Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Aplicação do índice de *Kirkwood* para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC)

Kirkwood discriminant function application to distinguishing floral honey from honeydew honey

Fabiana Maria de Siqueira Mariano-da-Silva[1], Samuel Mariano-da-Silva[2], Antonio Paulino da Costa-Netto[2]

[1]Universidade Estadual de Goiás (UEG), Departamento de Tecnologia em Alimentos, Unidade Universitária de Jataí. Av. 31 de maio s/n, setor Epaminondas, CEP.75800.000, Jataí (GO). E-mail: fmdsmds@uol.com.br
2 Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí (GO)

Resumo. Para que um controle efetivo da qualidade dos méis seja feito, estes precisam ser caracterizados e identificados de acordo com suas características químicas. Com o objetivo de estudar a eficiência do índice de Kirkwood em diferenciar mel floral e de melato produzidos no município de Bom Retiro (SC), amostras de mel foram coletadas em dez apiários durante duas épocas do ano (29/12/2009 a 05/01/2010 e 15/04/2009 a 20/04/2010). Foram determinados os teores de cinzas, açúcares redutores (AR) e pH, sendo os resultados utilizados na aplicação da equação de Kirkwood. O índice de *Kirkwood* se mostrou eficiente em diferenciar mel floral e de melato. A variação nos teores de cinzas, pH e açúcares redutores nos méis confirmou que estes parâmetros são decisivos na diferenciação de mel floral e de melato.

Palavras-chave. Açúcares redutores, cinzas, mel de bracatinga, pH.

Abstract. The honeys need to be characterized and identified, so that a control can be made based on its chemical characteristics. In order to test the efficiency of the Kirkwood discriminant function in distinguishing floral honey and honeydew honey, sampling was made in ten different apiaries in two different periods of time (29/december/2009-05/january/2010 and 15/april/2009-20/april/2010) in Bom Retiro Conty-SC. The samples were tested for ash, pH and reducing sugars. The results were used in the application of Kirkwood equation. The efficiency of Kirkwood linear discriminant function for distinguishing honeydew and floral honey was confirmed. The ash, pH and reducing sugars parameters are decisive in to classify honey as floral or honeydew

Keywords. Ash, Bracatinga honey, pH, reducing sugars.

Introdução

Por ser composto exclusivamente de carboidratos, o mel é hoje considerado um alimento de alto valor energético. Possui ainda vários minerais, proteínas, ácidos orgânicos, vitaminas, hormônios, enzimas e pigmentos vegetais (Bogdanov, 2011; Douglas, 2009; Wiese, 1982). Sendo produzido naturalmente pelas abelhas, pode ser elaborado a partir do néctar das flores (mel floral), ou de secreções de partes vivas das plantas e de insetos sugadores de partes vivas das plantas (mel de melato ou "honeydew") (Douglas, 2009; Mercosul/GMC, 1999).

Em muitos países, devido suas propriedades medicinais, o mel de melato é mais valorizado que o mel floral (Prodolliet & Hischenhuber, 1998). No Brasil, visto seu tamanho e variação de zonas climáticas, podemos encontrar pseudo mel de várias procedências. No estado de Santa Catarina, especificamente, existe o famoso mel de bracatinga, com sabor, cor e propriedades características (Wiese, 1982).

O mel de bracatinga é produzido pelas abelhas à partir do peseudo néctar excretado por cochonilhas (*Tachardia ingae* Hempel, 1900, *Ceroplastes iheringi* Ckll., 1895 e *Pseudokermes nitens* Ckll., 1895) que vivem sobre o caule da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) (Costa, 1949), leguminosa muito comum no Planalto Serrano Catarinense. As fêmeas destes insetos sugam a seiva da árvore e excretam uma substância adocicada (sobre o tronco e as folhas) que serve de cultura para um fungo do gênero Capnodiun, vulgarmente conhecido pelo nome de fumagina (Lima, 1942). Segundo a indicação de

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Barros (1962), este falso néctar coberto de fumagina é aproveitado pelas abelhas entre os meses de março e abril, já que em Santa Catarina a bracatinga floresce de julho a setembro (Wiese, 1982).

O mel de melato possui menor teor de glicose que o mel floral, razão pela qual não cristaliza. Apresenta também menor teor de frutose, maior teor de oligossacarídeos e de cinzas, maior pH e maior teor de nitrogênio (Doner, 1977; Moreira & De-Maria, 2001; Siddiqui, 1970). No caso específico do mel de bracatinga, a composição varia de acordo com a composição da excreção dos insetos que sugam o fluído do floema (Wiese, 1982).

