	51,77(97), 106(68), 105(66), 50(64), 52(24), 28(16),43(15)
12 / 6-metil-5-hepten-2-ona	43, 40(58), 41(56), 55(21), 69(13), 44(13), 58(8), 108(6)
13 / NI	43, 67(72),41(70), 55(54), 68(40), 42(14), 40(13), 96(10)
15 / octanal	43,41(94),44(70),42(37),55(35),56(31),57(28),67(17)
16 / NI	43, 41(82), 55(90),67(81), 53(18), 40(17), 82(12), 69(9)
18 / fenilacetaldéido	91, 65(36),51(17),40(16),63(14),50(13), 63(13)
19 / óxido cis de linalol	43, 59(60), 41(50),55(31),67(18),68(16), 44(15), 94(11)
23 /NI	41, 43(63),71(46),55(31),67(19),82(19),13(14),42(11)
24 / NI	43, 41(63),71(46),55(31), 67(19),82(19),13(14),42(11)
26 / NI	43, 55(77),41(64),67(20),53(14),71(14),69(12),42(12)
27 / 2-isonenal	43, 55(76),41(66),67(19),66(19),71(18),53(13),40(12)
29 / NI	43, 55(91), 41(79),67(23),71(19),53(17),40(17),68(15)
34 / NI	41, 69(51),137(47),55(39),43(32),109(23), 67(21), 40(20)
35 / NI	41, 94(69), 79(54), 43(48),55(42),67(34),44(28), 53(24)
36 / 1-p-menten-9-al	94, 79(95), 41(84), 67(35), 55(34), 53(29),68(16), 77(15)

* a numeração corresponde à figura 3.2 (pág.60)

NI = não identificado

Tabela 3.7- Índice de Kovats de alguns compostos voláteis de mel de laranja*

Nº PICO / COMPOSTO **	SE-54	
	experimental	literatura
6 / n-heptanal	nc	883
11 / benzaldeído	969	947
12 / 6-metil -5-hepten-2-ona	980	968
15 / octanal	1005	985
18 / fenilacetaldeído	1056	1024
19 / óxido cis de linalol	1084	1064
27 /2- isononenal	1158	1146
36 /1-p-menten-9-al	1225	ne

* condições de Jennings e Shibamoto, 1980 - temperatura inicial de 80°C e programação a 2°C/min até 200°C

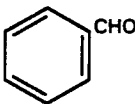
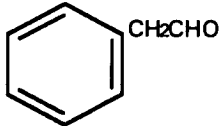
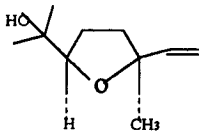
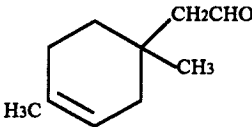
** sequência de eluição em coluna SE-54, correspondente à figura 3.2 (pág.60)

nc = não calculado

ne = não encontrado

A identidade do óxido cis de linalol e a do benzaldeído foram confirmadas por comparação com padrões. As figuras 3.9 e 3.10 apresentam a comparação entre os espectros de massas destes compostos obtidos experimentalmente e os da literatura, (Mc LAFFERTY & STAUFFER, 1989). Verificou-se que os Índices de Kovats (tabela 3.6) estão próximos daqueles relatados na literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980) em condições equivalentes.

Tabela 3.8 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados em mel de laranja

Nome Comum	Nome Sistemático IUPAC	Estrutura	PM
heptanal	n-heptanal	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_5\text{COH}$	114
benzaldeído	fenilmetanal		106
6-metil-5 hepten-2-ona	-----	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}:\text{C}(\text{CH}_3)_2$	126
octanal	n-octanal	$\text{OCH} (\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$	128
fenilacetaldeído	feniletanal		120
óxido cis de linalol	2,6- dimetil -3,6 epoxi-7-octen-2-ol		170
2-isononenal	-----	$(\text{C}_6\text{H}_{13})\text{OH}:\text{CHCHO}$	140
1-p-menten-9-al	3-ciclohexen-1-acetaldeido-alfa-4 dimetil		152

Os compostos n-heptanal, 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, fenilacetaldeído, 2-isononenal e 1-p-menten-9-al foram identificados tentativamente, baseados em seus espectros de massas e nos Índices de Kovats . As figuras 3.11 a 3.16 apresentam os espectros de massas obtidos experimentalmente para estes compostos e os relatados na literatura, e a tabela 3.6 a comparação entre os Índices de Kovats obtidos experimentalmente e aqueles relatados na literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO,1980) em condições similares, para os compostos identificados.

O n-heptanal foi identificado em mel de eucalipto e laranja por BOUSETA et alii (1892) e em mel de tupelo por OVERTON & MANURA (1994). O benzaldeído foi relatado em vários tipos de mel (VISSER et alii,1988 , BICCHI et alii,1983 , BOUSETA

et alii, 1992, OVERTON & MANURA, 1994, MAGA, 1983) enquanto o fenilacetaldeído foi identificado por VISSER et alii (1988) em mel de manuka (*Leptospermum scoparium*); por OVERTON & MANURA (1994) em mel de laranja, e por BICCHI et alii (1983) em méis poliflorais do Piemonte. O óxido cis de linalol foi relatado em vários méis por VISSER et alii (1988); BICCHI et alii (1983); OVERTON & MANURA (1994), MAGA (1983) enquanto o 1-p-menten-9-al foi descrito em mel de *Leptospermum scoparium* (manuka) por VISSER et alii (1986). O antranilato de metila, composto relatado como presente em méis cítricos e importante para confirmar a qualidade deste tipo de mel (WHITE, 1978), não foi identificado neste trabalho, assim como não foi relatado nos trabalhos de OVERTON & MANURA (1994) e de BOUSETA et alii (1992), que empregaram isolamento dos compostos voláteis de mel de laranja por "Headspace" Dinâmico, apesar desta técnica permitir o isolamento do antranilato de metila. Os demais compostos, 6-metil-5-hepten-2-ona, e 2-isononenal ainda não haviam sido identificados em mel.

3.4.4 - Comparação da Composição de Compostos Voláteis de Acordo Com a Origem Floral

Apesar de nem todos os compostos voláteis terem sido identificados, pode-se afirmar que os dois tipos de méis em estudo apresentaram composição de voláteis completamente diferenciada (figuras 3.1 e 3.2), pois os espectros de massas com os Índices de Kovats dos compostos presentes nos isolados obtidos, foram diferentes para cada tipo de mel.

A manutenção de um mesmo perfil de compostos voláteis para méis de uma mesma origem floral já havia sido relatada por BICCHI et alii (1983), que observaram o mesmo perfil cromatográfico de compostos voláteis de méis da região do Piemonte em diferentes anos de colheita.

O mel de eucalipto apresentou como compostos majoritários o nonanal e picos representativos de compostos ainda não identificados, 2, 16, 5 e 15; enquanto o mel

de laranja apresentou como compostos majoritários o fenilacetaldeído, o 2-isononenal e os picos representativos de compostos voláteis 24 e 26 não identificados.

Através dos resultados obtidos, pode-se sugerir que o perfil qualitativo e quantitativo de compostos voláteis poderia corroborar para a identificação da origem botânica de méis. Porém será necessário analisar um número maior de amostras de cada tipo floral, para caracterizar a variação de concentração dos compostos voláteis em função da região geográfica e de diferentes safras. Em seguida será necessário aplicar uma técnica de análise estatística multivariada que seja capaz de classificar os méis de acordo com a origem floral em função da composição dos compostos voláteis.

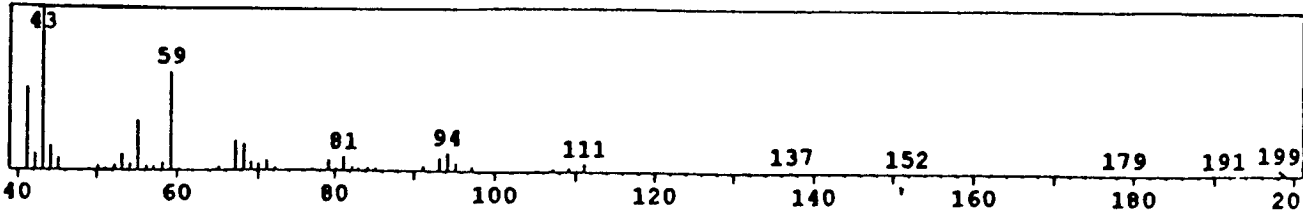
3.4.5 - Análise Polínica

O resultado da análise polínica encontra-se na tabela 3.9. A interpretação da análise polínica feita pelo Laboratório de Abelhas do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo indicou que os méis analisados foram de eucalipto e laranja, conforme o laudo fornecido.

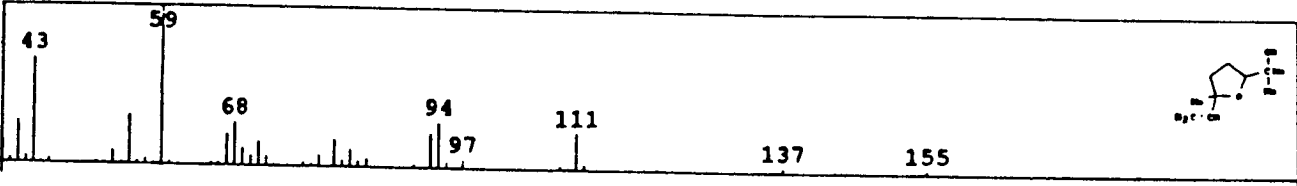
Tabela 3.9 - Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados nos méis de eucalipto e laranja

	ESPÉCIE VEGETAL	%	FAMÍLIA	NOME COMUM
Eucalipto colhido em 1995 (lote1)	<i>Eucal'yp tus sp</i>	97,9	Myrtaceae	eucalipto
	<i>Paspalum notarum</i>	1,0	Gramineae	grama-comum
	outros	0,2		
Eucalipto colhido em 1996(lote 2)	<i>Eucal'yp tus sp</i>	91,6	Myrtaceae	eucalipto
	<i>Citrus sp.</i>	7,8	Rutaceae	laranja
	outros	0,6		
Eucalipto colhido em 1996(lote 3)	<i>Eucali'yp tus sp.</i>	84,9	Myrtaceae	eucalipto
	<i>Baccharis sp</i>	10,5	Compositae	vassoura
	<i>Citrus sp.</i>	3,8	Rutaceae	laranja
	outros	0,8		
Laranja colhido em 1995 (lote 1)	<i>Citrus sinensis</i>	47,0	Rutaceae	laranja
	<i>Eucalyptus sp.</i>	45,2	Myrtaceae	eucalipto
	outros	4,9		
		2,9		
Laranja colhido em 1995 (lote 2)	<i>Citrus sinensis</i>	79,4	Rutaceae	laranja
	<i>Eucalyptus sp</i>	1,9	Myrtaceae	eucalipto
	outros	18,7		

