

HMF (HIDROXIMETILFURFURAL) E DIASTASE DE MÉIS SUBMETIDOS A DISSOLUÇÃO DE CRISTAIS POR AQUECIMENTO

LUÍS CARLOS MARCHINI¹ ; ANDRÉA CREMONEZ LIMA RODRIGUES¹ e AUGUSTA CAROLINA DE CAMARGO CARMELLO MORETTI²

¹Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola/ESALQ/USP, Caixa postal 09, 13418-900, Piracicaba, SP.

²Centro de Etologia, Ambiente e Manejo, Instituto de Zootecnia, Caixa postal 60, 13460-000, Nova Odessa, SP.

RESUMO: A cristalização do mel é um fato freqüente e considerado de grande importância como indicador da pureza do produto. O ideal seria criar o hábito de consumir o mel cristalizado, mas, como no Brasil os consumidores preferem o produto na forma líquida, os produtores, via de regra, aquecem o mel para que ele volte à esta forma. O objetivo do trabalho foi verificar alterações na qualidade de méis por meio da determinação do HMF e do índice de diastase de méis silvestre, de laranjeira e de eucalipto submetidos a dissolução de cristais no forno microondas, em banho-maria e ao sol. Quando se utilizou o forno microondas os méis ficaram por um minuto em exposição, na potência alta. Para o banho-maria, a água foi aquecida até início de fervura e em seguida retirada do fogo para, imediatamente após, serem colocadas as amostras de mel. Na terceira forma de aplicação de calor utilizou-se um derretedor solar de cera, até dissolução completa dos cristais. As médias de HMF(mg/kg) de cada um dos méis submetidos à dissolução de cristais: no forno microondas, em banho-maria e ao sol foram significativamente maiores do que as do mel cristalizado da mesma origem floral, mas em todos os casos os valores foram inferiores aos 40mg/kg, máximo permitido pela legislação brasileira. Apenas o índice de diastase (Escala Gothe) do mel de laranjeira reduziu-se quando o mel foi submetido à dissolução de cristais no microondas e em banho-maria.

Palavras-chave: Análise de mel, aquecimento solar, banho-maria, mel, forno microondas

HMF(HIDROXIMETILPHURPHURAL) AND DIASTASE OF HONEYS MELTED BY HEATING

ABSTRACT: The honey crystallization is a frequent event and considered of major relevance as indicator of honey purity. It would be a reasonable aim to generalize the habit of consuming crystallized honey, but this objective is not easily reached because, the Brazilian consumers prefer the product in the liquid form. This paper deals with alterations in the honey quality, using HMF determination and diastase activity for polyfloral honey, *Citrus* honey and *Eucalyptus* honey melting in the microwave oven, in water bath and in the sun. In the microwave oven the honeys were exposed for one minute in high frequency. For water bath, procedure involved heating water up to a beginning of the boiling point, then taking it out of heating source, in order to put the samples of honey on it. Finally, the third method involved the use of solar wax extractor until complete honey melting. The HMF(mg/kg) averages for each one of the analyzed samples of honey submitted to melting, by each one of the described methods, were significantly higher than those of crystallized honey of the same floral origin, but in all the occurrences, the values were below 40 mg/kg, the upper limit allowed by Brazilian legislation. Only the diastase activity of the *Citrus* honey has shown reduction when the honey was submitted to liquefying in microwave oven and in water bath.

Key words: Honey analyses, sun heating , water bath, honey, microwave oven

INTRODUÇÃO

O mel foi a primeira fonte açucarada conhecida no Ocidente e sua importância para o homem tem sido registrada desde os tempos pré-históricos por meio de desenhos em cavernas e, mais recentemente, por escritos deixados por algumas culturas mais avançadas (IMPERATRIZ-FONSECA e GIOVANNINI, 1984).

O mel, segundo a FAO/OMS, deve ser definido como a substância açucarada obtida a partir do néctar das flores ou das secreções provenientes de partes vivas de plantas, ou que sobre elas se encontram, e que as abelhas colhem, transformam e combinam com substâncias específicas, armazenando-a nos favos das colmeias (VIDAL,1984).