Os méis de melato, sendo uma ocorrência natural, precisam ser caracterizados e identificados, para que desta maneira possa ser feito um controle sobre a qualidade do produto. É preciso estar atento aos mercados consumidores para que haja uma boa aceitação, principalmente pelo mercado externo que é mais exigente, inclusive o Mercosul (Campos et al., 2001).

Kirkwood et al. (1960; 1961), analisaram várias amostras de mel de melato e mel floral, e, após verificar os parâmetros que mais variavam, estabeleceram uma equação baseada em estudos matemáticos para ser aplicada utilizando os resultados de pH, cinzas na matéria seca e açúcares redutores na matéria seca, obtendo uma função discriminativa x e estabelecendo, para diferenciação, o valor limite 73,1, abaixo do qual o mel é considerado de melato.

A finalidade do presente trabalho foi determinar algumas características do mel floral e de melato produzidos em Bom Retiro (SC) e utilizar estas características para verificar a eficiência do índice de *Kirkwood* em diferenciar os dois tipos de mel.

Material e Métodos

Foram utilizadas 20 amostras de mel, oriundas de 10 apiários, colhidas aleatoriamente em duas épocas do ano em cada apiário (Tabela 1).

As amostras de mel floral e de melato foram gentilmente cedidas pelo apicultor Brando Mariano da Silva, proprietário do apiário Santo Antônio, cuja sede é localizada no Distrito de Paraíso da Serra, Município de Bom Retiro (SC), conforme Figura 1.

Tabela 1. Identificação dos apiários localizados na região do distrito de Bom Retiro – SC e data em que a amostragem foi realizada.

AMOSTRA	APIÁRIO	DATA DA AMOSTRAGEM	LOCALIZAÇÃO DO APIÁRIO (distrito de Bom Retiro)
1	Chifre do Gino	03/01/2010	Paraíso da Serra
2	Chifre do Gino	15/04/2010	Paraíso da Serra
3	Carreador	05/01/2010	Campo Novo
4	Carreador	18/04/2010	Campo Novo
5	Furna Grande	29/12/2009	João Paulo
6	Furna Grande	19/04/2010	João Paulo
7	Campinho	03/01/2010	Cara Suja
8	Campinho	16/04/2010	Cara Suja
9	Chumbeiro	02/01/2010	Casa Velha
10	Chumbeiro	20/04/2010	Casa Velha
11	Figueira	04/01/2010	Santa Clara
12	Figueira	15/04/2010	Santa Clara
13	Nambú	03/01/2010	Dois Irmãos
14	Nambú	16/04/2010	Dois Irmãos
15	Tifa grande	02/01/2010	Matadouro
16	Tifa grande	18/04/2010	Matadouro
17	Panelão	29/12/2009	Panelão
18	Panelão	20/04/2010	Panelão
19	Laranjeira	04/01/2010	Laranjeira
20	Laranjeira	15/04/2010	Laranjeira

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Toda a vidraria reutilizável foi previamente imersa, por 4 horas, em uma solução de lavagem (HNO_3, HCl e água, na proporção 1:2:9) sendo a seguir enxaguada com água deionizada e seca em estufa a 80º C (McDaniel, 1992).

Para limitar a possível contaminação, todas as soluções utilizadas foram preparadas com água ultra pura (Sistema Millipore Milli-Q de purificação). As amostras de mel, quando livres de granulações, foram bem homogeneizadas com bastão de vidro. Quando da ocorrência de granulações, as amostras foram depositadas em um recipiente fechado e mantidas em banho maria sem submergir (30 minutos a 60º C), seguindo a metodologia proposta por Campos et al. (2001). As análises foram imediatamente realizadas, sendo as amostras armazenadas à temperatura ambiente durante o período da análise.

O teor de cinzas foi determinado seguindo a metodologia proposta por Silva (2006), cerca de 3 g de cada amostra foi acondicionada em cadinho limpo e seco, sendo então submetida à calcinação em mufla a 600° C. Após 2 horas as amostras foram retiradas da mufla e levadas ao dessecador. Após o resfriamento dos cadinhos, foi adicionado em cada um deles cinco gotas de HNO_3, sendo as amostras retornadas à mufla por mais 1 hora. Após a completa calcinação, as amostras foram pesadas novamente, sendo o material mineral estimado pela equação 1.