Figura 3.9 - Espectro de massas do óxido cis de linalol

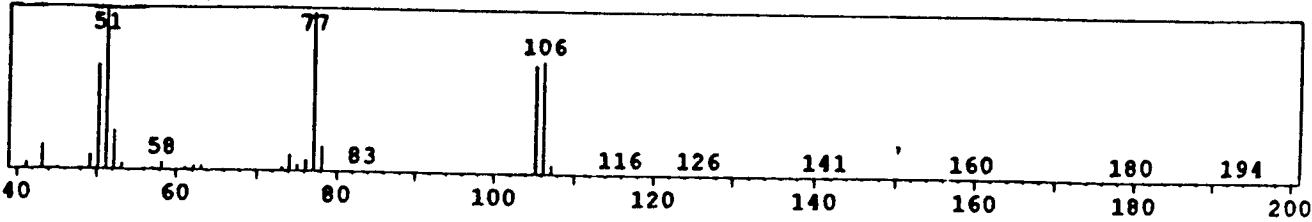


Espectro Obtido Neste Estudo

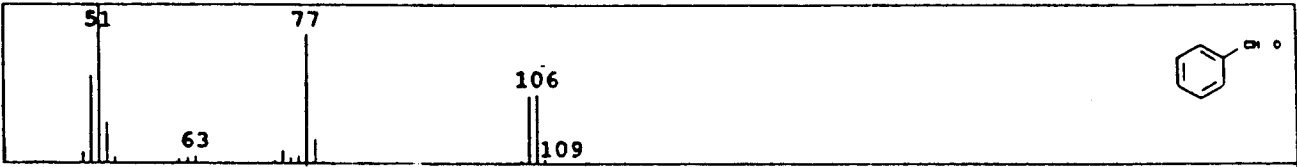


Espectro da Literatura

Figura 3.10 - Espectro de massas do benzaldeído

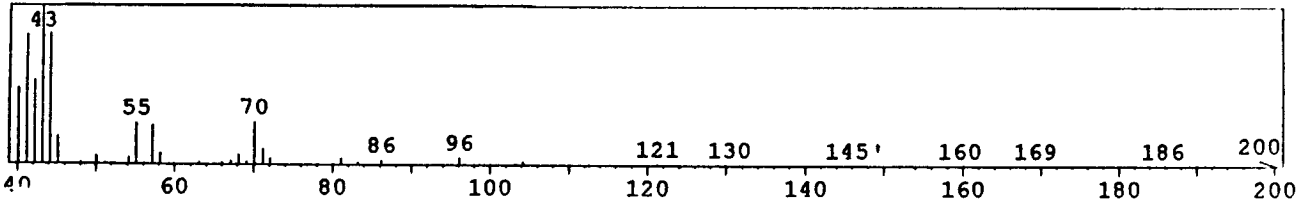


Espectro Obtido Neste Estudo

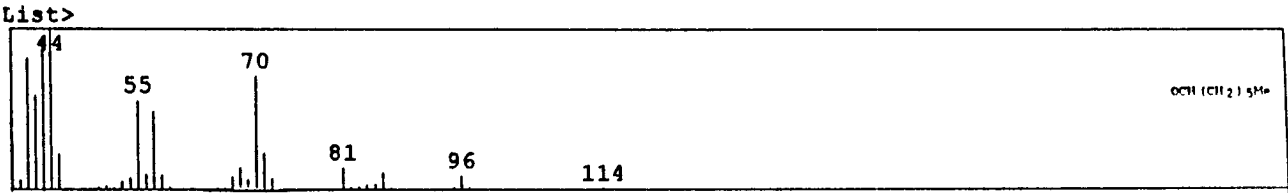


Espectro da Literatura

Figura 3.11 - Espectro de massas do n-heptanal

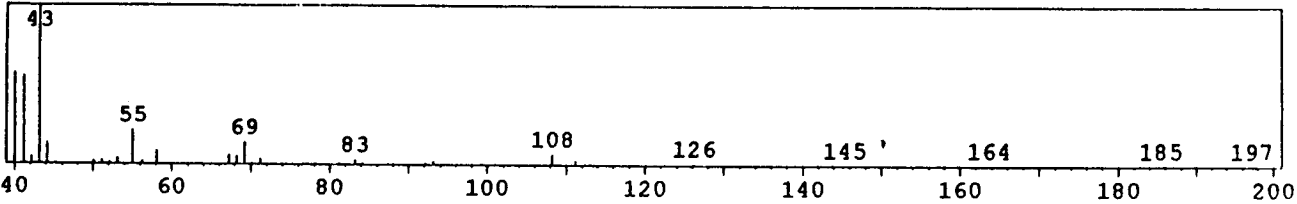


Espectro Obtido Neste Estudo

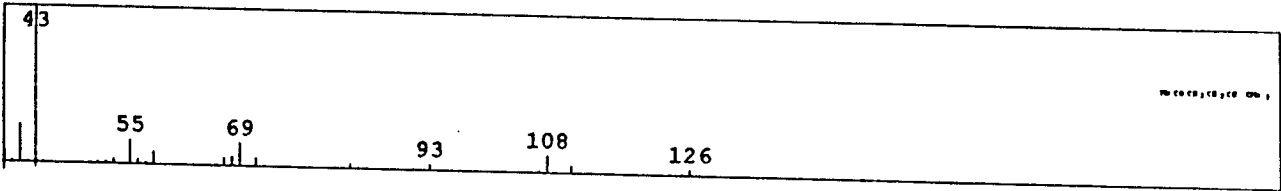


Espectro da Literatura

Figura 3.12 - Espectro de massas do 6-metil-5-hepten-2-ona

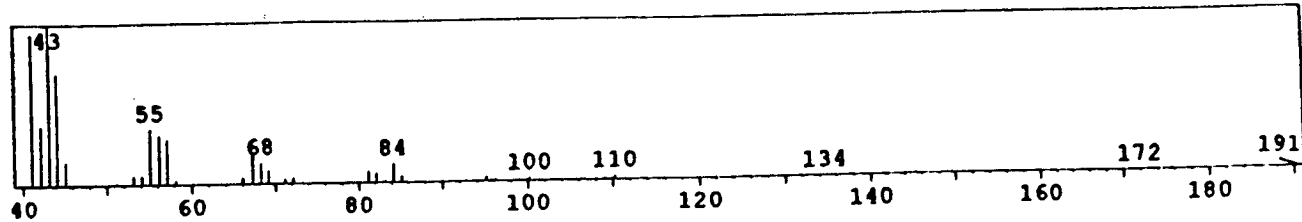


Espectro Obtido Neste Estudo

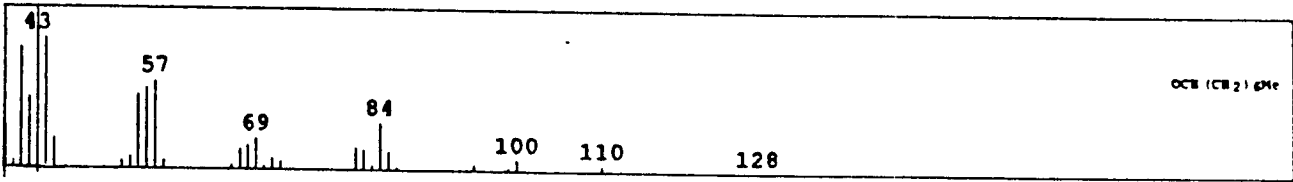


Espectro da Literatura

Figura 3.13 - Espectro de massas do octanal

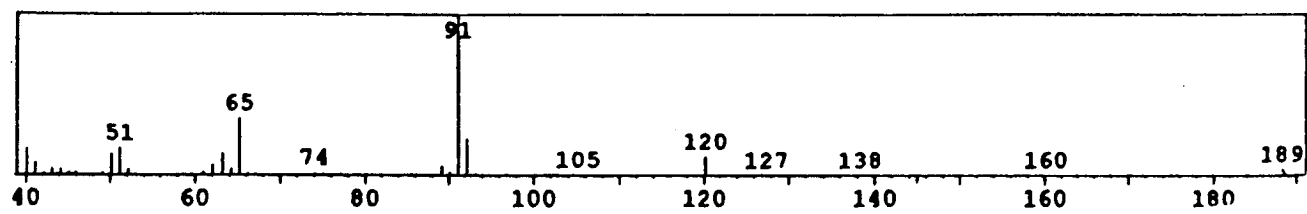


Espectro Obtido Neste Estudo

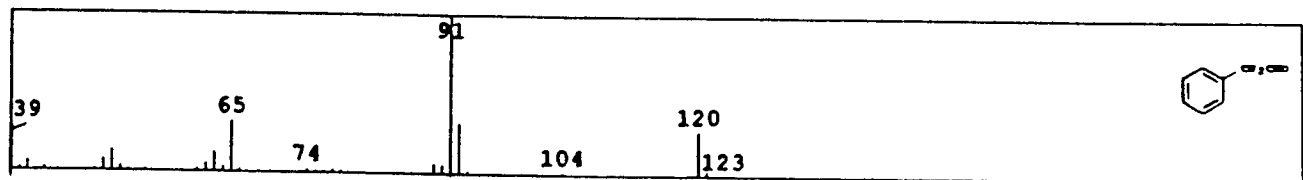


Espectro da Literatura

Figura 3.14 - Espectro de massas do fenilacetaldéido

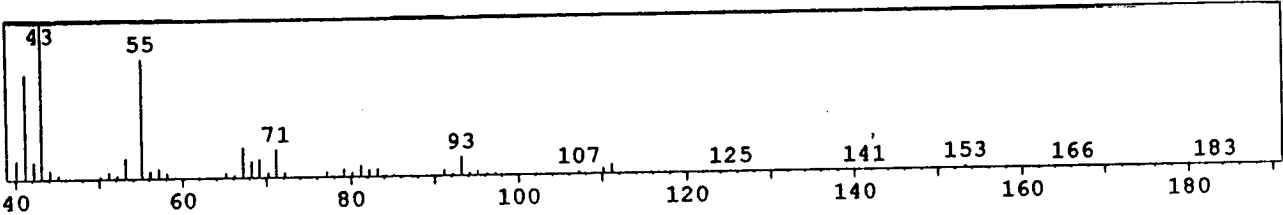


Espectro Obtido Neste Estudo

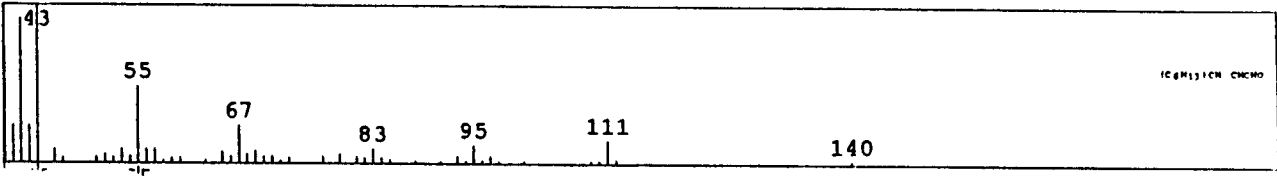


Espectro da Literatura

Figura 3.15 - Espectro de massas do 2-isononenal

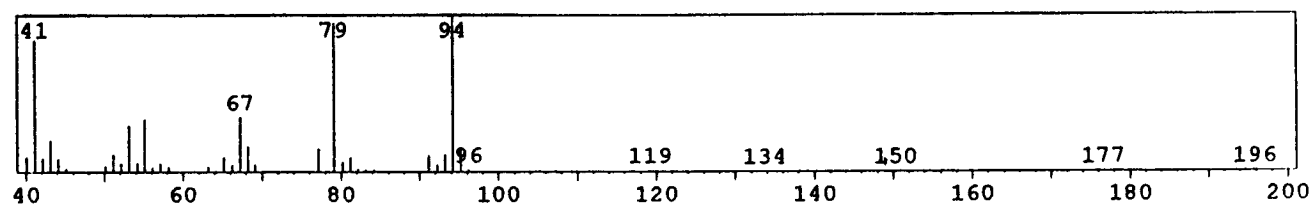


Espectro Obtido Neste Estudo

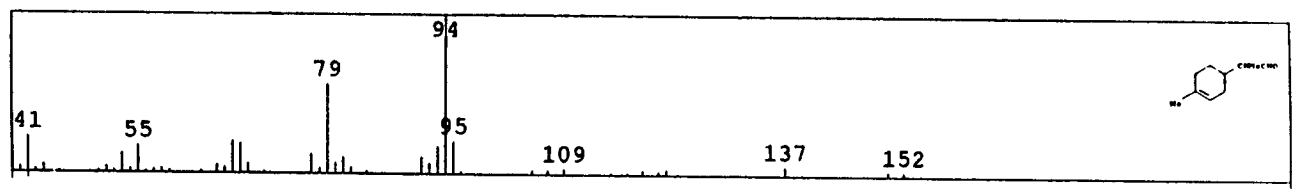


Espectro da Literatura

Figura 3.16 - Espectro de massas do 1-p-menten -9-al



Espectro Obtido Neste Estudo



Espectro da Literatura

Segundo BARTH (1989) as frutas cítricas pertencem ao grupo de plantas subrepresentadas nos espectros polínicos, isto é, plantas fornecedoras de muito pólen no néctar. Assim, em mel puro dessas espécies tem-se pouquíssimo pólen; poucos grãos já indicam grande quantidade do néctar.

O eucalipto (*Eucalyptus sp.*) é um exemplo de planta super representada nos espectros polínicos, sendo planta fornecedora de muito pólen no néctar.

3.5 - CONCLUSÕES

1- Os compostos voláteis presentes em méis de eucalipto e laranja diferiram entre si, indicando que existe um perfil característico em função da origem botânica e que a técnica empregada de isolamento dos compostos voláteis do “Headspace” de mel permite tal distinção.

2 - Os lotes de mel de eucalipto analisados, embora pertencentes a anos diferentes, apresentaram perfil de compostos voláteis característico.

3 - O nonanal foi positivamente identificado no mel de eucalipto, e foi um dos compostos majoritários do mel extraído do favo. Os compostos 2-heptanona, 2-heptanol e octanol foram tentativamente identificados.

4 - Os lotes de mel de laranja apresentaram perfís de componentes voláteis característicos, porém diferiram entre si qualitativamente por 3 compostos.

5 - Os compostos benzaldeído e óxido cis de linalol foram positivamente identificados no mel de laranja, enquanto n-heptanal, 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, fenilacetaldeído, 2-isononenal e 1-p-menten-9-al foram tentativamente identificados por espectrometria de massas e Índice de Kovats.

3.6 - BIBLIOGRAFIA

- 01 - BARTH,O.M. - O pólem no mel brasileiro, Rio de Janeiro : Gráfica Luxor, 1989, 150p
- 02 - BAUER,K. & GARBE,D. Common fragrance and flavor materials: preparation , properties and uses. Weinheim : VCH, 1985, 213p.
- 03 - BICCHI,C.,BELLIARDO,F. & FRATTINI,C. . Identification of the volatile components of some piedmontese honeys J.Aplic.Res., Cardiff, 22 (2),130-136,1983
- 04 - BOUSETA,A. , COLLINS,S. & DUFOUR,J.P. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dinamic Headspace CG-MS system J. Apic. Res., Cardiff, 31(2): 96-109,1992.
- 05 - CRANE,E. - O livro do mel. Trad. Astrid Kleinert Giovannini 2ª ed. São Paulo: Ed.Nobel, 1985, 226p. 1986,25-27.
- 06 - FERBER,C.E.M & NURSTEN,H.E. The aroma of beeswax. J. Sci. Food Agric.,London, 28: 311-318, 1977.
- 07 - FERRERES,F. ,TOMÁS-BARBERAN,F.A. , GIL,M.. TOMAS-LORENTE,F. . An HPLC technique for flavonoid analysis in honey. J.Sci.Food Agric., London, 56, 49-56, 1991.
- 08 - FRANCO,M.R.B. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. . Trapping of sousop (annOna muricata) juice volatiles on Porapak Q by suction. J. Sci. Food Agric., London, 34 (3): 293-299,1983.

- 09 - GILBERT,J. ,SHEPHERD,M.J. , WALLWORK,M.A. , HARRIS,R.G. .
Determination of the geographical origin of honeys by multivariate analysis of
gas chromatographic data on their free amino acid content. J. Apic. Res.,
Cardiff,20 (2): 125-135, 1981.
- 10 - GRADDON,A.D. , MORRISON,J.D. & SMITH,J.F. Volatile constituents of some
unifloral australian honeys. J.Agric.Food Chem., Santa Monica,27 (4): 832-
837, 1979
- 11 - JENNINGS,W. & SHIBAMOTO,T. . Qualitative analysis of flavor and fragrance
volatiles by gas capillary gas chromatography. New York : Academic Press,
1980, 472p.
- 12 - Mc LAFFERTY,F.W. & STAUFFER,D.B. - The WILLEY/ NBS registry of mass
spectral data. New York: John Willey & sons, vols. 1 e 2., 1989
- 13 - MAGA,J.A. . Honey flavor . Lebesm.Wiss.u.Technol., 16 : 65-68, 1983.
- 14 - OVERTON,S.V. & MANURA,J.J . Flavor and aroma in commercial bee honey - a
purge and trap thermal desorption technique for identification and
quantification of volatiles and semivolatiles in honey . Am. Lab., Connecticut,
April: 45-53,1994.
- 15 - RAMALHO, M. Valores e critérios do concurso de méis. Apicultura no Brasil,
Florianópolis, ano 3 , n.17 :25-27 , 1986
- 16 - RAMALHO,M. ; AMARAL, A.D. ; AZOUBEL, M.L. ; KLEINERT-GIOVANNINI,A. ;
IMPERATRIZ-FONSECA,V.L. - Mel : origem, caracterização e controle de
qualidade. Apicultura no Brasil . Florianópolis, ano 4, n. 23 : 27, 1987.

- 17 - SABATIER,S. , AMIOT,M.J. , TACCHINI,M. , AUBERT,S.. Identification of flavonoids in sunflower honey. J. Food Sci., Chicago, 57(3): 773-774,777, 1992
- 18 - TAN,SENG-TO ,WILKINS,A.L. , MOLAN,P.C. , HOLLAND,P.T. & REID,M. . A chemical approach to the determination of floral sources of New Zealand honeys. J. Apic. Res., Cardiff, 28(4): 212-222, 1989.
- 19 - VISSER,F.R.,ALLEN,J.M. & SHAW,G.J. .The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J.Apic.Res., Cardiff,27 (3): 175-181,1988.
- 20 - WHITE,J.W.Jr. Honey. Adv. Food Res. , 24 : 284-374,1978.

CAPÍTULO IV
ANÁLISE SENSORIAL

IV - ANÁLISE SENSORIAL

4.1 - INTRODUÇÃO

Embora o sabor seja um dos principais critérios de qualidade para o mel (CRANE, 1985 ; RAMALHO, 1986), poucos pesquisadores preocuparam-se em desenvolver trabalhos que elucidassem as diferenças sensoriais entre os méis de diferentes origens florais. Termos usados de maneira inconsistente para descrição de méis são de pouca utilidade a nível de controle ou caracterização, e apenas pessoas bastante familiarizadas com mel, como apicultores que atuam como juízes em concurso e provadores em firmas importadoras de mel, às vezes, são capazes de identificar sua origem botânica pelo aroma característico.

No entanto, CRANE (1985) relata que alguns méis podem ser reconhecidos pelo consumidor através de seu aroma e sabor. Entre eles estão os méis de eucalipto exportados da Austrália e os provenientes de floradas de laranja da Espanha, EUA e Israel.

É notório que as grandes companhias do ramo de alimentos tem dado cada vez mais atenção à análise sensorial com vistas ao desenvolvimento e monitoramento de seus produtos (BECKLEY & KROLL, 1996), adicionando assim, mais uma ferramenta analítica para aumentar sua competitividade no mercado. Dentro deste escopo, e dando à análise sensorial a devida importância como técnica de controle e monitoramento (COSTELL & DURAN, 1991) pode-se sugerir que a análise sensorial de méis, efetuada por provadores treinados e familiarizados com as diferenças oriundas da origem floral, poderia ser empregada como mais uma análise de controle de qualidade de mel.

O trabalho de STONOGA (1990) demonstra a importância do uso de análise sensorial para a averiguação da qualidade de mel, pois traz, além das análises físico-químicas de rotina, referentes a méis colhidos na região metropolitana de Curitiba, a avaliação sensorial, obtida por teste de aceitação e do perfil de sabor e aroma.

4.2 - OBJETIVOS

Caracterizar sensorialmente o mel de eucalipto e o mel de laranja através da Análise Descritiva Quantitativa e verificar, empregando-se a técnica de “sniffing”, quais compostos voláteis apresentavam contribuição sensorial, em notas de aroma e sabor ao aroma original dos produtos avaliados.

4.3 - MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 - Seleção da Matéria Prima

Foram adquiridos diretamente do apicultor, em 1994, 5Kg de mel de eucalipto e 5Kg de mel de laranja, que não haviam sofrido qualquer espécie de tratamento térmico. Foi adquirida em entreposto comercial, uma amostra de 5 Kg (em vasilhames de 800g) de mel de eucalipto de origem idônea, também empregada para avaliação sensorial.

4.3.2 - Métodos

4.3.2.1 - *Análise Descritiva Quantitativa*

4.3.2.1.1 - *Desenvolvimento da Terminologia Descritiva*

Dez provadores integrantes da equipe de análise sensorial previamente selecionada para avaliação do isolado com maior intensidade de aroma de mel (capítulo 2) foram solicitados a avaliarem o aroma e sabor das amostras de méis uniflorais empregando o método de rede (MOSKOWITZ,1983). Para tanto descreveram as similaridades e diferenças entre elas, conforme ficha de avaliação mostrada na figura 4.1.

Para avaliação do aroma, 30 g de cada amostra foi servida em xícara de fundo negro, coberta com vidro de relógio e codificada com número de três dígitos. Para a

avaliação do sabor 10 g de cada amostra foi servida em recipiente também com código de três dígitos. Ambas as avaliações foram realizadas em cabines individuais, sob luz vermelha, para mascarar qualquer variação com relação à aparência das amostras.

Após as avaliações individuais, os provadores foram reunidos em grupo e, sob a supervisão do líder da equipe sensorial, os termos descritivos gerados por cada indivíduo foram apresentados e discutidos pela equipe sensorial. Todos os termos gerados foram listados, computando-se o número de vezes que foram citados. Para cada termo, desenvolveu-se um material de referência e uma descrição verbal do mesmo. Após 4 sessões, uma lista contendo os termos mais citados pelos provadores foi desenvolvida. Esta lista originou a ficha de avaliação das amostras (figura 4.2), onde ao lado de cada descritor, acrescentou-se uma escala não estruturada de 9cm, ancorada nos termos "fraco" e "forte". Da mesma forma, uma lista consensual da equipe foi elaborada, contendo a definição de cada termo descritivo e respectivo material de referência.

Figura 4.1 - Ficha para desenvolvimento da terminologia descritiva de aroma e sabor segundo o método de rede

NOME_____ DATA_____

Por favor, compare as duas amostras quanto ao AROMA e indique em que são similares e em que são diferentes

Amostras _____ e _____

Similaridades

Diferenças

Comentários:_____

NOME: _____ DATA: _____

Por favor, compare as duas amostras quanto ao SABOR e indique em que são similares e em que são diferentes

Amostras _____ e _____

Similaridades

Diferenças

Comentários: _____

4.3.2.1.2 - *Treinamento e Seleção dos Provadores*

Durante o treinamento os provadores receberam amostras de méis uniflorais de eucalipto e laranja e utilizando a ficha de avaliação desenvolvida anteriormente, foram solicitados a avaliarem a intensidade de cada atributo. Após as avaliações individuais, os provadores discutiam seus resultados com o objetivo de se aumentar o consenso entre os membros da equipe. Após 3 sessões de treinamento, procedeu-se a seleção dos provadores que compuseram a equipe descritiva treinada.

Na etapa de seleção, os provadores foram solicitados a avaliar em 3 repetições amostras representativas de mel de eucalipto e laranja. Com os resultados obtidos, análises de variância univariadas foram computadas para cada provador em cada um dos atributos julgados (fontes de variação: amostra, repetição). O nível de significância (p) para os valores de $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$ foram computados para cada membro da equipe. Foram selecionados para comporem a equipe descritiva treinada os provadores que apresentaram $p_{amostra} \leq 0,50$; $p_{repetição} \geq 0,05$ e valores de intensidade consensuais com a equipe para a quase totalidade dos atributos julgados.

4.3.2.1.3 - Avaliação das Amostras e Análise dos Resultados

Uma amostra de mel de laranja e duas de eucalipto foram avaliadas pela equipe sensorial descritiva em três repetições, utilizando-se a ficha de avaliação previamente desenvolvida pela equipe sensorial. As amostras foram avaliadas utilizando-se um delineamento experimental de blocos completos casualizados sob as mesmas condições experimentais descritas anteriormente.

Os resultados foram analisados através de análise univariada (ANOVA), teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e Análise dos Componentes Principais (ACP).

4.3.2.2 - “Sniffing”

A determinação da contribuição sensorial dos compostos voláteis presentes nos isolados foi realizada utilizando a técnica de “sniffing”, em que o efluente da coluna cromatográfica foi dividido de forma que uma parte seguiu para o detetor de ionização de chama (FID), e outra foi conduzida por um tubo de sílica desativada até o nariz do provador, que descreveu qualitativamente o aroma percebido, de cada composto, simultaneamente ao registro da corrida cromatográfica pelo integrador. Esta análise foi feita por 6 provadores diferentes que apresentaram boa capacidade odorífera e não necessariamente treinados.

4.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 - Perfil Sensorial de Mel de Eucalipto e Laranja - Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A tabela 4.1 mostra os termos gerados individualmente pelos provadores para descrever as similaridades e diferenças entre as amostras através do método de rede. Após discussão, esses termos foram consensualmente agrupados pela equipe, originando os descritores listados junto à tabela 4.2.

A tabela 4.3 apresenta as amostras de referência sugeridas pelo líder da equipe para definir o significado dos descritores.

Tabela 4.1 - Termos descritivos desenvolvidos individualmente pelos provadores para descrever similaridades e diferenças entre as amostras de mel.

AROMA	N	SABOR	N
laranja	1	mel	5
seco	1	doce	9
palha molhada	1	fumo	1
floral	2	ácido	3
mel	6	mato	1
açúcar	2	terra	1
cítrico	2	cana	1
cera	1	favo	3
velho	1	fumaça	1
aquecido	1	cozido	1
doce	3	amargo	2
xarope de açúcar	1	residual	1
queimado	2	cítrico	2
perfume	1	cera	2
pinho	1	queimado	1
compota	1		
caramelo	1		
favo	1		
enjoativo	1		
flor	1		

N = Número de vezes que cada termo foi citado

Tabela 4.2 - Termos descritivos gerados consensualmente pela equipe sensorial descritiva para descrever similaridades e diferenças entre as amostras

AROMA	SABOR
característico de mel	característico
doce(açúcar/caramelo/compota)	doce
floral(laranja/cítrico/perfume/flor)	cera/favo
cera(favo)	ácido
queimado/fumo	amargo
própolis	cítrico
	queimado(fumaça)
	fumo(fumaça)
	residual

Tabela 4.3 - Referências sugeridas para a definição dos atributos

REFERÊNCIA	ATRIBUTO
cera alveolada	cera/favo
essência de laranja	floral - cítrico-laranja
rodela de limão	floral - cítrico limão
rosa vermelha aberta	floral - perfume
flor do campo	floral - flor
melado	doce
fumo de rolo picado	queimado - fumo
furfural diluído em água	queimado
folhas de eucalipto	queimado

Com o auxílio do líder da equipe sensorial, que atuou como moderador de sessões de discussão do grupo, uma definição de consenso foi então desenvolvida pelos provadores para cada descritor gerado pela equipe sensorial (tabela 4.4). Estas definições foram as adotadas para a análise das amostras.

Tabela 4.4 - Definição de descritores para a análise de aroma e sabor de mel

AROMA

CARACTERÍSTICO - Próprio do mel,que lembra mel; o conjunto de notas que sente-se ao abrir-se um vidro de mel.