O mel é um rico alimento natural que possui nutrientes fundamentais, pois na sua composição entram açúcares que não necessitam transformação pelo suco digestivo para serem assimilados, sendo absorvidos rapidamente, proporcionando calor e energia ao organismo. Nele encontra-se também, apreciável quantidade de vitaminas e enzimas fundamentais à digestão, além de minerais, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos (BASTOS e SILVA, 1994). Sua composição e seu valor nutritivo, no entanto, variam grandemente com sua origem floral (VIDAL,1984).

Quando o mel é extraído dos favos, é uma solução aquosa concentrada, mais ou menos fluída, entretanto, este estado é transitório pois, após um período mais ou menos longo, ele torna-se granuloso e opaco, devido à cristalização da glicose (10) ou melhor, a separação da glicose, que é menos solúvel que a levulose, em hidrato de glicose (AMARAL e ALVES, 1979).

Segundo VIDAL(1984), todos os méis cristalizam sendo este um fator indicativo da pureza. A cristalização deve-se à proporção glicose/água (STROGA e FREITAS, 1991, WHITE Jr.,1980) e méis mais ricos em glicose, ou seja, aqueles que apresentam relação glicose/água maior ou igual a 2,10, cristalizam mais rapidamente (AMARAL e ALVES, 1979). Quando a relação glicose/água é igual ou menor a 1,70, o mel não se cristalizará.

A temperatura também é um fator que contribui para a cristalização e bolhas de ar muito pequenas incorporadas ao mel, aceleram o início da cristalização (AMARAL e ALVES, 1979;

VIDAL,1984). Para que ocorra a dissolução de cristais, também o fator mais importante é a temperatura sendo o método mais indicado, até a presente data, o banho-maria.

Alguns cuidados são necessários quando se trata de aquecimento de mel pois existe uma correlação positiva entre a temperatura que o mel atinge durante o aquecimento, o tempo em que esta temperatura permanece alta (acima de 40°C) e a quantidade de HMF observada na amostra (CRANE, 1975, WHITE Jr., 1980).

HMF (Hidroximetilfurfural) é o produto da desidratação de açúcares, sendo produzido quando o mel é aquecido, podendo, ainda, ser formado durante o armazenamento. É um parâmetro que além do superaquecimento também pode indicar a idade do mel (SALINAS *et al.*, 1991). Segundo VIDAL e FREGOSI (1984), além da temperatura, o pH do mel tem importância para a velocidade de formação do HMF. Segundo as especificações da legislação brasileira o HMF deve ser no máximo 40mg/kg (BRASIL, 1997).

O índice de diastase refere-se à diastase, nome comum da enzima alfa-amilase, que tem por função digerir o amido. Sua origem, mais aceita até agora, é atribuída a uma secreção salivar das abelhas. Este parâmetro é indicado para avaliar a qualidade do mel e dá indicações sobre superaquecimento, o que compromete seriamente o produto (WHITE, 1994). Segundo as especificações da legislação brasileira o índice de diastase deve ser no mínimo 8 unidades ou 3 se o HMF é menor que 15 mg/kg (BRASIL, 1997).

PFAU e RHULE (1986) analisando 19 amostras de mel do Estado do Paraná verificaram índice de diastase de 24,33 e 11,34 unidades para o primeiro e o segundo colocados no concurso para premiação de méis. KOMATSU (1996) observaram índice de diastase de 17,3; 15,8 e 9,4 unidades para méis

silvestres, de eucalipto e de alranja do Estado de São Paulo

O objetivo do presente trabalho foi determinar o HMF e o índice de diastase de méis de diversas origens florais, submetidos a aquecimento por diferentes formas de aplicação de calor para dissolução de cristais, visando verificar se ocorrem alterações na qualidade destes méis.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de mel de três diferentes origens florais, silvestre, laranjeira e eucalipto, que se encontravam cristalizadas, foram separadas em quatro sub-amostras de 200g colocadas em potes de vidro com tampa, das quais três foram submetidas a dissolução de cristais: no microondas, em banho-maria e por aquecimento solar.

Quando se utilizou o microondas os méis ficaram por um minuto em exposição na potência alta. Para o banho-maria, a água foi aquecida até início de fervura (100°C) e em seguida retirada do fogo para, imediatamente após, serem colocadas as amostras de mel. Na terceira forma de aplicação de calor utilizou-se um derretedor solar de cera (AMARAL e ALVES, 1979) até a completa dissolução dos cristais.