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{(A - B)}{C} \times 100” \qquad \text{Eq. (1)}$$

Onde: A = peso do cadinho + resíduo, B = peso do cadinho, C = peso da amostra em gramas



Figura 1. Mapa localizando o estado de Santa Catarina e o Município de Bom Retiro, onde as amostras de mel foram coletadas.

As medições de pH do mel foram realizadas segundo a metodologia proposta pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (Brasil, l981) utilizando potenciômetro Digimed com eletrodo combinado de vidro e calomelano saturado.

Após conveniente diluição e purificação, os teores de açúcares redutores foram determinado

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se o cromatógrafo iônico Dionex DX300 equipado com coluna Carbopack PA1 e detector baseado na amperometria de pulso com eletrodo de ouro, empregando-se como fase móvel NaOH 100 mm L^{-1} a um fluxo de 1 mL min^{-1} (Mariano-da-Silva, 2001).

Para comprovar que os méis analisados eram de melato ou floral, foi calculado o valor de *Kirkwood* (Kirkwood et al., 1960; Kirkwood et al., 1961). Os resultados de pH (x_1), cinzas (x_2) e AR (x_3), sendo os dois últimos calculados na matéria seca, foram utilizados na equação de Kirkwood, para obtenção da função discriminativa (equação 2):

$$X = -8,3x_1 - 12,3x_2 + 1,4\ x_3 \qquad \text{Eq. (2)}$$

Sendo X menor que 73,1, o mel é considerado como mel de melato.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com modelo classificação cruzada e 3 repetições. A análise de variância (teste de F) foi utilizada para analisar as variáveis, seguida da comparações de médias, feita pelo teste de comparações múltiplas de Tukey (Snedecor & Cochran, 1967).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para os diferentes tipos de méis podem ser observados na Tabela 2.

Observa-se que os teores de açúcares redutores encontrados nos méis de melato foram significativamente maiores que aquelas encontradas nos méis florais. As normas brasileiras (Brasil, 2000) e do Mercosul (Mercosul/GMC, 1999) estabelecem o teor mínimo de 65% de açúcares redutores. Desta forma, tanto os méis florais quanto os méis de melato analisados enquadram-se nesta especificação.

Tabela 2. Teores de cinzas (na MS), açúcares redutores (na MS), pH, valores de Kirkwood e a classificação segundo Kirkwood, de amostras de mel coletadas em apiários do município de Bom Retiro (SC).

amostra	cinzas (g/100g)	Açúcares redutores (g/100g)	pH	Valores da função discriminante	Classificação segundo Kirkwood
1	0,2310fg	82,2434ab	4,21b	77,33	Mel floral
2	0,2553fg	65,7000e	4,91a	48,09	Mel de melato
3	0,1765fg	83,1536a	4,22b	79,25	Mel floral
4	0,3950ef	77,4676	5,00a	62,07	Mel de melato
5	0,2105fg	83,3015a	4,20b	79,17	Mel floral
6	0,5300de	74,7907d	5,01a	56,58	Mel de melato
7	0,2118fg	83,8015a	4,20b	79,83	Mel floral
8	1,0405a	81,4205abc	4,91a	60,46	Mel de melato
9	0,2445fg	84,4870a	4,14b	80,94	Mel floral
10	0,6372cd	78,4101bcd	4,92a	61,13	Mel de melato
11	0,0823g	83,7416a	4,22b	81,17	Mel floral
12	0,7900bc	78,5426bcd	5,00a	58,74	Mel de melato
13	0,1241g	83,2558a	4,19b	80,23	Mel floral
14	0,7131bcd	78,5163bcd	4,93a	60,23	Mel de melato
15	0,0825g	83,9858a	5,01b	74,98	Mel floral
16	0,6542bcd	78,6783cd	4,14a	67,71	Mel de melato
17	0,1841fg	83,2916a	4,14b	79,95	Mel floral
18	0,8602ab	78,2834bcd	4,94a	57,99	Mel de melato
19	0,1489g	82,9354a	4,07b	80,52	Mel floral
20	0,6401cd	77,7611cd	5,03a	59,78	Mel de melato
CV (%) **	17,425	1,661	1,209		
D.M.S.***	0,22235	4,13853	0,18375		

* médias de três repetições; ** coeficiente de variação; *** desvio médio significativo a 5% de probabilidade
[a-d] Médias seguidas de letras iguais, em uma mesma coluna, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey à 5% de confiança.