DOCE - calda de açúcar pouco cozido, o início da caramelização do açúcar.

FLORAL - que apresenta perfume de qualquer flor.

CERA - cheiro da cera alveolada, separada do favo.

QUEIMADO/FUMO - referente à queimada de mata ou folhas secas e torradas como o fumo e o mate.

PRÓPOLIS - associado ao aroma do extrato etanólico de própolis (comercial).

SABOR

CARACTERÍSTICO - sabor muito doce com notas características de mel.

DOCE - calda de açúcar, açúcar caramelizado.

Tabela 4.4 - continuação

FLORAL - que apresente perfume de qualquer flor, sentido na boca durante a degustação.

CERA - relativo ao cheiro da cera alveolada (separada do favo) ,sentido na boca.

QUEIMADO/FUMO - relativo ao cheiro de folha seca e torrada, como fumo ou mate.

ÁCIDO - sensação ácida, conferida por ácidos orgânicos.

RESIDUAL - o sabor permanece na boca após a ingestão

PRÓPOLIS - relativo ao cheiro do extrato etanólico de própolis, sentido na boca.

4.4.2 - Treinamento e Seleção da Equipe Sensorial Descritiva

Com os termos gerados na tabela 4.4 foi composta a Ficha de Avaliação das amostras (figura 4.2) a qual foi utilizada tanto para treinamento e seleção dos provadores da equipe sensorial descritiva, como para obtenção do perfil de aroma e sabor das amostras de mel.

Após as sessões de treinamento, a performance de cada provador na etapa de seleção foi avaliada e a equipe sensorial descritiva selecionada para efetuar a análise descritiva quantitativa de méis ficou resumida a 8 provadores.

4.4.3 - Perfil de Aroma e Sabor dos Méis de Laranja e Eucalipto

A figura 4.3 mostra o perfil sensorial de aroma e sabor das amostras de méis analisadas. Este gráfico, conhecido como gráfico aranha, é usualmente utilizado para expressar os resultados da Análise Descritiva Quantitativa. O centro da figura representa, para cada descritor, o extremo esquerdo da escala de intensidade utilizada na Ficha de Avaliação das amostras (figura 4.2). A média de cada amostra em cada atributo é expressa no eixo apropriado, e o perfil sensorial de cada amostra é traçado pela união de todos os pontos relativos à amostra. A amostra de mel de laranja apresentou maior intensidade de aroma e sabor floral, e de cera, enquanto as

amostras de mel de eucalipto apresentaram maior intensidade de aroma e sabor queimado.

Figura 4.2 - Ficha de avaliação das amostras através da técnica de Análise Descritiva Quantitativa, desenvolvida pela equipe sensorial descritiva

NOME _____

DATA _____

Por favor, avalie o **AROMA** e **SABOR** das amostras de mel indicando a intensidade de cada atributo utilizando escala apropriada

AMOSTRA _____

AROMA

CARACTERÍSTICO

DOCE

FLORAL

CERA

QUEIMADO/FUMO

| _____ |

fraco

forte

| _____ |

fraco

forte

| _____ |

fraco

forte

| _____ |

nenhum

forte

| _____ |

nenhum

forte

SABOR

CARACTERÍSTICO

fraco

forte

DOCE

fraco

forte

FLORAL

fraco

forte

CERA

nenhum

forte

QUEIMADO/FUMO

nenhum

forte

ÁCIDO

fraco

forte

RESIDUAL

fraco

forte

Os resultados da análise estatística dos dados sensoriais encontram-se nas tabelas 4.5 e 4.6.

Tabela 4.5 - * Média dos atributos sensoriais por amostra conforme determinado por Análise Descritiva Quantitativa das amostras de méis

AMOSTRA	ATRIBUTO											
	acac	adoc	aflo	acer	aque	scac	sdoc	sflo	scer	sque	sacd	sres
1 eucalipto	6,8 ^a	6,9 ^a	3,5 ^a	3,6 ^a	5,5 ^a	6,4 ^a	7,4 ^a	3,2 ^a	3,4 ^a	5,9 ^a	3,5 ^a	6,5 ^a
2 eucalipto	6,4 ^a	6,3 ^a	2,9 ^a	3,6 ^a	5,1 ^a	6,5 ^a	6,5 ^b	3,2 ^a	3,8 ^a	4,9 ^b	3,5 ^a	6,1 ^a
3 laranja	6,6 ^a	5,8 ^b	5,9 ^b	4,5 ^b	2,3 ^b	6,7 ^a	6,1 ^b	6,0 ^b	4,6 ^b	2,4 ^c	3,9 ^a	5,4 ^b

* médias com a letra em comum numa mesma coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% conforme determinado por teste de Tukey.

legenda : acac = aroma característico ; adoc = aroma doce ; aflo = aroma de flor ; acer = aroma de cera ; aque = aroma queimado ; scac = sabor característico ; sdoc = sabor doce ; sflo = sabor flor ; scer = sabor cera ; sque = sabor queimado ; sacd = sabor ácido ; sres = sabor residual

Tabela 4.6 - Níveis de probabilidade de $F_{amostra}$, $F_{provador}$ e $F_{amostra \times provador}$ para cada amostra e cada atributo conforme determinado por teste ANOVA sobre o resultado obtido da análise descritiva quantitativa de amostras de méis

INTERAÇÃO	ATRIBUTO											
	acac	adoc	aflo	acer	aque	scac	sdoc	sflo	scer	sque	sacd	sres
amos	0,25	0,0004	0,0001	0,0001	0,0001	0,5056	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,785	0,0005
rep	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
amos*rep	0,0138	0,0345	0,0899	0,043	0,5730	0,0003	0,0001	0,0004	0,0001	0,2135	0,0001	0,0031

legenda : acac = aroma característico ; adoc = aroma doce ; aflo = aroma de flor ; acer = aroma de cera ; aque = aroma queimado ; scac = sabor característico ; sdoc = sabor doce ; sflo = sabor flor ; scer = sabor cera ; sque = sabor queimado ; sacd = sabor ácido ; sres = sabor residual

A tabela 4.5 mostra que as três amostras não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% para os atributos aroma característico, sabor característico e sabor ácido.

Em relação ao atributo sabor queimado verifica-se que as três amostras apresentaram diferença significativa ao nível de 5%, sendo que a amostra de mel de laranja apresentou a menor média. Em relação ao sabor doce, as amostras dois e três não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% e diferiram da amostra 1. Em relação aos demais atributos (aroma doce, aroma floral, aroma cera, aroma queimado, sabor flor, sabor cera e sabor residual) as amostras de mel de eucalipto (1 e 2) não apresentaram diferença significativa entre si ao nível de 5% mas diferiram da amostra de mel de laranja.

Analisando-se a tabela 4.6 verifica-se que houve discriminação de todos os atributos, excetuando-se o sabor e aroma característico e sabor ácido, como foi verificado pelo fato das amostras não apresentarem diferença significativa entre si. Houve diferença significativa em relação à repetição para todos os atributos, indicando que os provadores usaram diferentes partes da escala não estruturada de 9 cm. Este fato é comum em análise sensorial, não sendo considerado grave.

A interação provador x amostra foi significativa para vários atributos : aroma característico, aroma doce, aroma cera, sabor característico, sabor doce, sabor flor, sabor cera, sabor ácido e sabor residual. Esta interação, que indica inconsistência entre provadores ao empregar os atributos não foi grave para os atributos que diferiram significativamente entre os méis de eucalipto e laranja, conforme foi verificado através da elaboração de gráficos que relacionam a média de cada atributo para cada provador por amostra. A ocorrência de provadores ligeiramente discordantes, apesar de treinamento, é comum, conforme demonstra os trabalhos de LEDERER et alii (1991) e GUINARD & CLIFF (1987).

A análise multivariada dos dados sensoriais realizada através da Análise de Componentes Principais (ACP) foi efetuada empregando-se a média de cada atributo obtida pela equipe sensorial por amostra em cada repetição. Foram analisados os seguintes atributos: aroma cera, sabor cera, aroma floral, sabor floral, aroma queimado, sabor queimado e sabor residual.

Através da análise de componentes principais (figura 4.4) verifica-se que os dois primeiros componentes (prin1 e prin2) respondem por 95% da variação observada, sendo que o primeiro explica 87% desta variação. Verifica-se assim que os descritores empregados discriminam adequadamente as amostras analisadas.

Na ACP, os vetores representam os descritores utilizados e vetores que se situam próximos entre si, sugerem atributos que apresentam correlações estatisticamente significativas. Desta forma a figura 4.4 sugere que os atributos aroma e sabor queimado estão bastante relacionados o mesmo ocorrendo com os descritores aroma e sabor floral; aroma e sabor cera. O sabor residual parece apresentar relação com os atributos aroma e sabor queimado.

Ambas as amostras de mel de eucalipto apresentaram como nota mais marcante a dos descritores aroma e sabor queimado e sabor residual. A repetibilidade, avaliada pela distância entre os pontos referentes à uma mesma amostra, é muito boa quando projetada no eixo prin 1, que responde por 87% da variabilidade. A amostra de mel de laranja caracteriza-se pelo seu aroma e sabor floral e aroma e sabor cera, estando bastante afastada das amostras de mel de eucalipto.

Figura 4.3 - Representação gráfica da Análise Descritiva Quantitativa - Gráfico Aranha

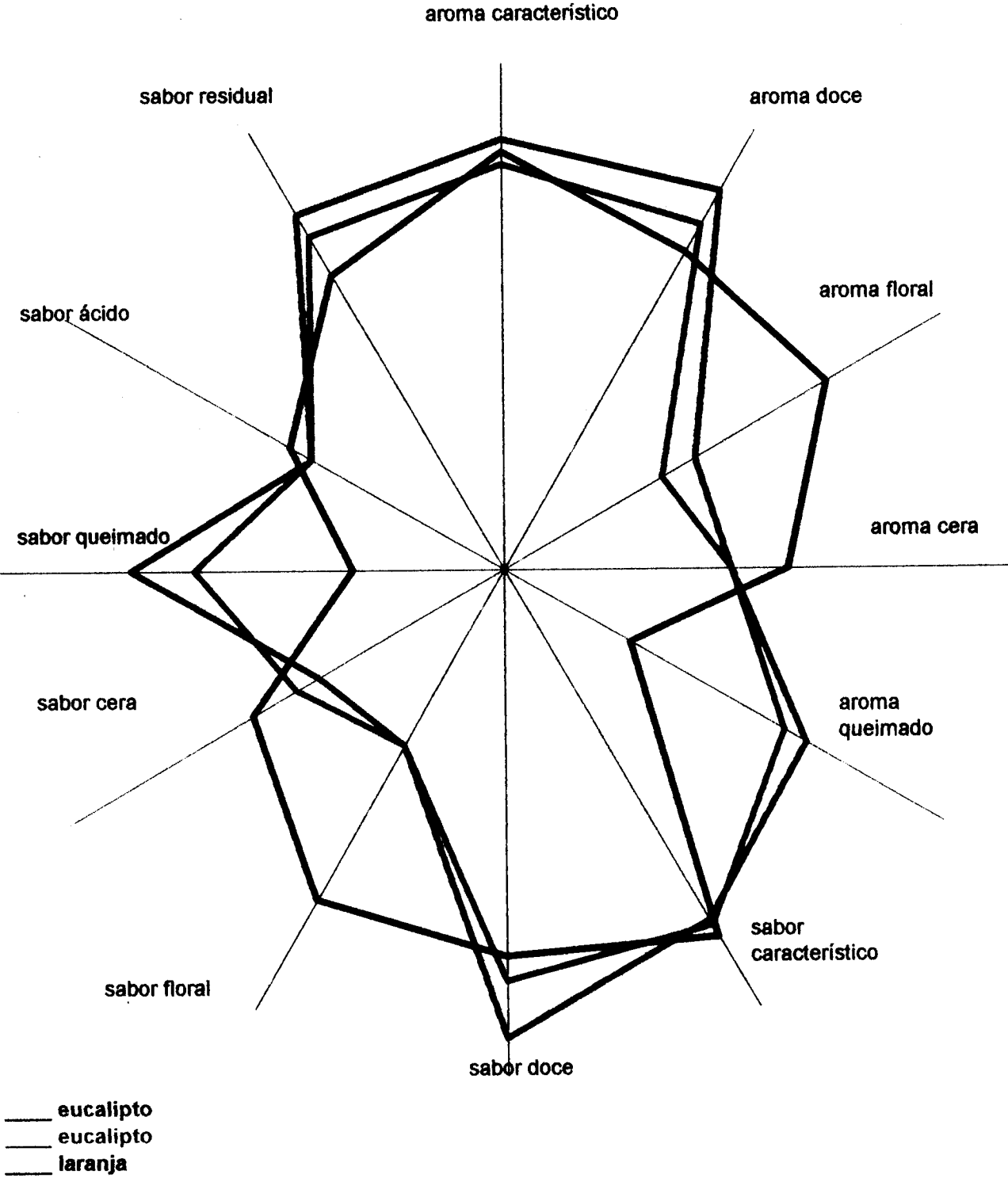
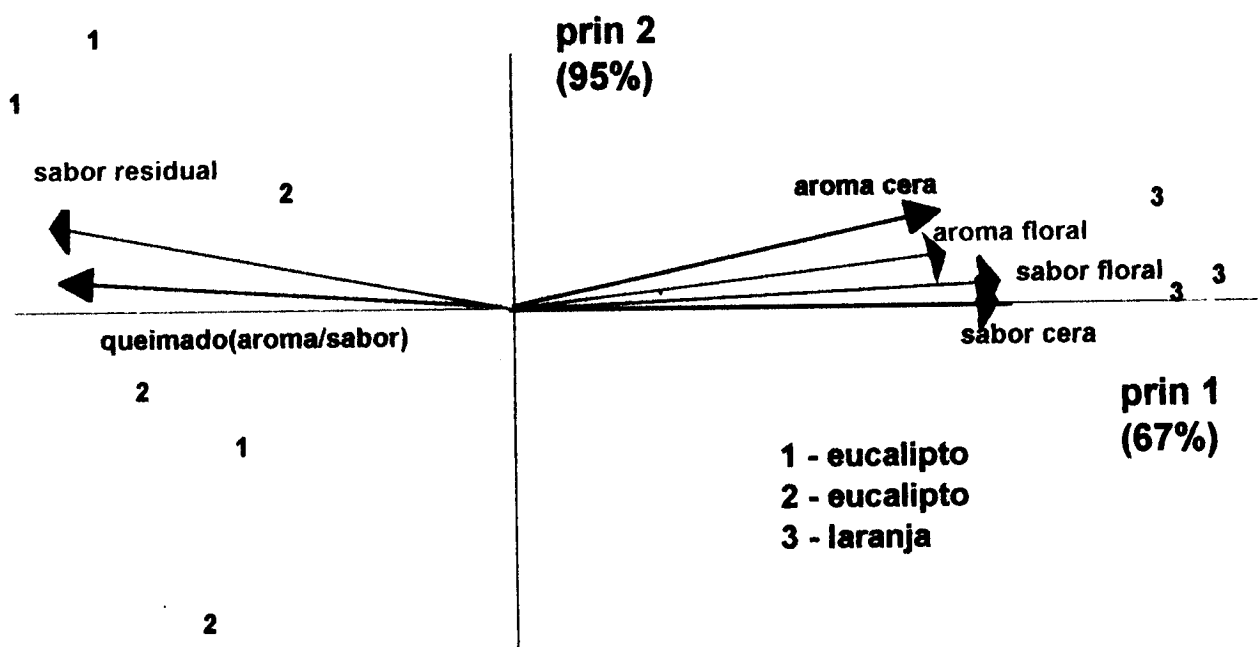


Figura 4.4 - Análise dos Componentes Principais



4.4.4 - Avaliação Sensorial de Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja “Sniffing”

Os compostos voláteis eluídos da coluna cromatográfica foram avaliados individualmente a fim de verificar-se aqueles que apresentavam contribuição sensorial.

4.4.4.1 - Mel de Eucalipto

A descrição sensorial de alguns compostos voláteis de mel de eucalipto , obtida por sniffing, encontra-se na tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Descrição sensorial qualitativa dos compostos voláteis de mel de eucalipto separados por cromatografia gasosa de alta resolução em coluna SE - 54** .

COMPOSTO*	DESCRIÇÃO*
10	adocicado(3), floral(2)
13	fedido(3), levedura(3), acre(1), verde(1),desagradável(1)
14	doce(1), laranja(1)
17	adstringente(2),ácido(1), gás(1), podre(1),desagradável(1)
21	mato(2), boldo(2), amargo(2)
26 / nonanal	eucalipto(2), verde(2), cítrico(1), quente(1)e doce(1),
30 / nonanol	queimado(2), remédio(2), mel(1), doce(1)

*numeração correspondente à figura 3.1 (Pág. 60)
**os valores entre parênteses correspondem ao número de provadores que citaram cada termo

Trabalhos que relataram a contribuição sensorial obtida de méis de eucalipto, apresentaram, para alguns compostos, terminologia similar à obtida neste trabalho, tendo sido empregados, entre outros, os termos tabaco, folhas queimadas, queimado, desagradável e mel (WOOTON et alii, 1978 e GRADDON et al, 1979).

O nonanal foi descrito na literatura como possuindo características florais (BAUER & GARBE, 1985).

4.4.4.2 - Mel de Laranja

A descrição sensorial de alguns compostos voláteis de mel de laranja, obtida por “sniffing”, está na tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Descrição sensorial de compostos voláteis de mel de laranja separados por cromatografia gasosa de alta resolução em coluna SE - 54 *.

COMPOSTO	DESCRIÇÃO**
11 / benzaldeído	adocicado(2), cítrico(1), laranja(2)
13	laranja suave(3), flor(3)
fenilacetaldeído	floral forte(5), doce(1), mel(1)
23	flor(2), fumo(1), adocicado(1)
24	flor(3), cítrico(2)
34	baunilha(1), doce(1), levedura(1)
35 / 36 1-p-menten-9-al	fedido(1), formol(1), quente(1), gás(1), amêndoa(1)

*numeração correspondente à figura 3.2 (Pág.63)

**os valores entre parênteses correspondem ao número de provadores que citaram cada termo

O aroma do benzaldeído foi descrito como amêndoa amarga (bitter almond) por BAUER & GARBE, (1985), enquanto o aroma do fenilacetaldeído foi descrito como de jacinto e lilás pelos mesmos autores.

A contribuição sensorial de um composto pode mudar com a concentração , e por isso, muitas vezes, sua descrição pode ser diferente daquela encontrada na literatura.

4.4.5 - Relação Entre a Análise Sensorial e Análise Instrumental

Na Análise Sensorial Descritiva quantitativa, o aroma do mel de eucalipto foi caracterizado pelas maiores notas de “queimado” O nonanal foi descrito pelos

provadores, no “sniffing”, como eucalipto, enquanto o pico representativo do composto volátil numerado como 21 apresentou um aroma descrito como “amargo, boldo”. O nonanol apresentou aroma de “queimado”, “remédio”, “mel”, sendo importante para o aroma característico de mel de eucalipto.

A presença de nonanal em cera de abelhas foi relatada por FERBER & NERSTER (1977), e para sua caracterização odorífera foram empregados os termos “forte, cítrico, doce”, bastante similar aos descritos neste trabalho.

O mel de laranja caracterizou-se pelos descritores “floral” e “cera” na Análise Descritiva Quantitativa e apresentou como compostos majoritários o fenilacetaldéido e os picos representativos de compostos voláteis 26 e o 27, não identificados.