Todas as sub-amostras (1 cristalizada e 3 submetidas aos diferentes métodos de dissolução de cristais), das três origens florais, foram analisadas quanto ao HMF(1) e ao índice de diastase(2), como segue:

1- Hidroximetilfurfural

O Hidroximetilfurfural (HMF) foi determinado seguindo-se o método baseado na reação de Winkler(1955), utilizando-se um colorímetro marca DIGIMED modelo DME-11, cubeta cilíndrica de vidro com diâmetro de 12mm e passo óptico de 10mm. Este aparelho foi ajustado para comprimento de onda de 520nm(KOMATSU, 1996). O HMF é expresso em mg/kg de mel, sendo calculado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{HMF(mg/kg)} = [(A-B) \times 19,2 / \text{espessura da cubeta}] \times 10$$

Onde a espessura da cubeta é 1mm.

2- Índice de diastase

O índice de diastase foi determinado segundo o método adotado pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), com base na reação de iodo com o amido hidrolisado pela diastase (KOMATSU, 1996). Desta forma os valores do índice de diastase correspondem ao volume, em ml, da solução de amido a 1%, que foi hidrolisado pela quantidade de enzima contida em 1g de mel.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3x4 (3 origens florais e 4 formas de aplicação de calor) com 4 repetições. Como a interação origem floral x forma de aplicação de calor foi significativa, os graus de liberdade do resíduo foram decompostos em polinômios ortogonais (origem floral dentro de forma de aplicação de calor e forma de aplicação de calor dentro de origem floral).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1- HMF

No Quadro 1 podem ser observados os valores de HMF dos méis ainda cristalizados e após o processo de dissolução de cristais no microonda, em banho-maria e aquecimento solar.

Pode-se verificar que o valor de HMF do mel silvestre foi sempre inferior ao dos méis de laranjeira e de eucalipto, tanto para méis cristalizados como para os submetidos à dissolução de cristais pelas três formas de aplicação de calor.

Pelo quadro 1 verifica-se, ainda, que todos os méis apresentaram valores de HMF significativamente maiores nos méis submetidos a três diferentes formas de aplicação de calor para dissolução de cristais quando comparados ao mel cristalizado dentro de cada origem floral.

O mel de laranjeira submetido à dissolução de cristais no microondas apresentou valores de HMF significativamente maiores do que o mesmo mel submetido ao banho-maria. Para o mel de eucalipto o aquecimento solar produziu maior quantidade de HMF quando comparado ao mesmo mel submetido à dissolução de cristais no microondas e em banho-maria (Quadro 1).

Quadro 1. Médias de HMF de méis silvestre, de laranja e de eucalipto submetidos a dissolução de cristais por três diferentes formas de aplicação de calor

Origem	Mel	Mel submetido à dissolução de cristais		
	Cristalizado	Microondas	Banho-maria	Sol
Silvestre	11,42±0,712b B	15,61±0,356a C	15,26±0,193a B	15,45±0,113a B
Laranja	21,95±0,799c A	24,62±0,553a A	23,47±0,095b A	24,27±0,315ab A
Eucalipto	21,63±0,477c A	22,77±0,225b B	22,77±0,443b A	24,09±0,455a A

CV%=2,214%

d.m.s. a 5% para origem floral=0,856

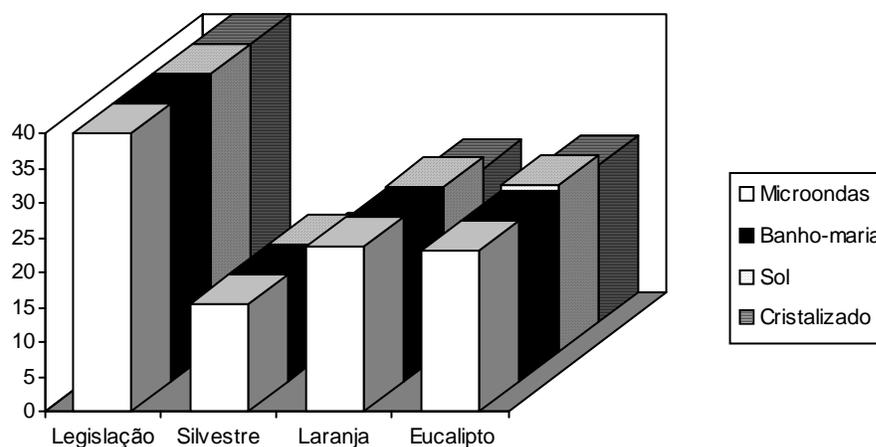
d.m.s. a 5% para forma de aplicação de calor= 0,7766