Esta diferença de teores de açúcares redutores dos méis florais e de melato é bem conhecida, e se deve às diferenças de composição entre o néctar e as secreções.

Segundo Van-Emelen (1952) os teores de açúcares redutores em méis de melato variam de 55,87 % a 65,89 % enquanto em méis florais variam de 74,92 % a 76,90 %. Bogdanov et al. (2011), analisando uma extensa base de dados, sugere um conteúdo mínimo de 60 % de açúcares redutores em méis de origem floral e 45 % em méis de melato.

Campos et al. (2003) encontraram teores de açúcares redutores variando de 65,44 % a 77,11 % em mel floral e de 55,73 % a 67,20 % em mel de melato (bracatinga). Bentabol Manzanares et al. (2011) trabalhando com amostras oriundas da Espanha, encontraram teores variando de 68,51 % a 73,15 % em mel de melato e de 70,51 a 75,13 em mel floral.

Os valores de pH variaram significativamente quando compara-se as amostras de mel de melato e de mel floral. Da mesma forma como foi descrito por Campos et al. (2001), a tendência foi os méis de melato apresentarem valores de pH mais elevados que aqueles encontrados nos méis florais. Desta forma, 90% dos méis de melato analisados não se enquadram nos valores propostos pela legislação brasileira (Brasil, 2000) que propõe valores de pH entre 3,30 a 4,60.

Esta tendência também foi observada por Bentabol Manzanares (2011), que trabalhando com 24 amostras de mel de melato e 53 amostras de mel floral, oriundos da Espanha, observaram índices variando entre 3,89 e 5,27 e 3,68 e 4,54, respectivamente.

A diferença de acidez entre mel de melato e mel floral é decorrente dos méis florais serem mais ricos em glicose. Este monossacarídeo é convertido, através da ação da enzima D-glicose oxidase em ácido glicônico, que constitui de 70 a 90% dos ácidos orgânicos do mel. A acidez do mel é regida pela presença deste ácido e de sua lactona (Stinson et al., 1960).

Os teores de cinzas, reflexo da composição mineral, variaram significativamente quando se comparou os méis florais e de melato. Os méis de melato apresentaram teores significativamente mais elevados. Porém, todos os teores encontrados estavam de acordo com aqueles especificados pelas normas do Mercosul (Mercosul/GMC, 1999) que prescreve um máximo de 0,6 % em mel floral e 1,2 % em mel de melato.

Bogdanov et al. (2011), após a analise dos resultados de vários trabalhos, já haviam notado que o mel floral tem menor teor de cinzas que o mel de melato. Campos et al. (2001), mensurando cinzas em mel floral e mel de bracatinga, observaram valores de 0,13 % e 0,28 %, respectivamente.

Van-Emelen (1952) observou teores de cinzas variando entre 0,07 % e 0,12 % em mel floral e 0,78 % e 1,29 % em mel de melato. Segundo o autor, estes teores também são maiores nas exsudações em relação aos nectários, refletindo nos teores encontrados no mel..

O índice de *Kirkwood* se mostrou eficiente em classificar o mel como mel de melato ou mel floral. Segundo Barros (1962), o mel de bracatinga é produzido pelas abelhas entre os meses de março a abril, e todas as amostras coletadas em abril foram classificadas como mel de melato enquanto que as amostras coletadas em janeiro foram classificadas como mel floral.

Conclusões

A classificação proposta por Kirkwood et al. (1960; 1961) se mostrou eficiente na diferenciação do mel floral e de melato.

A variação nos teores de cinzas, açúcares redutores e pH nos méis parecem indicar que estes parâmetros são decisivos na aplicação da equação de Kirkwood e em classificar o mel em floral ou de melato.

Referências

BARROS, M.P. **Apicultura**. Série monografias nº3. Rio de Janeiro: Instituto de Zootecnia, 1962. 257p.

BARTH, O.M. Análise microscópica de algumas amostras de mel. 5: melato ("honeydew") em mel de abelhas. **Revista Brasileira de Biologia**, n.30, v.4, p.601-608, 1970.

BATH, P.K.; SINGH, N.A. Comparation between *Helianthus annus* and *Eucalyptus lanceiolatus* honey. **Food Chemistry**, v.64, n.4, p.389-397, 1999.

BENTABOL-MANZANARES, A.; HERNANDEZ-GARCIA, Z.; RODRIGUEZ-GALDÓN, B.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, E.;

DÍÁZ-ROMERO, C. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v.126, n.2, p.664–672, 2011.