O fenilacetaldéido, composto identificado em diferentes méis (VISSER et alii, 1988; MAGA, 1983; OVERTON & MANURA, 1994) e em maior concentração em méis uniflorais como de laranja, tupelo (OVERTON & MANURA, 1994) e manuka (VISSER et alii, 1988), foi descrito pelos provadores como floral forte, doce e mel, tendo contribuição significativa para o aroma do mel de laranja. Este composto é empregado na formulação de aroma artificial de mel (MAGA, 1983). Outro composto importante sensorialmente, presente em mel de laranja foi o benzaldeído, que também foi detectado em méis de outras origens florais (BICCHI, et alii, 1983; VISSER et alii, 1988; OVERTON & MANURA, 1994).

O octanal, anteriormente relatado por BOUSETA et alii (1992) e OVERTON & MANURA (1994) em diferentes méis, não foi percebido pelos provadores neste estudo, enquanto que em trabalho citado por MAGA (1983), foi descrito como “doce , cítrico”.

4.4.6 - Análise Polínica

O resultado da análise polínica encontra-se na tabela 4 9.

Tabela 4.9 - Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados nos méis de eucalipto e laranja avaliados sensorialmente

	ESPECIE VEGETAL	%	FAMILIA	NOME COMUM
Eucalipto 1	<i>Eucalyptus sp</i>	97,9	Myrtaceae	eucalipto
	<i>Paspalum notarum</i>	1,9	Graminae	grama-comum
	outros	0,2		
Eucalipto 2	<i>Eucalyptus</i>	97,9	Myrtaceae	eucalipto
	outros	0,5		
Laranja	<i>Citrus sinensis</i>	53,3	Rutaceae	laranja
	<i>Eucalyptus sp</i>	20,6	Myrtaceae	eucalipto
	outros	26,1		

O laudo fornecido indica que os méis analisados eram de eucalipto e laranja.

4.5 - CONCLUSÕES

1 - Existem diferenças sensoriais acentuadas entre os méis de eucalipto e laranja. O sabor do primeiro foi caracterizado como queimado e o sabor do segundo como “floral” e “cera”.

2- O nonanol, tentativamente identificado, apresentou contribuição sensorial ao mel de eucalipto, tendo sido descrito como “queimado”, “remédio”. O nonanal, composto positivamente identificado, foi descrito como “eucalipto”, tendo sido considerado importante para o aroma de mel de eucalipto. Os picos representativos dos compostos voláteis não identificados 10, 13, 14, 17 e 21, também apresentaram contribuição sensorial

3- O fenilacetaldéido foi importante ao aroma característico de mel de laranja, e descrito como “floral forte”. O benzaldeído, cuja identidade foi confirmada, apresentou contribuição sensorial ao mel de laranja, sendo descrito como “adocicado”, “laranja”, e os picos representativos dos compostos voláteis não identificados 13, 23, 24 e 34 também apresentaram contribuição sensorial ao mel de laranja.

4.6 -BIBLIOGRAFIA

- 01 - ASTM (American Society for Testing and Materials). Guidelines for the selection and training of sensory panel members. ASTM Sp. Tech. publ. no 758, 1981.
- 02 - BAUER,K. & GARBE,D. Common fragrance and flavor materials: preparation , properties and uses. Weinheim : VCH, 1985, 213p.
- 03 - BECKLEY, J .P. & KROLL, D.R. . Searching for sensory research excellence. Food Technol., Chicago, Feb.: 61-63, 1996.
- 04 - BICCHI,C.,BELLIARDO,F. & FRATTINI,C. Identification of the volatile components of some piedmontese honeys. J.Aplic.Res., Cardif, 22(2):130-136,1983.
- 05 - BOUSETA,A. , COLLINS,S. & DUFOUR,J.P. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dinamic Headspace CG-MS system. J. Apic. Res., Cardiff ,31(2):96-109,1992.
- 06 - COSTELL, E. & DURAN, L. . El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. I. introducción. Rev. Agroquim.Tecnol.Aliment., Valencia,21 (1): 165-178, 1991.
- 07 - CRANE,E. - O livro do mel. Trad. Astrid Kleinert Giovannini 2ª ed. São Paulo: Ed.Nobel, 1985, 226p. 1986,25-27.
- 08 - FERBER,C.E.M & NURSTEN,H.E. The aroma of beeswax. J. Sci. Food Agric. London, 28: 311-318, 1977.
- 09 - GRADDON,A.D. , MORRISON,J.D. & SMITH,J.F. Volatile constituents of some unifloral australian honeys. J.Agric.Food Chem., Santa Monica, 27 (4): 832-837, 1979.

- 10 - GUINARD, J.X. & CLIFF, M. Descriptive analysis of Pinot noir wines from Carneros, Napa and Sonoma. Am. J. Enol. Vitic., Davis, 38 (3): 212-214, 1987.
- 11 - LEDERER, C.L.; BODYFELT, F.W. & NCDANIEL, M.R. The effect of carbonation level on the sensory properties of flavored milk beverages. J. Dairy Sci., 74(2): 2100-2108, 1991.
- 12 - MAGA, J.A. Honey flavor. Lebesm. Wiss. u. Technol., 16, p. 65-68, 1983.
- 13 - MOSKOWITZ, H.R. Product testing and sensory evaluation of foods - marketing and R & D approaches.. Westport: Food & Nutrition Press, 1983.
- 14 - OVERTON, S.V. & MANURA, J.J. Flavor and aroma in commercial bee honey - a purge and trap thermal desorption technique for identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey. Am. Lab., Connecticut, April: 45-53, 1994.
- 15 - RAMALHO, M. -Valores e critérios do concurso de méis. Apicultura no Brasil, Florianópolis 17 : 25-27, 1986.
- 16 - STONOGA, V.I. - Características de qualidade dos méis da região metropolitana de Curitiba. Tese apresentada à Universidade Federal do Paraná para obtenção do título de Mestre. 1990, 206p.
- 17 - VISSER, F.R., ALLEN, J.M. & SHAW, G.J. The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J. Apic. Res., Cardiff, 27 (3): 175-181, 1988.
- 18 - WOOTON, M., EDWARDS, R.A. & FARAJI-HAREMI. Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian Honeys. III Changes in volatile compounds. J. Apic. Res., Cardiff, 17 (3): 167-172, 1978.

CAPÍTULO V

EFEITO DO PROCESSAMENTO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MEL DE EUCALIPTO E LARANJA

V - EFEITO DO PROCESSAMENTO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MEL DE EUCALIPTO E LARANJA

5.1 - INTRODUÇÃO

O índice de diastase e o teor de hidroximetilfurfural (HMF) no mel são dois testes normalmente usados para controlar a qualidade. O mel de boa qualidade, que não tenha sofrido processamento inadequado e que seja puro, deve apresentar alta atividade enzimática e baixo teor de HMF (WHITE, et alii, 1964; WHITE & SICILIANO, 1980). O mel deve apresentar também, aroma e sabor característico da florada especificada no rótulo. No entanto, a análise dos compostos voláteis, responsáveis pelo aroma não é efetuada, devido a dois principais fatores, o primeiro relacionado à complexidade desse tipo de análise, e o segundo, resultado da falta de parâmetros para esse tipo de controle.

O aroma do mel sofre modificações a partir do momento em que é retirado dos favos (CRANE, 1985). Estas modificações acentuam-se com o processamento térmico ao qual é submetido e com o tempo de armazenamento. A contaminação microbológica também leva à alterações nos compostos voláteis (TATEO, 1982).

O efeito do processamento e armazenamento sobre os compostos voláteis de mel parece ser bastante complexo (VISSER et alii, 1988), sendo dependente da intensidade e tempo de aquecimento (WOOTON et alii, 1978).

Os efeitos do processamento e armazenamento sobre os compostos voláteis, particularmente naqueles que apresentam contribuição sensorial, devem ser estudados a fim de sugerir medidas que retardem o “envelhecimento”, ou seja, a perda de suas características sensoriais.

5.2 - OBJETIVOS

Estudar o efeito do processamento (extração do favo, decantação e aquecimento 40°C/3 horas) e armazenamento durante 1,2 e 3 meses, à temperatura ambiente e à temperatura refrigerada (9 - 10°C), nos compostos voláteis de méis monoflorais de eucalipto e laranja.

5.3 - MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 - Seleção da Matéria Prima

Mel de eucalipto e laranja foram adquiridos em favos diretamente de apicultores do Estado de São Paulo.

5.3.2 - Amostragem

Para cada lote, foram obtidos cerca de 7 Kg de mel peneirado, sendo 1,8Kg destinados à análise do efeito do processamento e 3,6 Kg destinado ao estudo do efeito do armazenamento. O estudo do armazenamento sobre a porcentagem relativa dos compostos voláteis de mel de eucalipto e laranja foi feito para um lote de mel de eucalipto e um lote de mel de laranja. Uma parte do mel obtido foi envasada em potes contendo 300g. Estes potes foram armazenados à temperatura ambiente e em geladeira por 1, 2 e 3 meses, e as análises feitas em duplicata.

Em cada etapa (mel extraído do favo, mel decantado e mel decantado e aquecido), a análise foi feita em duplicata.

5.3.3 - Métodos

5.3.3.1 - *Processamento do Mel*

O processamento seguiu o fluxograma abaixo:

extração do mel dos favos → decantação por 24 horas → aquecimento a 40°C/ 3 horas

O mel foi extraído dos favos com o auxílio de uma espátula, para desoperculação, e recolhido em recipiente plástico. Após passagem em peneira para retirada de cera, o mel foi acondicionado em recipientes de vidro de 250 ml, com tampa de rosca, de forma a conter, cada recipiente, 300 g de mel.

Após a extração e envase, o mel foi decantado por 24 horas à temperatura ambiente e na etapa seguinte, submetido ao aquecimento, em banho-maria, a 40°C por 3 horas

5.3.3.2 - *Armazenamento do Mel*

O mel foi armazenado à temperatura ambiente e sob refrigeração (9°-10° C), em geladeira, por um período de até 3 meses.

5.3.3.3 - *Isolamento dos Compostos Voláteis de Mel*

O isolamento dos voláteis foi feito conforme descrito em 3.3.3.1 (pág. 56).

5.3.3.4 - *Análise Cromatográfica dos Isolados de Mel*

A separação dos voláteis está descrita em 3.3.3.2(pág. 57).

5.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ano de 1995 apresentou uma quebra na colheita de mel de eucalipto e laranja nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, devido à estiagem prolongada em 1994, que prejudicou a floração de eucalipto, e devido à infestação das colméias por doenças, que prejudicou a colheita do mel de laranja neste ano. Por esse motivo, dispôs-se de mel recém colhido de eucalipto (em favos) de um único apicultor, já em julho de 1995, embora a safra deste mel ocorra normalmente de abril a maio. Portanto, o estudo do efeito do processamento foi feito para apenas um lote de mel de eucalipto.

Mel de laranja, em favos, foi obtido com dois apicultores diferentes, em Novembro de 1995. Assim, dois lotes distintos de mel de laranja foram empregados para o estudo do efeito do processamento.

5.4.1 - Efeito do Processamento nos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja

O efeito do processamento nas porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de eucalipto e de laranja encontram-se nas tabelas 5.1 e 5.2.

A numeração dos picos é a mesma dos cromatogramas (figuras 3.1, pág.60 e 3.2, pág.63), e os compostos presentes em quantidades de traços não foram incluídos nas tabelas pois não foram integrados em alguns cromatogramas, por estarem próximos da área mínima necessária para integração.

5.4.1.1 - Mel de Eucalipto

As porcentagens relativas dos componentes voláteis de mel de eucalipto, em cada etapa do processamento, se encontram na tabela 5.1.

A análise de variância aplicada às porcentagens relativas de cada pico mostrou que o mel, após a etapa de decantação, não sofreu nenhuma mudança em relação ao mel recém-extraído do favo, com exceção do pico 21, que diminuiu significativamente a

5%. Após o aquecimento do mel houve diminuição significativa dos picos representativos de compostos voláteis numerados como 2, 13 e 21, que passaram de 23%, 0,6% e 3% no mel decantado para 19%, 0,3% e 2% respectivamente. Por outro lado, os picos 4 e 16 aumentaram significativamente de 5% e 22% para 8% e 27% no mel aquecido.

Portanto, mudanças quantitativas ocorreram após o aquecimento do mel, mesmo a uma temperatura tão branda como 40°C.

5.4.1.2 - *Mel de Laranja*

As porcentagens relativas dos componentes voláteis de mel de laranja para dois lotes, em cada etapa do processamento encontram-se na tabela 5.2.

Tabela 5.1 - Porcentagens relativas dos compostos voláteis de mel de eucalipto nas diferentes etapas do processamento

pico/composto	favo		decantado		aquecido	
	média	sd	média	sd	média	sd
2	21,3a,c	0,9	23,4a	0,9	19,4c	0,7
4	5,0a	0,2	5,3a	0,1	7,7c	0,8
5	8,9a	0,4	9,4a	0,1	15,0a	3,6
6	5,9a	0,1	5,9a	1,2	2,4a	2,2
7	0,5a	0,0	0,6a	0,2	0,5a	0,2
9/ 2-heptanona	5,5a	0,0	5,6a	1,0	3,8a	0,1
10	0,7a	0,0	0,7a	0,1	0,7a	0,4
11/2-heptanol	1,1a	0,3	1,0a	0,2	0,4a	0,2
12	0,6a	0,0	0,7a	0,1	0,7a	0,1
13	0,6a	0,0	0,6a	0,1	0,3c	0,0
14	0,3a	0,0	0,2a	0,3	0,3a	0,0
15	7,7a	0,8	7,6a	0,3	9,6a	0,5
16	22,5a	1,9	22,3a	0,8	26,6c	1,3
17	1,4a	0,6	0,5a	0,0	0,8a	0,7
M	tr	---	tr	---	tr	---
20	0,4a	0,0	0,4a	0,1	0,1a	0,2
21	4,1a	0,4	3,3b	0,1	2,4c	0,3
23	0,8	0,3	tr	---	tr	---
24	0,7	0,3	tr	---	tr	---
26 /nonanal	9,6a	0,9	10,5a	0,2	7,6a	1,8
30/ nonanol	2,5a	0,1	2,4a	0,2	2,0a	0,2

média de duplicata

M:mistura não resolvida

sd: desvio-padrão

tr : picos com porcentagem relativa < 0,05%

Tabela 5.2 - Porcentagens relativas dos picos representaativos dos compostos voláteis nas diferentes etapas do processamento para dois lotes de mel de laranja

LOTE 1		LOTE 2											
		favo		decantado		aquecido		favo		decantado		aquecido	
pico / composto	Tr	m	sd	m	sd	m	sd	m	sd	m	sd	m	sd
4	8,28	6,2	0,1	2,6	0,1	1,2	0,5	1,2	0,4	1,2	0,2	1,1	0,6
6/ n-heptanal	9,91	5,6	0,0	2,2	0,0	1,2	0,2	4,7	1,5	4,4	0,8	3,8	2,3
7	10,66	tr		tr		tr		tr		tr		tr	
8	10,72	1,9	0,2	0,9	0,1	1,8	0,3	tr	-----	tr	-----	tr	-----
11/ benzaldeido	14,51	5,1	0,5	4,6	0,1	5,2	0,3	3,9	0,1	3,3	0,6	3,8	0,2
12/ 6-metil 5hepten- 2-ona	16,72	tr	-----	tr	-----	tr	-----	0,9	0,1	0,9	0,0	0,7	0,1
13	16,98	3,4	0,1	2,2	2,0	3,5	0,0	3,0	0,4	4,7	0,2	3,0	0,7
15/ octanal	17,85	5,8	1,4	3,0	0,0	2,8	0,6	3,0	0,4	3,5	0,6	3,0	0,8
16	18,11	3,8	0,3	2,5	0,1	4,3	0,4	4,0	0,2	6,0	0,2	3,9	0,8
17	18,78	2,6	1,5	1,2	0,1	0,8	0,4	tr	----	tr	-----	tr	-----
18/ fenilacetaideido	20,75	19,6	5,4	22,5	2,3	23,6	0,8	17,5	4,5	16,9	2,5	17,8	4,5
19/ óxido cis de linalool	22,82	tr	---	tr	---	tr	---	tr	---	tr	---	tr	---
23	24,49	4,8	2,5	7,2	0,2	4,0	0,4	4,8	0,8	4,7	1,7	5,9	0,1
24	24,73	9,8	1,6	8,5	0,0	11,3	1,1	8,4	0,1	8,7	1,3	8,5	1,4
26	26,6	9,4	0,8	13,5	0,2	10,3	1,3	13	2,0	13,7	1,1	14,9	1,2
27/ 2-isononenal	26,98	11,1	0,9	16,5	0,1	11,7	1,4	15,8	3,0	17,0	1,3	18,5	1,6
29	27,66	3,3	0,1	5,0	0,2	3,3	0,2	4,5	0,8	4,7	0,3	5,5	0,3
34	29,36	3,0	1,6	2,8	0,1	2,2	0,2	2,3	0,9	2,2	1,0	2,5	0,9
35	29,71	2,5	0,1	2,8	0,1	4,0	0,1	3,5	0,4	4,3	0,2	4,0	0,1
36 / 1-p-menten-9-al	29,79	2,3	0,1	3,2	0,0	3,6	0,1	3,0	0,3	4,1	0,1	3,6	0,0

m: média de duplicata

tr: picos com porcentagem relativa <0,05

sd: desvio padrão

tr: tempo de retenção

A análise de variância de dois fatores (lote x processamento) mostrou que não houve variação significativa a nível de 5% de significância na porcentagem de área dos componentes voláteis nas diferentes etapas do processamento.

Os compostos majoritários no mel recém extraído do favo foram o fenilacetaldéido, 2-isononenal, e o pico 26, nos dois lotes estudados. Após o processamento, esses continuaram sendo os compostos de maior abundância relativa.

5.4.2 - Efeito do Armazenamento nos Compostos Voláteis de Mel de Eucalipto e Laranja

5.4.2.1 - *Mel de Eucalipto*

Foi estudado o efeito do armazenamento nos componentes voláteis de mel de eucalipto após 1, 2 e 3 meses de armazenamento à temperatura ambiente e sob refrigeração, em geladeira. Empregou-se o mel proveniente do lote 1 (tabela 5.2)

As tabelas 5.3 e 5.4 mostram os resultados obtidos neste estudo. Após o primeiro mês de armazenamento do mel de eucalipto à temperatura ambiente, algumas modificações já ocorreram na composição quantitativa dos componentes voláteis.

Os picos representativos de compostos voláteis que aumentaram de porcentagem relativa quando comparados com o mel recém extraído do favo (Tempo 0), foram o 2, 12, M e o nonanal, que passaram de 21%, 0,6%, traços, 0,4% e 10% para 24%, 2%, 3%, 2% e 21% respectivamente.

A análise estatística mostrou que o pico 2 diminuiu significativamente a nível de 5%, passando de 24% para 19% enquanto o pico 20 aumentou de 2% para 4% entre o primeiro e o segundo mês de estocagem.

Tabela 5.3 - Efeito do armazenamento à temperatura ambiente após 1, 2 e 3 meses, nas porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de eucalipto ⁽¹⁾

tempo (mês) pico n°	0		1		2		3	
	média	sd	média	sd	média	sd	média	sd
2	21,3a	0,9	24,3b	4,0	18,6c,d	1,1	13,6d	0,6
4	5,0a	0,2	4,2a	1,0	4,5a	0,6	6,0a	0,5
5	8,9a	0,4	9,6a	0,5	11,1a	1,8	11,8a	0,4
6	5,9	0,1	nd	----	nd	----	nd	----
7	0,5	0,0	tr	----	tr	----	tr	----
9/ 2-heptanona	5,5	0,0	tr	----	tr	----	tr	----
10	0,7	0,0	0,5	0,7	tr	----	tr	----
11/ 2-heptanol	1,1a	0,3	1,5a	0,6	1,8a	0,7	1,2a	0,1
12	0,6a	0,3	2,0b	0,3	2,6b	0,0	3,3 c	0,4
13	0,6	0,0	nd	----	nd	----	nd	----
14	0,3	0,0	tr	----	nd	----	nd	----
15	7,7a	0,8	6,2b	1,1	6,6b	1,4	10,3c	0,2
16	22,5a,b	1,9	19,1a,b	2,4	17,9b	2,0	24,3a	0,1
17	1,4	0,6	tr	----	tr	----	tr	----
M	tr	----	3,3	0,8	6,3	1,1	5,9	0,2
20	0,4a	0,1	1,9b	0,7	3,9c	1,3	3,4d	0,0
21	4,1a	0,4	2,3a,b	0,6	2,2a,b	0,9	1,7b	0,2
23	0,8a	0,3	0,9a	1,2	1,6a	2,3	1,2a	1,8
24	0,7	0,3	tr	----	tr	----	tr	----
26/ nonanal	9,6a	0,9	20,7b,c	1,8	19,1c	3,8	14,5a,b,c	1,3
30/ nonanol	2,5a	0,1	3,2a	1,2	3,1a	0,3	2,7a	0,0

(1) dados com a mesma letra, em uma mesma linha, não apresentam diferença significativa a 5% média de duplicata

tr: picos presentes com porcentagem relativa < 0,05%

M:mistura não resolvida

sd: desvio-padrão

nd : pico não detectado

Após o terceiro mês de armazenamento, os picos representativos de compostos voláteis numerados como 12, 15 e 16 aumentaram significativamente, passando de 2,6%, 7% e 18% para 3,3%, 10% e 24 % respectivamente, enquanto o pico 2 diminuiu de 19% para 14%. O pico 2 não mostrou mudança significativa entre o 2° e 3° mês de estocagem, porém diminuiu significativamente em relação ao T₀, passando de 21%

para 14%. Estas mudanças modificaram o perfil dos compostos voláteis. Após 3 meses de estocagem, os picos/compostos majoritários foram os 16, nonanal, 2, 5 e 15, com respectivamente 24%, 15%, 14%, 12% e 10% de porcentagem relativa, enquanto no mel recém extraído do favo, os picos mais abundantes foram os 16, 2, nonanal ,5, 15, 6 e 2-heptanona com 22%, 21%, 10%, 9%, 8%, 6% e 6% respectivamente.

Tabela 5.4 - Efeito do armazenamento em geladeira durante 1, 2 e 3 meses, nas porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de eucalipto ⁽¹⁾

tempo (mês)	0		1		2		3	
pico n°	média	sd	média	sd	média	sd	média	sd
2	21,3a	0,9	28,2b	1,9	27,9c	1,2	25,1a,b,c	0,5
4	5,0a	0,2	3,9b	0,2	3,7b	0,2	4,9a	0,2
5	8,9a	0,4	9,1a	0,5	9,1a	1,0	11,1b	0,3
6	5,9	0,1	nd	---	nd	---	nd	---
7	0,5	0,0	0,7	0,2	tr	---	tr	---
9/ 2-heptanona	5,5	0,0	tr	---	tr	---	tr	---
10	0,7	0,0	tr	---	tr	---	tr	---
11/ 2-heptanol	1,1a	0,3	1,0a	0,2	1,3a	0,3	1,1a	0,2
12	0,6a	0,3	1,3b	0,0	1,2b	0,2	1,1b	0,1
13	0,6	0,0	nd	---	nd	---	nd	---
14	0,3	0,0	tr	---	tr	---	tr	---
15	7,7a	0,8	6,4a	1,1	6,2a	0,5	7,7a	0,7
16	22,5a	1,9	20,0a	3,8	20,6a	2,5	23,6a	0,0
17	1,4	0,6	0,5	0,1	0,4	0,0	0,2	0,0
M	tr	---	tr	---	2,3	0,1	1,9	0,2
20	0,4a	0,1	1,2b	0,4	1,1b	0,1	1,2b	0,2
21	4,1a	0,4	1,8b	0,1	1,5c	0,1	1,2d	0,1
23	0,8	0,3	tr	---	tr	---	tr	---
24	0,7	0,3	tr	---	tr	---	tr	---
26/ nonanal	9,6a	0,9	22,7b	0,4	22,1b	2,6	17,1b	0,8
30/ nonanol	2,5a	0,1	2,6a	0,1	2,4a	0,3	2,4a	0,2

(1) dados com a mesma letra, em uma mesma linha, não apresentam diferença significativa a 5%

* numeração correspondente à figura 3.1(pág.60)

M:mistura não resolvida

sd: desvio-padrão

nd : pico não detectado

tr : picos com porcentagem relativa < 0,05%

Tr: Tempo de retenção

À temperatura refrigerada, foram observadas as mesmas tendências que ocorreram durante a estocagem à temperatura ambiente, com exceção da mistura M e do pico 7, que se mantiveram constantes na temperatura refrigerada. O composto 2-heptanona e o pico representativo de composto volátil numerado como 14 foram encontrados ao nível de traços, e os picos 6 e 13 não foram detectados após um mês de armazenamento, em ambas as condições. As mudanças observadas alteraram o perfil característico do mel de eucalipto armazenado, comparativamente a T_0 , tanto à temperatura ambiente como sob refrigeração.

Após o segundo mês à temperatura refrigerada, notou-se a diminuição significativa do pico 21 que passou de 1,8% para 1,5%, enquanto o pico representativo da mistura não resolvida M aumentou de traços para 2%. As mudanças que ocorreram entre o primeiro e o segundo mês de estocagem em geladeira foram menores do que aquelas evidenciadas para o mel armazenado à temperatura ambiente.

Após 3 meses de armazenamento, os picos numerados como 4 e 5 aumentaram, enquanto o pico 21 diminuiu significativamente ao nível de 5% de significância. O perfil dos compostos voláteis manteve-se igual àquele de T_0 (tempo zero, relativo ao mel recém extraído do favo) em que os picos/compostos majoritários foram 2, 16, nonanal, 5 e 15.

O pico 2 não mostrou diferença significativa após os três meses de armazenamento, enquanto à temperatura ambiente diminuiu consideravelmente.

Após 3 meses de armazenamento à temperatura ambiente, o mel de eucalipto sofreu um número maior de modificações nas porcentagens relativas dos compostos voláteis do que quando armazenado sob refrigeração.

5.4.2.2 - *Mel de Laranja*

Empregou-se nesta etapa o mel proveniente do lote 2 (tabela 5.2). O estudo do efeito do armazenamento sobre os compostos voláteis de mel de laranja foi feito após

1 e 2 meses de armazenamento à temperatura ambiente e sob refrigeração, porém os isolados do mel armazenado em geladeira por 1 mês (a duplicata) estavam contaminados e portanto excluídos da análise. Os resultados estão nas tabelas 5.5 e 5.6.

Após 1 mês de armazenamento à temperatura ambiente alguns compostos presentes como traços no mel recém extraído do favo (tempo 0), óxido cis de linalol, e os picos representativos de compostos voláteis não identificados 7, 19 e 31 aumentaram para 0,9%, 1,5% , 0,5% e 0,7% respectivamente. O pico 23 aumentou significativamente de 5% para 8%, enquanto o octanal diminuiu, passando de 3% para 1% e os picos numerados como 4 e 6 foram detectados apenas como traços. Um novo pico, representativo de composto volátil, numerado como 20, foi detectado.

Portanto, à temperatura ambiente após o primeiro mês de armazenamento, já ocorreu mudança qualitativa na composição dos compostos voláteis de mel de laranja. Os compostos/picos majoritários foram os mesmos do que os do mel recém extraído do favo, fenilacetaldéido, 2-isononenal, 26, 24 e 23, em ordem decrescente de porcentagem relativa.

Tabela 5.5 - Efeito do armazenamento à temperatura ambiente, nas porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de laranja ⁽¹⁾

*pico/composto	tempo 0 média	sd	1 mes média	ambiente sd	2 meses média	ambiente sd
4	1,2	0,4	tr	----	tr	----
6/ n-heptanal	4,6	1,5	tr	----	tr	----
7	tr	----	0,7	0,5	tr	----
8	tr	----	tr	----	tr	----
11/ benzaldeído	3,8a	0,1	5,2a	0,7	4,0a	0,1
12/ 6-metil -5-hepten-2- ona	0,8	0,1	1,2	0,1	tr	----
13	3,0a	0,4	3,1a	1,9	8,7b	0,9
15/ octanal	3,3a	0,2	1,3b	0,7	1,8b	0,2
16	3,9a	0,2	4,0a	2,3	10,8b	1,2
17	tr	----	0,9	0,8	3,3	0,0
18/ fenilacetaldéido**	17,5a	4,5	19,6a	3,6	7,6b	0,5
19/ óxido cis de linalol	tr	----	1,5	0,4	1,4	0,1
→20	nd	----	0,7	0,1	1,8	0,2
23	4,8a	0,8	7,7b	0,7	5,1a	0,0
24	8,4a	0,1	10,2a	4,0	12,3a	2,0
26	12,9a	2,1	12,3a	2,4	9,0a	0,8
27/ 2-isononenal	15,8a	3,0	15,7a	3,1	13,2a	1,2
29	4,4a	0,8	4,6a	1,0	3,9a	0,3
31	tr	----	0,5	0,1	1,5	0,0
34	2,3a	1,0	2,2a	1,0	3,7a	0,7
35	3,5a	0,4	4,1b	0,4	6,0c	0,2
36/ 1-p-menten-al	3,0a	0,4	3,7b	0,3	5,9c	0,5

(1) dados com a mesma letra, em uma mesma linha, não apresentam diferença significativa a 5%

* numeração correspondente à figura 3.2 (pág.63)

** dados com a mesma letra, em uma mesma linha, não apresentam diferença significativa a 10%

média de duplicata

sd = desvio padrão

tr = picos com porcentagem relativa < 0,5%

Tabela 5.6 - Efeito do armazenamento após 2 meses ,em geladeira, nas porcentagens relativas dos picos representativos dos compostos voláteis de mel de laranja ⁽¹⁾

* pico/ composto	tempo 0 média	sd	2 meses geladeira média	sd
4	1,2	0,4	tr	---
6/ n-heptanol	4,6	1,5	tr	---
7	tr	---	tr	---
8	tr	---	tr	---
11/ benzaldeído	3,8a	0,1	4,4b	0,1
12/ 6-metil - 5-hepten-2-ona	0,8a	0,1	1,2b	0,1
13	3,0a	0,4	3,6a	0,4
15/ octanal	3,3a	0,2	1,4b	0,2
16	3,9a	0,2	4,6a	0,5
17	tr	---	0,7	
18/ benzaldeído	17,5a	4,5	17,0a	1,0
19/ óxido cis de linalool	tr	---	1,6	0,1
→20	nd	---	0,8	0,1
23	4,8a	0,8	8,1c	0,1
24	8,4a	0,1	11,2a	1,4
26	12,9a	2,1	13,8a	1,2
27/ 2-isononenal	15,8a	3,0	17,2a	1,6
29	4,4a	0,8	4,7a	0,4
31	tr	---	0,6	0,0
34	2,3a	1,0	1,9a	0,2
35	3,5a	0,4	3,9a	0,1
36/ l-p-menten-al	3,0a	0,4	3,6a	0,5

(1) dados com a mesma letra, em uma mesma linha, não apresentam diferença significativa a 5%

* numeração correspondente à figura 3.2 (pág.63)

média de duplicata

sd = desvio padrão

tr = picos com porcentagem relativa < 0,5%

Várias modificações ocorreram após o segundo mês de armazenamento à temperatura ambiente, sendo que os compostos/pico 6-metil-5-hepten-2-ona, fenilacetaldeído, 23, diminuíram significativamente de 0,7%, 1%, 20% e 8% para

traços, traços, 8%, e 5% respectivamente, enquanto os picos/ compostos 13, 16, 20, 31, 35 e 1-p-menten-9 -al aumentaram de 3%, 4%, 0,7%, 0,5%, 4% e 4% para 9%, 11%, 2%, 2%, 6% e 6% respectivamente. O perfil de compostos voláteis sofreu modificação significativa quando comparado ao T_0 (tempo zero), e seus compostos/picos majoritários foram os 2-isononenal, 24, 16, 26, 13, fenilacetaldeído, com 13%, 12%, 11%, 9%, 9%, e 8% de porcentagem relativa, respectivamente.

O mel de laranja armazenado em geladeira por 2 meses mostrou composição de voláteis equivalente à do mel de laranja armazenado por 1 mês à temperatura ambiente, e em relação ao T_0 ocorreu aumento significativo ao nível de 5%, dos compostos/picos benzaldeído, 6-metil-5-hepten-2-ona, óxido cis de linalol, 17, 23 e 31, que passaram de 3,8%, 0,8%, traços, traços, 5% e traços para 4,4%, 1,2%, 1,6%, 0,7%, 8% e 0,6% respectivamente, enquanto o octanal diminuiu de 3% para 1,4% e os compostos representados pelo pico 4 e heptanol foram detectados apenas como traços. O perfil de compostos voláteis se manteve durante o armazenamento refrigerado.

Embora não seja comum o armazenamento de mel sob refrigeração, o que acelera sua cristalização, é importante mantê-lo sob condições controladas de temperatura, pois a flutuação da temperatura ambiente acarreta maiores modificações nos compostos voláteis, difíceis de serem previstas, conforme o relatado por WOOTON et alii (1978). Quando for necessário armazenar o mel por um tempo prolongado, o que levará à sua cristalização, é recomendável que este armazenamento seja feito sob refrigeração, para minimizar as alterações que ocorrem nos compostos voláteis.

Entre os compostos que apresentaram contribuição sensorial ao mel de eucalipto, nonanal, 2-heptanona, nonanol e os picos não identificados, 14 e 21, apenas o pico 21 teve sua porcentagem relativa significativamente alterada após o processamento (ao nível de 5%).

No armazenamento à temperatura ambiente o nonanol (queimado) não sofreu alteração quantitativa, o 2-heptanona (adocicado) e o pico 14 (laranja) diminuíram enquanto o pico 21(amargo) diminuiu já no 1º mês de armazenamento, mantendo-se constante após 3 meses. O nonanal (eucalipto), embora tenha sofrido flutuações quantitativas durante o tempo de estocagem, manteve a mesma porcentagem relativa ao mel recém extraído do favo. Na estocagem refrigerada, as mesmas modificações foram observadas, com exceção do nonanal, que aumentou.

No mel de laranja o fenilacetaldéido continuou sendo o composto majoritário após o processamento. Porém, após o armazenamento à temperatura ambiente por 2 meses, houve um decréscimo significativo deste composto, enquanto o óxido cis de linalol aumentou e o octanal diminuiu. Após 2 meses de estocagem refrigerada, o mesmo comportamento foi observado para estes compostos, com exceção do benzaldeído que aumentou de concentração e do fenilacetaldéido, que permaneceu constante.

Portanto, as modificações no aroma de mel de laranja devem ser maiores na estocagem à temperatura ambiente, já que neste caso, o fenilacetaldéido, o composto mais importante para o aroma característico de laranja, diminuiu significativamente.

5.5 - CONCLUSÕES

1. O aquecimento a 40°C levou a algumas mudanças significativas a 5% na porcentagem de área relativa dos componentes voláteis de mel de eucalipto. Para o mel de laranja, a análise de variância de dois fatores mostrou que não houve mudanças significativas a 5% de significância.
2. Os compostos voláteis presentes nos méis de eucalipto e laranja armazenados sofreram modificações quantitativas após o armazenamento. Essas mudanças foram maiores no mel armazenado à temperatura ambiente relativamente aquele armazenado em geladeira. Nenhum novo composto foi detectado em mel de eucalipto, em função do armazenamento, e um novo composto foi detectado em mel de laranja.

5. 6 - BIBLIOGRAFIA

- 01 - CRANE,E. . O livro do mel. Trad. Astrid Kleinert Giovannini 2ª ed. São Paulo, Ed.Nobel, 1985, 226p. 1986,25-27
- 02 - TATEO, F. . Il problema degli aromi nel miele. Industrie alimentaire.,Pinerola, 1982,97-100.
- 03 - VISSER,F.R., ALLEN,J.M. & SHAW,G.J. The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J.Apic.Res., Cardiff ,27(3): 175-181,1988
- 04 - WHITE,J.W. & SICILIANO,J. . Hydroxymethylfurfural and honey adulteration. J. Assoc. Off.Anal.Chem., Arlington, 63 (1): 7-18, 1980.
- 05 - WHITE,J.W.Jr. . Effect of storage and processing temperature on honey quality. Food Technol., Chicago, 18(4): 153-156, 1964.
- 06 - WOOTON,M. ,EDWARDS,R.A. & FARAJI-HAREMI - Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian Honeys.III Changes in volatile compounds . J.Apic.Res., Cardiff, 17(3): 167-172, 1978.

CAPÍTULO VI

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MÉIS DE EUCALIPTO E LARANJA ADQUIRIDOS NO COMÉRCIO

VI - PERFIL CROMATOGRÁFICO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE MEL DE EUCALIPTO E LARANJA ADQUIRIDOS NO COMÉRCIO

6.1 - INTRODUÇÃO

O mel é um alimento composto em sua maior parte de açúcares e água. No entanto, méis provenientes de origens florais diferentes possuem aroma e sabor característicos, o que evidencia a importância dos compostos voláteis, presentes como traços na composição desse produto.

À partir da década de 50, com a introdução da tecnologia de produção do xarope de milho, observou-se o aumento da oferta de méis fraudados no comércio (WHITE, 1987). Isso ocorre porque o mel tem um alto custo, enquanto o xarope de milho possui baixo valor comercial. O consumidor não tem como defender-se, a não ser pela intervenção dos organismos de fiscalização. Ainda assim, as análises efetuadas não resultam em certeza absoluta de produto não adulterado. No Brasil, embora as condições climáticas sejam diferentes e a abelha mais freqüentemente usada na apicultura seja a *Apis mellifera* "africanizada", os parâmetros de controle utilizados são os mesmos que aqueles empregados nos países do hemisfério Norte.

Este é apenas um dos problemas relativos à comercialização de mel, pois outros também acontecem, como má condição sanitária (SOUZA, 1988), descrição errônea da origem botânica no rótulo, e exposição para venda de produto de baixa qualidade (que tenha sofrido aquecimento drástico ou esteja armazenado por longo período) (WHITE, 1978).

Visto que os compostos voláteis, responsáveis pelo aroma característico de méis de diferentes origens florais, sofrem mudanças quando o mel é exposto ao calor ou ao armazenamento (VISSER et alii, 1988 ; WOOTON ET ALII, 1978; MAGA, 1983; TATEO, 1982), torna-se interessante verificar se os méis rotulados como monoflorais (laranja e eucalipto), disponíveis no comércio, apresentam um perfil cromatográfico característico, perfil esse que poderia ser usado como critério de qualidade.