BOGDANOV, S.; LULLMANN, C.; MARTIN, P.; VON-DER-OHE, W.; RUSSMANN, H.; VORWOHL, G.; ODDO, L.P.; SABATINI, A. G.; MARCAZZNA, G. L.; PIRO, R.; FLAMINI, C.; MORLOT, M.; LHÉRITIER, J.; BORNECK, R.; MARIOLEAS, P.; TSIGOURI, A.; KERKVLIET, J.; ORTIZ, A.; IVANOV, T.; D'ARCY, B.; MOSSEL, B.; VITTI, P. **Calidad de la miel de abejas y estándares de control**: revision realizada por la comissón internacional de la miel. http//www.beekeeping.com/articulos/calidad-miel acesso em (10/01/2011)

BRASIL, 2000. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº.11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel** Seção I, págs. 16-17. Diário Oficial da União de 23 de outubro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II Métodos físicos e químicos. Mel**. Ministério da Agricultura: Brasília, v.2, cap.25, p.1-15, 1981.

CAMPOS, G.; DELLA-MODESTA, R.C.; SILVA, T.J.P.; BAPTISTA, K.E.; GOMIDES, M.F.; GODOY, R.L. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.1-5, 2003.

CAMPOS, G.; DELLA-MODESTA, R.C.; SILVA, T.J.P.; RASLAN, D.S. Variação de alguns parâmetros do mel de melato em relação ao mel floral. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, n.60, v.1, p.59-64, 2001.

COSTA, R.G. **Cochonilhas ou coccideas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria de Estados dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 108p., 1949.

DONER, W.L. The sugars of honey – A review. **Journal of Science and Food Agricultural,** v.28, p.443-456., 1977.

DOUGLAS, A.E. Honeydew. In: RESH, V. H.; CARDE, R.T. **Encyclopedia of Insects**. 2ª ed. New York: Academic Press, 2009, p.461-463.

KIRKWOOD, K.C.; MITCHELL, T.J.; SMITH, D. Examination of the occurrence of honeydew in honey. **Analyst**, v.85, p.412-416, 1960.

KIRKWOOD, K.C.; MITCHELL, T.J.; SMITH, D. Examination of the occurrence of honeydew in honey. Part II. **Analyst**, v.86, p.164-165, 1961.

LIMA, A.C**. Insetos do Brasil**. 3º tomo: Homópteros. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. 327p.

MARIANO-DA-SILVA, S. **Efeitos do cádmio sobre a fermentação alcoólica e o uso da vinhaça para atenuar a sua ação tóxica**. 2001. 134 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

McDANIEL, W. Sample preparation procedure for spectrochemical determination of total recoverable elements in biological tissues. In: SMOLEY, C. K. Methods for the determination of metals in environmental samples. Boca Raton: CRC Press., 1992. cap. 3, p.25-32.

MERCOSUL/GMC (Grupo Mercado Comum). **Regulamento técnico MERCOSUL "Identidade e Qualidade do Mel"**. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 10p.

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

PRODOLLIET, J.; HISCHENHUBER, C. Food authentication by carbohydrate chromatography. **Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung A**, v.207, p.1–12, 1998.

SANZ, M.L.; GONZALEZ, M.; DE-LOURENÇO, C.; SANZ, J.; MARTINEZ-CASTRO, I. A contribution to the differentiation

between nectar honey and honeydew honey. **Food Chemistry**, v.91, n.2, p.313–317, 2005.

SIDDIQUI, I. R. The sugars of honey. **Advances in Carbohydrate Chemistry,** n.25, p.285-288, 1970.

SILVA. D.J.; QUEIROZ, C.A. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006, 235p.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical methods**. 6. ed. Ames: The Iowa State University Press, 1967. 593p.

STINSON, E.E.; SUBERS, M.H.; PETTY, J.; WHITE-JUNIOR, J. M. W. The composition of honey. V. Separation and identification of the organic acids. **Archives of Biochemistry & Biophysics**, v.89, p.6-12, 1960.

VAN-EMELEN, A. **Cartilha do apicultor brasileiro**. 5ª ed., São Paulo: Empresa Editora Chácaras e Quintais, 1954. 356p.

WIESE, H. **Nova apicultura**. 3ª ed, Porto Alegre: Livraria Editora Agropecuária, 1982. 486p.