6.2 - OBJETIVO

Verificar a variabilidade relativa ao perfil cromatográfico de compostos voláteis de mel de eucalipto e laranja comercializados.

6.3 - MATERIAL E MÉTODOS

6.3.1 - Seleção da Matéria Prima

Sete amostras de méis de eucalipto, e cinco amostras de mel de laranja provenientes da região sudeste (São Paulo e Minas Gerais) foram adquiridos em estabelecimentos comerciais.

6.3.2 - Amostragem

Trezentos gramas de cada mel foram homogeneizados com 200 ml de água e submetidos à análise.

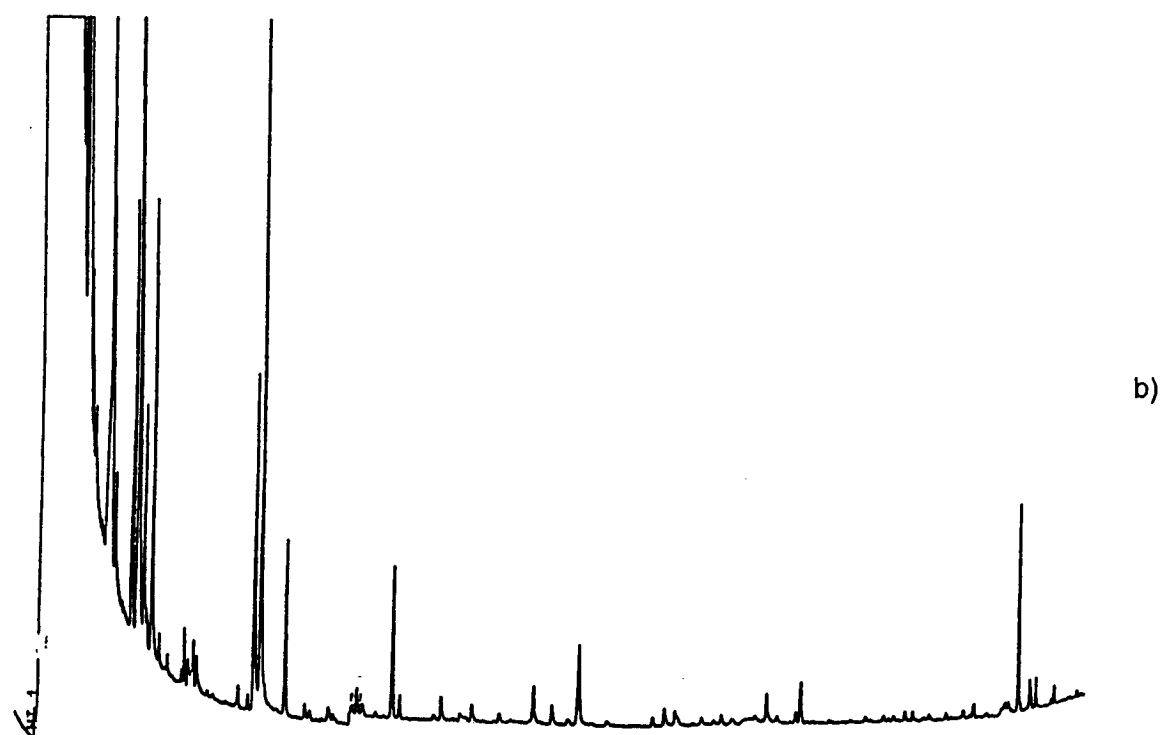
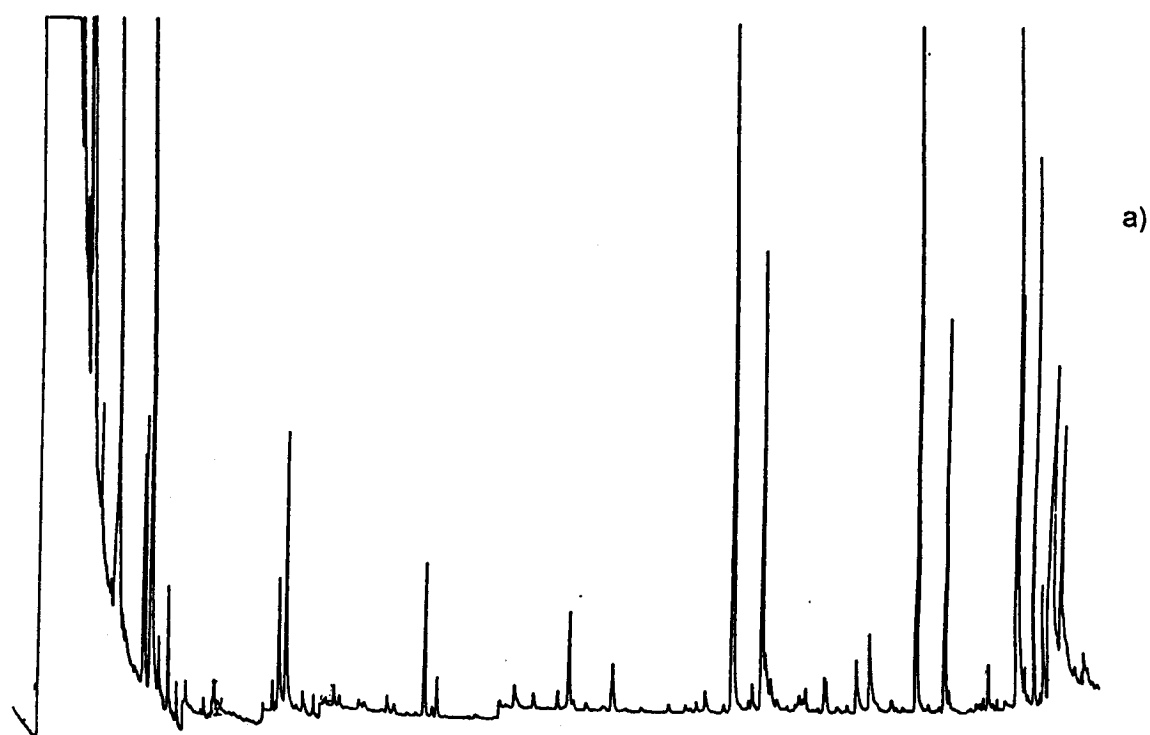
6.3.3 - Isolamento e Cromatografia dos Compostos Voláteis de Mel

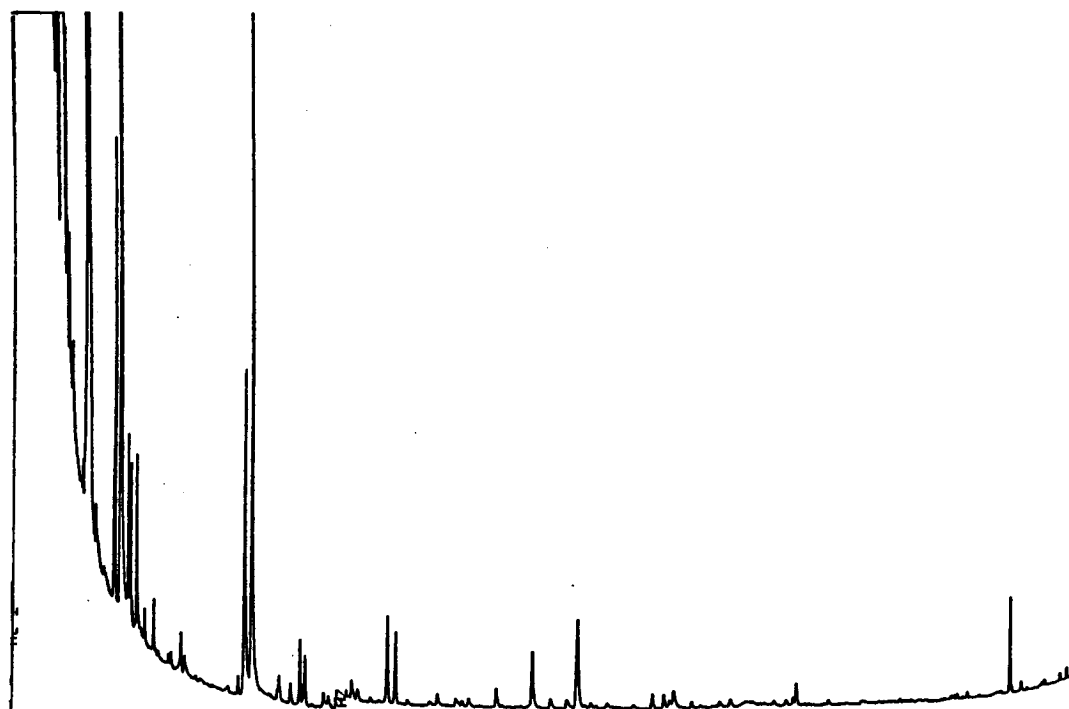
O procedimento de isolamento e separação estão descritos nas sessões 3.3.3.1 e 3.3.3.2, exceto que a análise cromatográfica dos méis de eucalipto foi feita injetando-se 1µl de amostra no cromatógrafo.

6.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

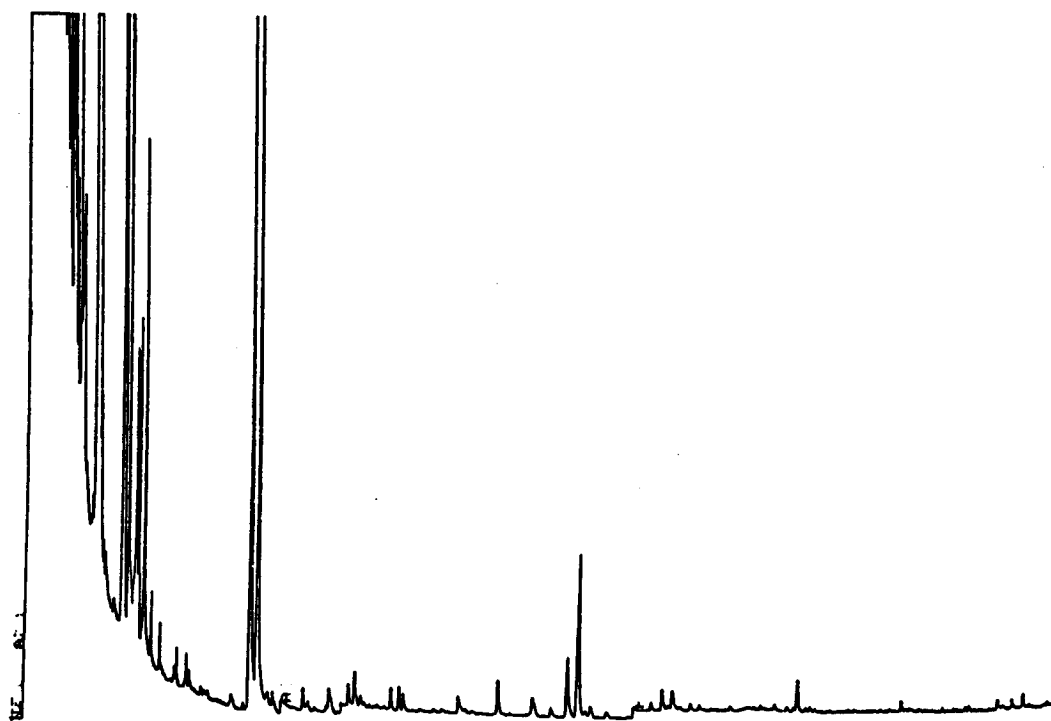
As figuras 6.1 e 6.2 mostram os cromatogramas relativos aos compostos voláteis dos méis de eucalipto e laranja adquiridos no comércio, respectivamente.

Figura 6.1- Comparação do perfil cromatográfico dos compostos voláteis de mel de eucalipto adquiridos no comércio

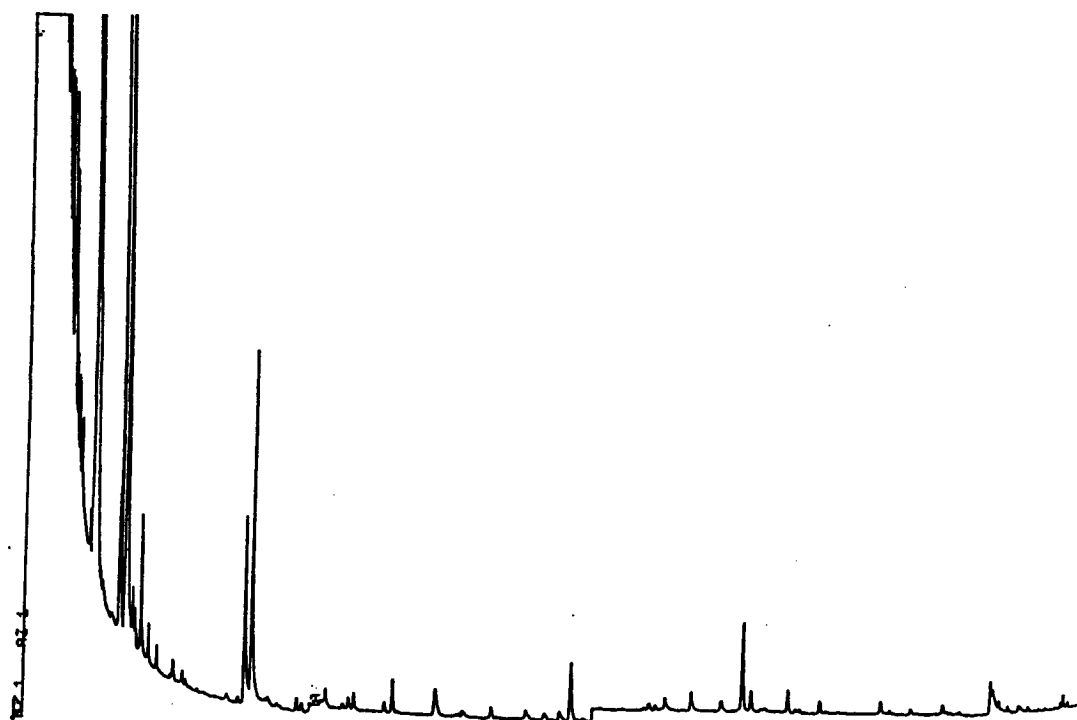




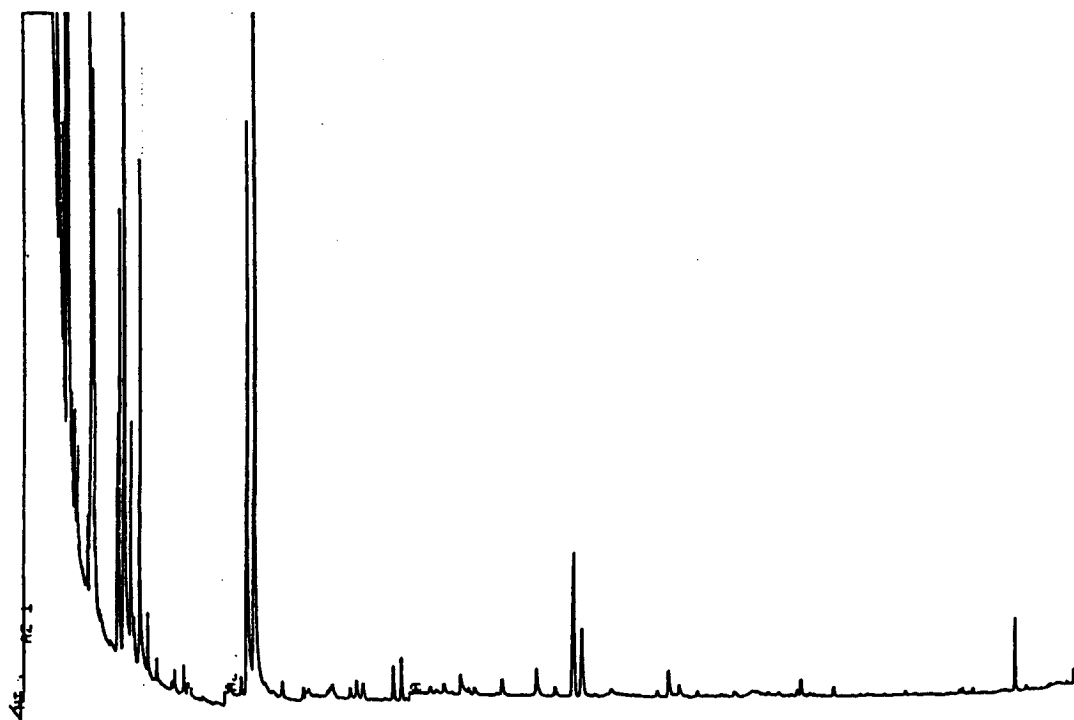
c)



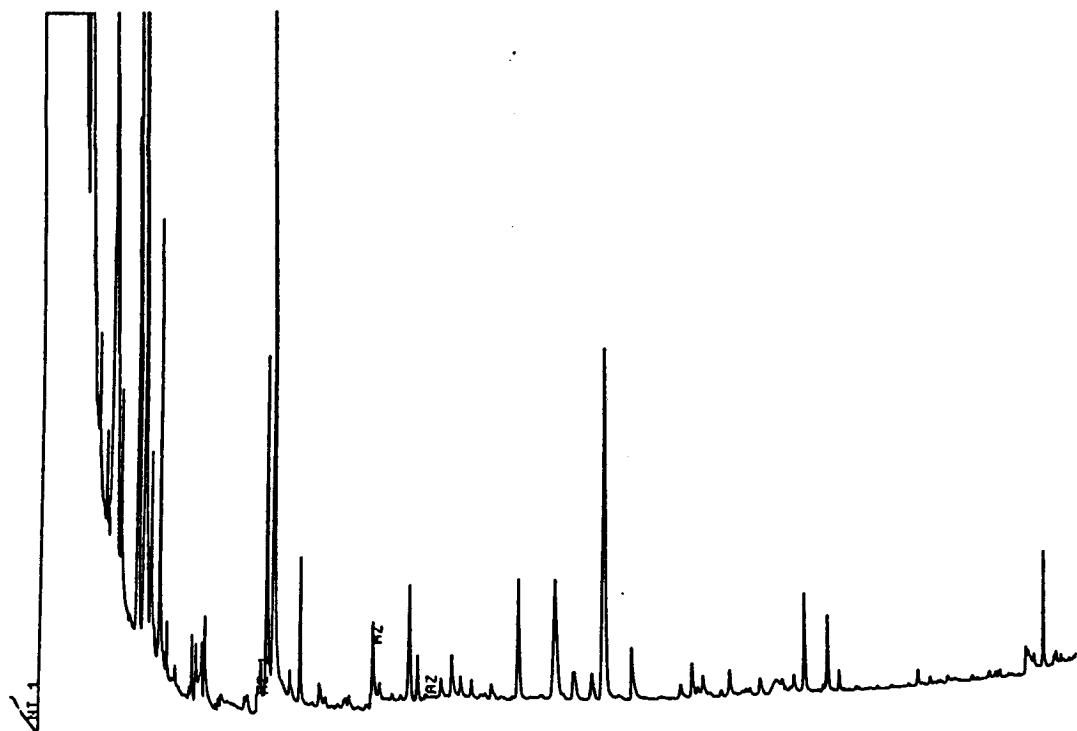
d)



e)



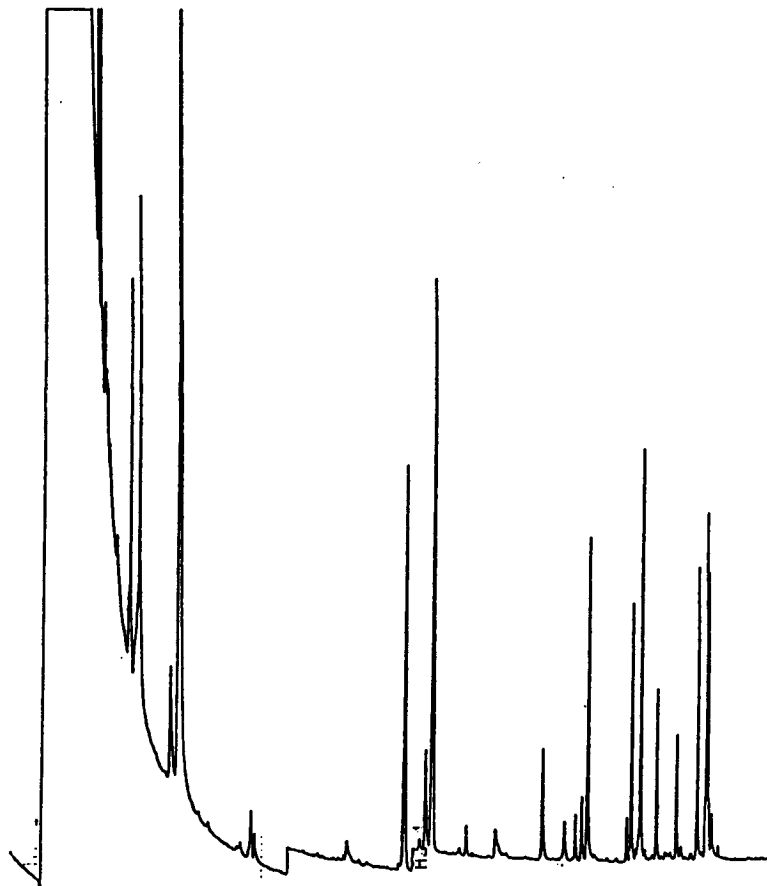
f)



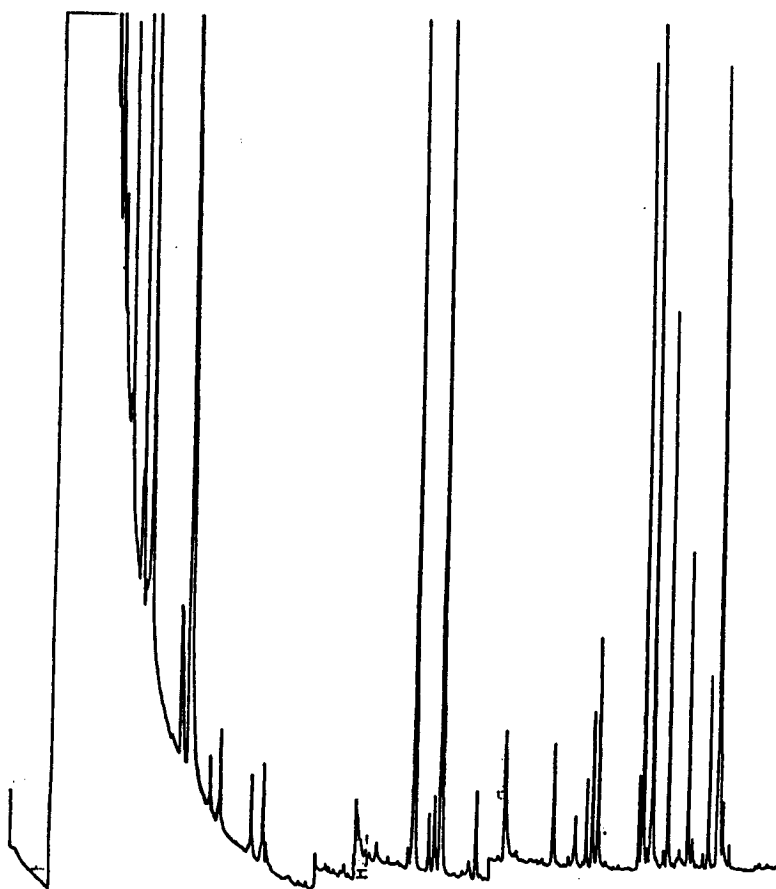
g)

LEGENDA:

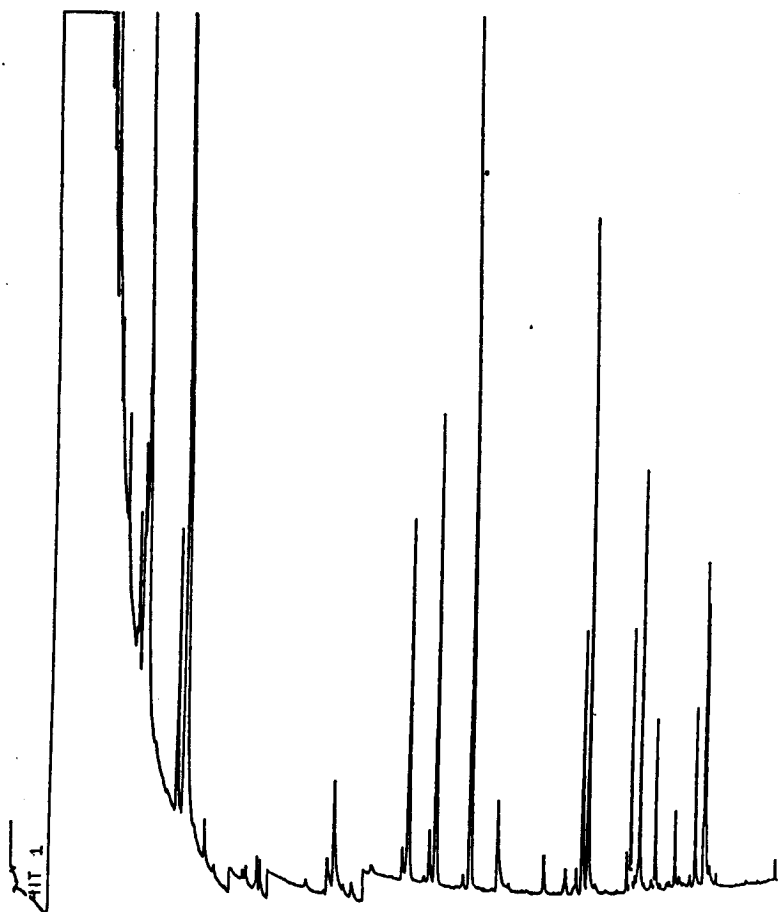
- a) Eucalipto 1
- b) Eucalipto 2
- c) Eucalipto 3
- d) Eucalipto 4
- e) Eucalipto 5
- f) Eucalipto 6
- g) Eucalipto 7



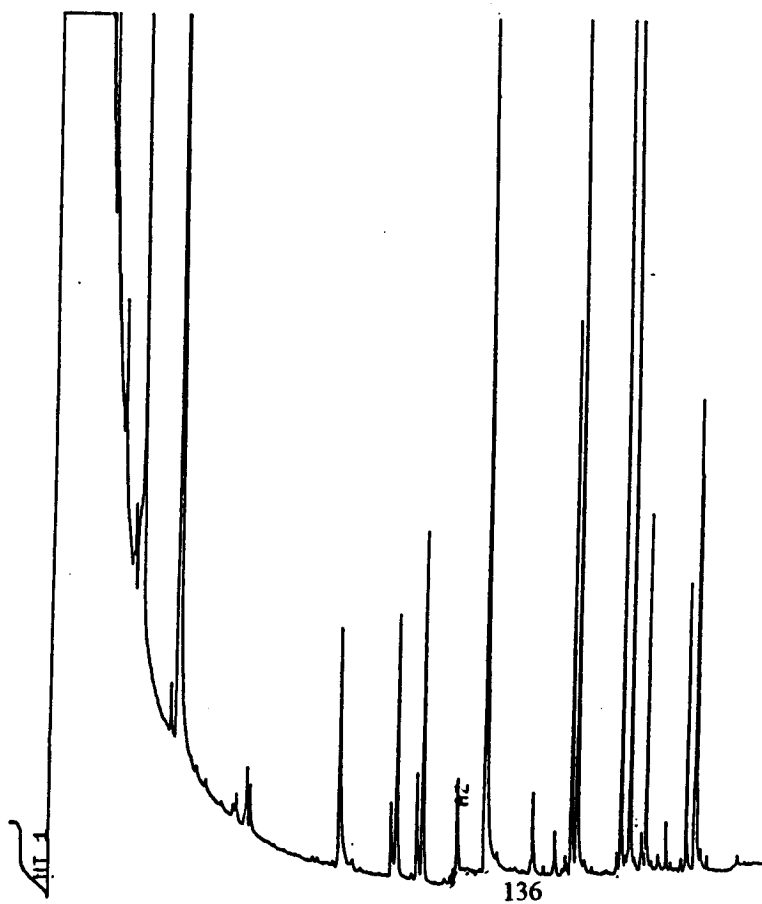
a)



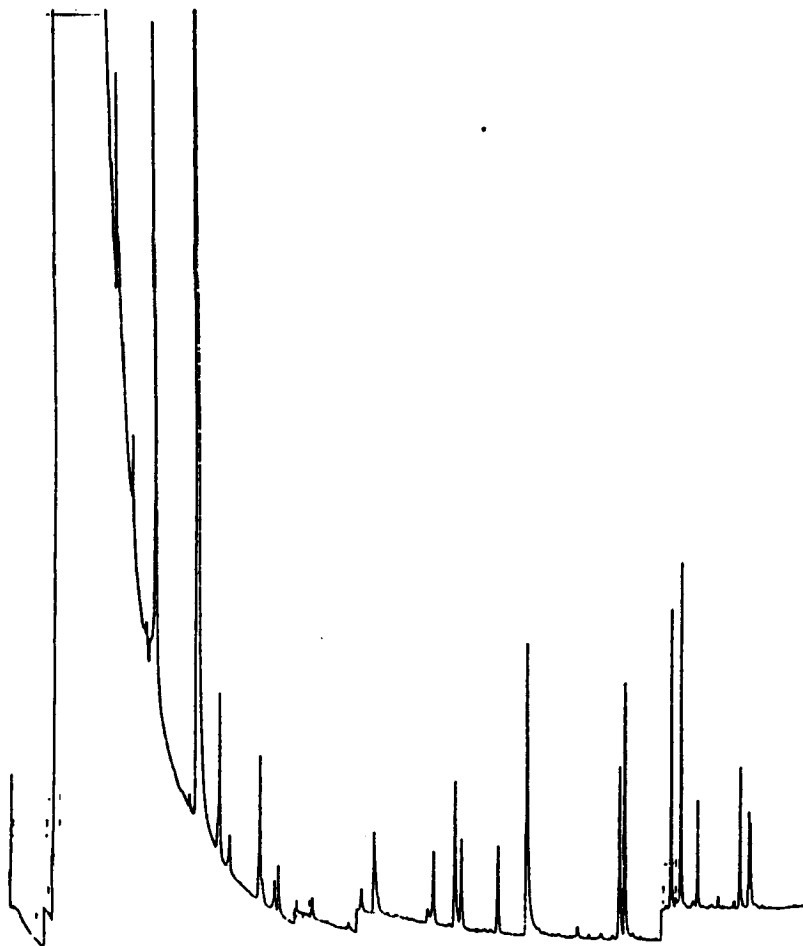
b)



c)



d)



e)

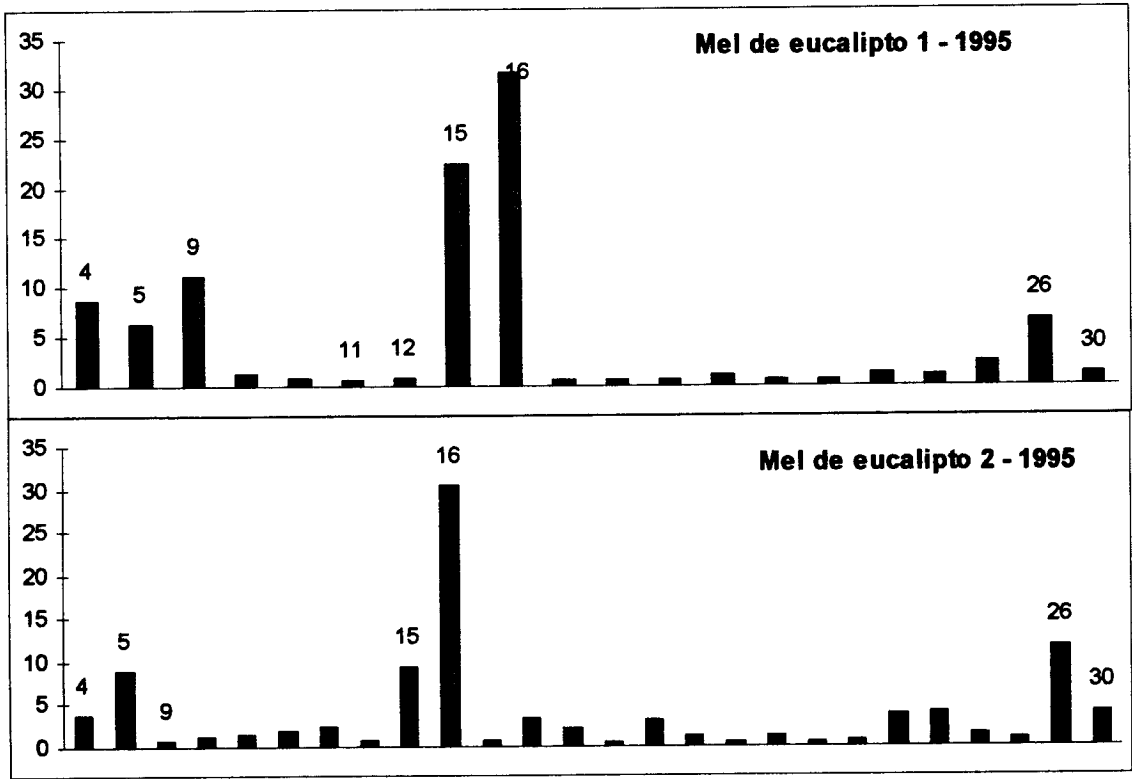
LEGENDA:

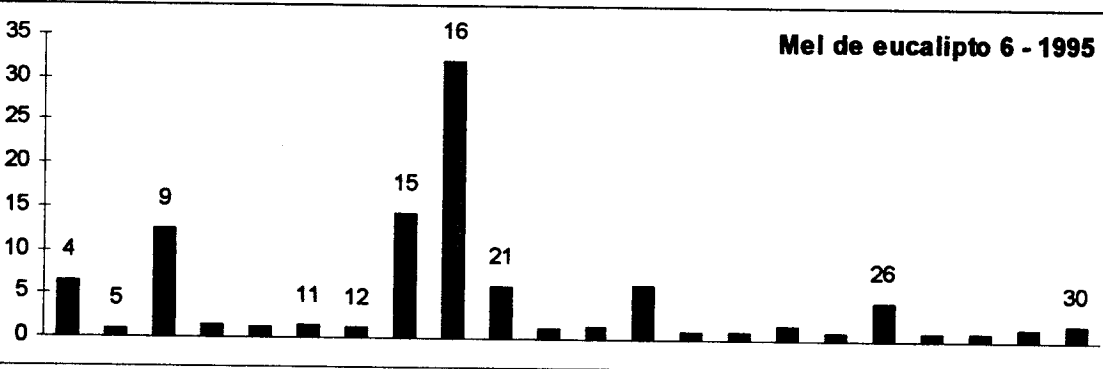
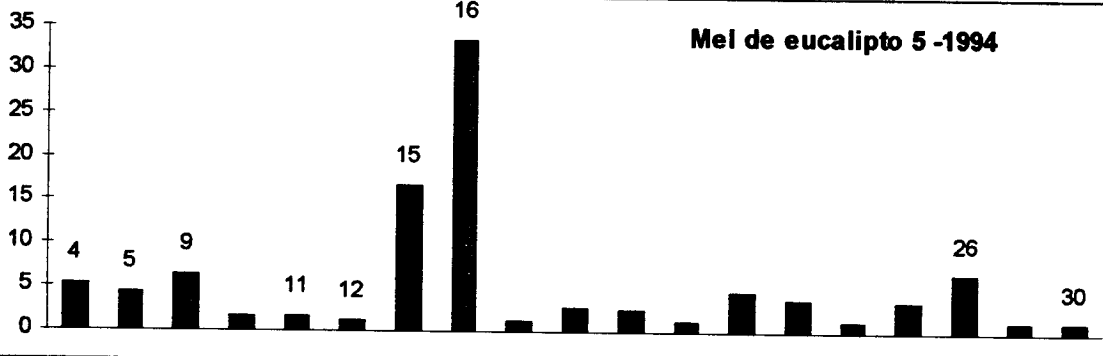
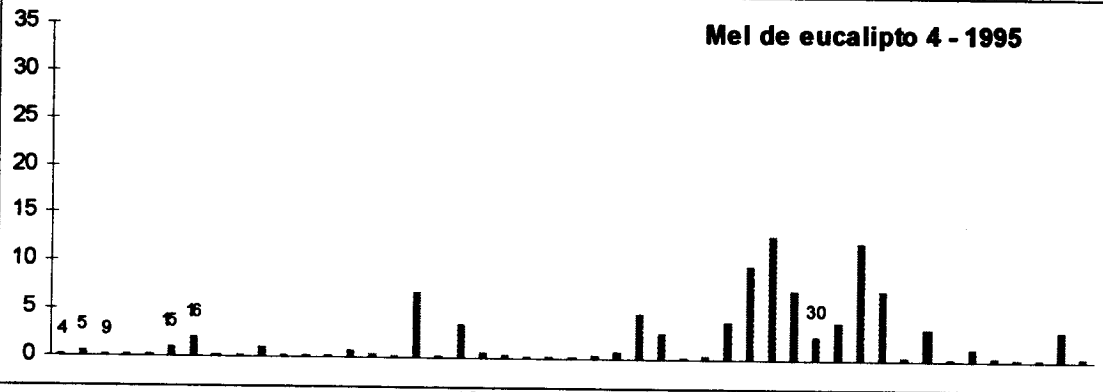
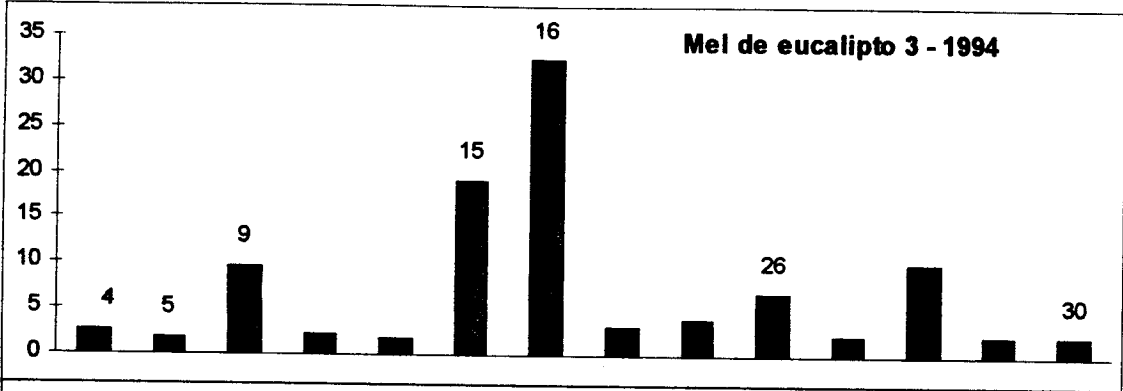
- a) Laranja 1
- b) Laranja 2
- c) Laranja 3
- d) Laranja 4
- e) Laranja 5

6.4.1 - Mel de Eucalipto

A figura 6.3 mostra uma comparação entre as porcentagens de área dos compostos encontrados em méis comerciais de eucalipto. Em todos os méis, com exceção do mel 4, os picos representativos de compostos voláteis numerados como 15 e 16 foram os mais abundantes e, assim como o mel recém extraído do favo (Fig. 3.1, pág. 60 / tabela 3.1, pág 61), apresentaram os picos representativos de compostos voláteis numerados como 4, 5, 2-heptanona, nonanal e nonanol. No entanto, o nonanal diminuiu drasticamente em relação ao mel recém colhido. No armazenamento este composto diminuiu após 3 meses de armazenamento em geladeira e à temperatura ambiente, alcançando significância estatística na estocagem refrigerada (capítulo 5). A tabela 6.1 traz a amplitude de compostos, em comum, presentes nos méis de eucalipto comerciais analisados.

Figura 6.3 - Comparação da porcentagem de área dos picos representativos dos compostos voláteis de méis comerciais de eucalipto. A data constante é a de envase.





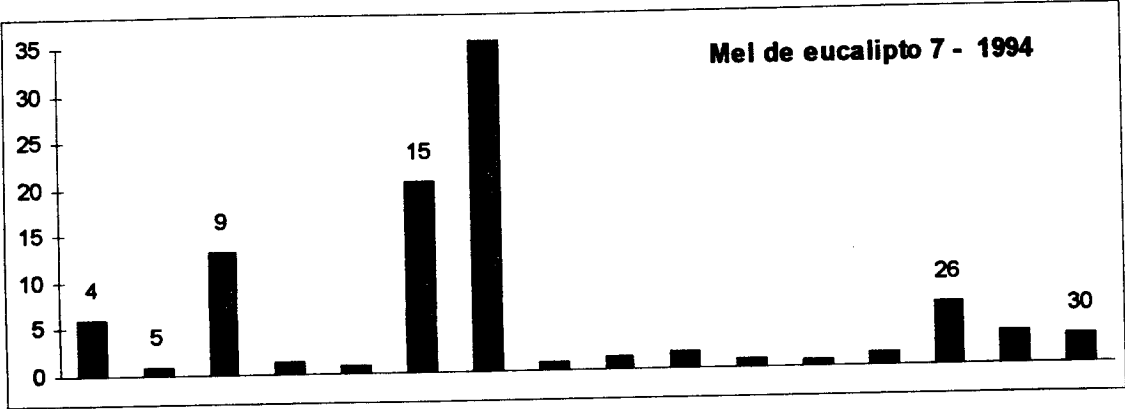


Tabela 6.1 - Amplitude dos compostos voláteis em comum presentes nos méis de eucalipto comerciais

*PICO/COMPOSTO	AMPLITUDE (%)	MÉDIA (%)
4	3,7-8,7	5,55
11/2-heptanol	0,8-8,8	3,39
9	0,8-13,2	9,42
15	8,6-22,3	15,79
16	25,7-41,1	32,37
26/nonanal	4,3-27,1	9,96
30/nonanol	1,2-4,0	2,47

* numeração correspondente à figura 3.1 (pág. 60)

O mel de eucalipto 4 diferiu do perfil cromatográfico dos demais e apresentou vários compostos majoritários na região final do cromatograma. Este mel, que foi identificado como de eucalipto pela análise polínica, foi colhido em uma região de cana de açúcar, o que poderia explicar esse perfil diferenciado.

Foi mantida a proporcionalidade constante entre os picos representativos dos compostos voláteis 15 e 16 para todos os méis de eucalipto analisados (com exceção do mel de eucalipto 4).

6.4.2 - Mel de Laranja

A figura 6.4 apresenta uma comparação da porcentagem de área dos compostos voláteis de méis comerciais de laranja. A numeração é equivalente àquela do estudo do processamento. A tabela 6.2 traz a amplitude de compostos voláteis em comum, presentes nos méis de laranja comerciais analisados.

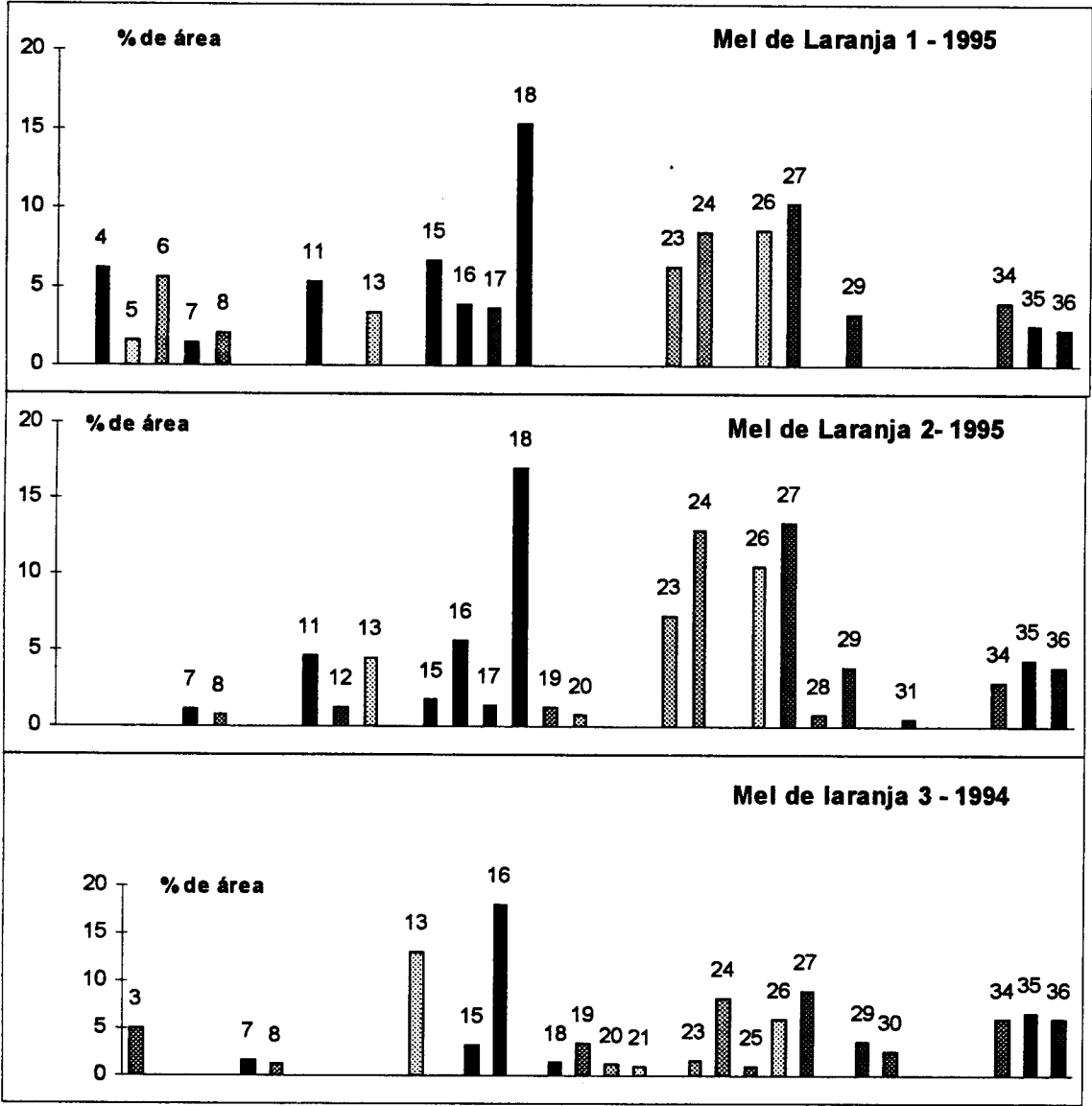
Tabela 6.2- Amplitude dos compostos voláteis em comum presentes nos méis de laranja comerciais

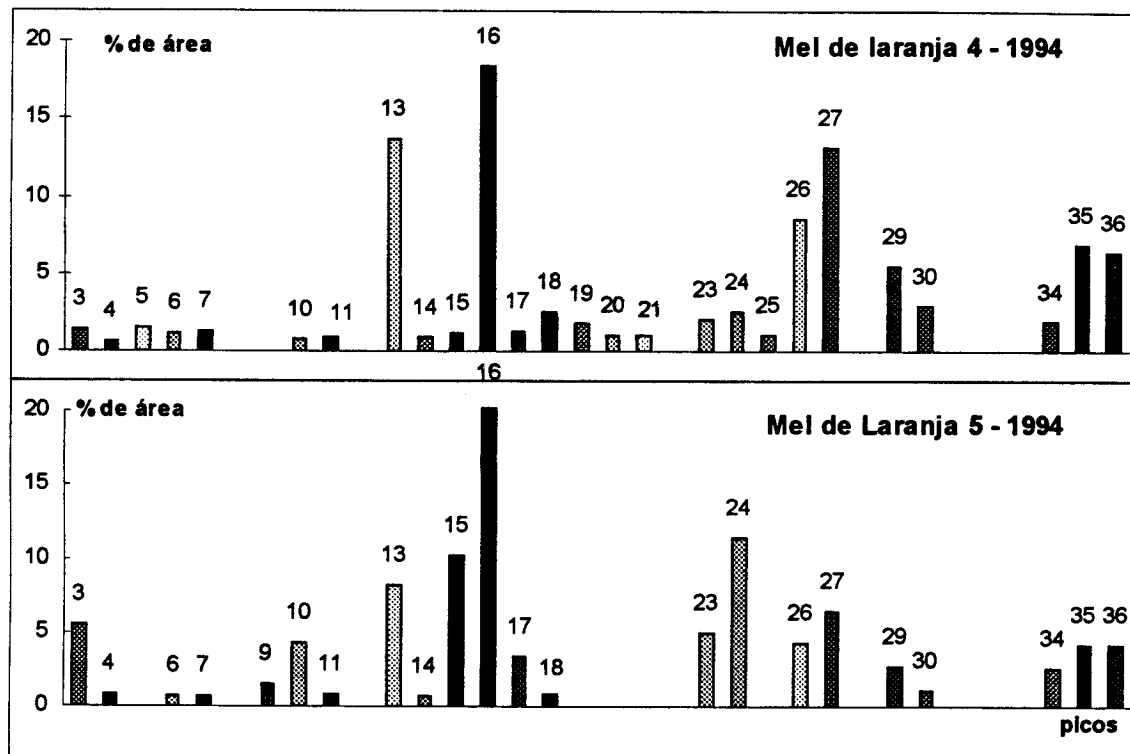
PICO/COMPOSTO	AMPLITUDE (%)	MÉDIA (%)
15/octanal	1,2-10,2	4,6
16	3,9-20,5	13,3
16/fenilacetaldeido	0,8-17	7,4
23	2,0-7,2	4,4
24	2,6-12,9	8,7
26	4,3-10,5	7,6
27/2-isononenal	6,4-13,4	10,4
29	3,3-5,5	3,8
34	1,9-6,0	3,5
35	2,5-6,9	4,9
36/1- p-menten9-al	2,3-6,4	4,6

* numeração correspondente à figura 3.2 (pág. 63)

Os méis comerciais de laranja apresentaram um perfil característico de compostos voláteis. Os compostos majoritários dos méis 1 e 2 foram os fenilacetaldeido, 2-isononenal, os picos numerados como 24 e 26 e não identificados, e o 1-p-menten-9-al em ordem decrescente de porcentagem relativa.

Figura 6.4 - Comparação da porcentagem de área dos picos representativos dos compostos voláteis de méis comerciais de laranja - A data constante é a do envase.





Esses méis foram analisados no mesmo ano de sua colheita, e sua composição foi equivalente àquela do mel recém extraído do favo (tabela 3.2).

A composição quantitativa de voláteis do mel de laranja comercializado após um ou dois anos de sua colheita (méis 3, 4 e 5) diferiu em relação ao mel envasado recém colhido (méis 1 e 2), e os compostos majoritários foram os picos numerados como 13 e 16 não identificados. Estes compostos foram os mesmos que aumentaram de concentração durante o armazenamento (tabelas 5.3 e 5.5 - págs.115 e 119). Após o primeiro ano de armazenamento esse mel apresentou uma diminuição dos compostos fenilacetaldeído, benzaldeído e 1-p-menten-9- al, que apresentaram contribuição sensorial .

Os méis de laranja comercializados mostraram, de maneira consistente, uma porcentagem relativa menor do fenilacetaldeído em relação ao mel recém extraído do favo.

6.4.3 - Análise Polínica

O resultado da análise polínica encontra-se na tabela 6.3.

Tabela 6.3 - Tipo e porcentagem de grãos de pólen encontrados nos méis de eucalipto e laranja

EUCALIPTO COMERCIAL	ESPECIE VEGETAL	%	FAMÍLIA	NOME COMUM
Eucalipto 1	<i>Eucalyptus sp</i> outros	96,1 3,9	Myrtaceae	eucalipto
Eucalipto 2	<i>Eucalyptus sp</i> <i>Paspalum notarum</i> outros	97,9 1,9 0,2	Myrtaceae Graminae	eucalipto grama-comum
Eucalipto 3	<i>Eucalyptus sp</i> outros	97,9 0,5	Myrtaceae	eucalipto
Eucalipto 4	<i>Eucalyptus sp</i> <i>Baccharis sp</i> outros	96,5 1,6 1,9	Myrtaceae Compositae	eucalipto vassoura
Eucalipto 5	<i>Eucalyptus sp</i> <i>Baccharis sp</i> outros	95,4 2,4 2,2	Myrtaceae Compositae	eucalipto vassoura
Eucalipto 6	<i>Eucalyptus sp</i> <i>Mimosa bimocrunata</i> outros	76,7 20,3 3,0	Myrtaceae	eucalipto
Eucalipto 7	<i>Eucalyptus sp</i> outros	99,5 0,5	Myrtaceae	eucalipto
LARANJA COMERCIAL:				
Laranja 1	<i>Citrus sinensis</i> <i>Eucalyptus sp</i> outros	79,4 1,9 18,7	Rubiaceae Myrtaceae	laranja eucalipto
Laranja 2	<i>Citrus sinensis</i> <i>Eucalyptus sp</i> <i>Cecropia pachystachya</i> outros	47,0 45,2 4,9 2,9	Rubiaceae Myrtaceae Moraceae	laranja eucalipto embaúba
Laranja 3	<i>Citrus siniensis</i> <i>Baccharis sp</i> outros	35,7 35,8 28,5	Rutaceae Compositae	laranjeira vassoura
Laranja 4	<i>Citrus sinensis</i> <i>Eucalyptus sp</i> outros	30,5 32,2 37,3	Rubiaceae Myrtaceae	laranja eucalipto
Laranja 5	<i>Citrus sinensis</i> <i>Eucalyptus sp</i> outros	36,4 53,4 10,2	Rubiaceae Myrtaceae	laranja eucalipto

O laudo fornecido mostra que os méis analisados eram de eucalipto e laranja.

6.5 - CONCLUSÕES

1. Os méis comerciais de eucalipto apresentaram como picos majoritários os não identificados e numerados como 15 e 16, com exceção de apenas uma amostra. A abundância relativa do nonanal, presente em todas as amostras, foi bem menor do que aquela encontrada no mel recém extraído do favo.

2. Os méis de laranja comerciais apresentaram um perfil qualitativo semelhante, e o pico majoritário foi o não identificado e numerado como 16, diferentemente do mel recém extraído do favo e do mel comercial recém colhido, que apresentaram como composto majoritário o fenilacetaldéido. Durante o armazenamento, também ocorreu a diminuição da porcentagem relativa deste composto.

6.6 - BIBLIOGRAFIA

- 01 - BICCHI,C.,BELLIARDO,F. & FRATTINI,C. Identification of the volatile components of some piedmontese honeys. J.Apic.Res., Cardiff, 22 (2): 130-136,1983
- 02 - MAGA,J.A. - Honey flavor . Lebesm.Wiss.u.Technol., 16 , p. 65-68, 1983.
- 03 - SOUZA,M.L.A. Considerações sobre as propriedades do mel. Ci. Méd. Niterói, 7(1/2): 49-51, 1988.
- 04 - TATEO, F. . Il problema degli aromi nel miele. Industrie alimentare.,Pinerola, 97-100, 1982
- 05 VISSER,F.R.,ALLEN,J.M. & SHAW,G.J. .The effect of heat on the volatile flavor fraction from a unifloral honey. J.Apic-.Res., Cardiff, 27(3): 175-181,1988.

- 06 - WOOTON,M. ,EDWARDS,R.A. & FARAJI-HAREMI . Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian Honeys.III Changes in volatile compounds . J.Aplic.Res., Cardiff, 17 (3): 167-172 , 1978.
- 07 - WHITE,J.W.JR. . Honey. Adv. Food Res.,New York, 24 : 284-374 , 1978
- 08 - _____ . Wiley led the way: A century of federal honey research. J. Assoc. Off. Anal. Chem. , Arlington, 70 (2): 181- 189, 1987.

CAPÍTULO VII

CONCLUSÕES GERAIS SEGUNDO OS OBJETIVOS PROPOSTOS

VII - CONCLUSÕES GERAIS SEGUNDO OS OBJETIVOS PROPOSTOS

As conclusões gerais, resultantes dos objetivos propostos foram:

O método de isolamento proposto, "Headspace Dinâmico", empregando um tempo de captura de 3 horas e acetona como solvente para eluição dos compostos do polímero poroso, permitiu estudar os compostos voláteis de mel de eucalipto e laranja, resultando no isolamento de compostos que conferem contribuição sensorial característica de cada tipo de mel.

Os méis extraídos dos favos mostraram possuir um perfil de voláteis semelhante, qualitativamente, em função da mesma origem floral, independente do ano ou do local de colheita, e totalmente distintos entre as origens florais estudadas.

O nonanal foi detectado com maior porcentagem relativa no mel de eucalipto recém extraído do favo, e em menor no mel comercializado. Este composto e o nonanol, tentativamente identificado, apresentaram grande importância sensorial ao mel de eucalipto, descritos sensorialmente como eucalipto e queimado, respectivamente.

O fenilacetaldéido, detectado como composto majoritário no mel de laranja recém extraído do favo, apresentou uma diminuição na sua abundância relativa no mel comercializado. Este composto e o benzaldeído, cuja identidade foi confirmada, apresentaram importante contribuição sensorial ao mel de laranja.

O aroma e o sabor do mel de eucalipto, descritos sensorialmente como "queimado", diferiram sensorialmente do aroma e sabor do mel de laranja, descrito como "floral", "cera".

O processamento alterou o perfil de compostos voláteis presentes no mel. O aquecimento brando do mel, 40°C/3 horas, provocou modificações no perfil de compostos voláteis.

O armazenamento do mel por 1, 2 e 3 meses provocou mudanças nos compostos voláteis. Estas mudanças foram maiores no mel armazenado à temperatura ambiente. Nenhum novo composto foi detectado em mel de eucalipto e um novo pico representativo dos compostos voláteis, não identificado, foi detectado em mel de laranja após o armazenamento.

O mel disponível no comércio apresentou um perfil característico de compostos voláteis, para cada origem botânica. O mel de eucalipto apresentou maior variabilidade que o de laranja. Os compostos importantes para o aroma característico desses dois tipos de mel diminuíram consideravelmente de porcentagem relativa nos méis comercializados no ano seguinte à colheita.