*Médias seguidas de diferentes letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferiram significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05)

De uma maneira geral pode-se afirmar que as médias de HMF(mg/kg) de cada um dos méis submetidos à dissolução de cristais: no microondas, em banho-maria e ao sol foram significativamente maiores do que as do mel cristalizado da mesma origem floral. Este fato foi também observado por THRASYVOULOU *et al.* (1994) os quais utilizaram o ultrassom para

provocar a liquefação do mel, verificando que as taxas de HMF aumentaram de 6,5±0,8ppm para 11,4±1,4ppm.

Na Figura 1 estão representados os valores de HMF obtidos nos méis analisados, comparando-os com as exigências da legislação brasileira

**Figura 1. HMF (Hidroxiacetilfurfural) de méis silvestre, de laranja e de eucalipto submetidos a três formas de aplicação de calor para dissolução de cristais em comparação com o mel cristalizado e com as exigências da legislação brasileira**

Verifica-se que com referência ao HMF, tanto os méis cristalizados como os que foram submetidos à dissolução de cristais, os valores observados foram inferiores ao máximo permitido pela legislação brasileira que é de 40mg/kg (BRASIL, 1997).

2- Índice de diastase

No Quadro 2 são apresentados os valores do índice de diastase de méis ainda cristalizados e após o processo de dissolução de cristais

Observando o quadro 2, verifica-se que apenas o índice de diastase do mel de laranjeira reduziu-se quando o mel foi submetido à dissolução de cristais no microondas e em banho-maria. THRASYVOULOU *et al.* (1994) utilizando ultrassom para provocar a liquefação do mel verificaram que a atividade da diastase diminuiu de $20,8 \pm 1,8$ DDN para $17,4 \pm 1,5$ DN.

Na Figura 2 estão representados os valores do índice de diastase obtidos nos méis analisados, comparando-os com as exigências da legislação brasileira.

Quadro 2. Médias do índice de diastase de méis silvestre, de laranjeira e de eucalipto submetidos à dissolução de cristais por três formas de aplicação de calor

Origem	Mel Cristalizado	Mel submetido à dissolução de cristais		
		Microondas	Banho-maria	Sol
Floral				
Silvestre+	5,0	5,0	5,0	5,0
Laranjeira	6,5	5,0	5,0	6,5
Eucalipto	6,5	6,5	6,5	6,5

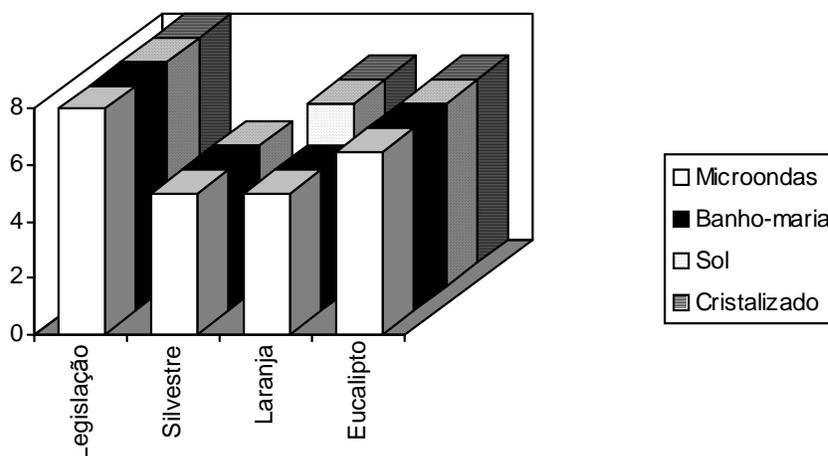


Figura 2. Índice de diastase de méis silvestre, de laranjeira e de eucalipto submetidos a três formas de aplicação de calor para dissolução de cristais em comparação com o mel cristalizado e com as exigências da legislação brasileira

O índice de diastase, tanto dos méis cristalizados como dos submetidos à dissolução de cristais apresentaram valores inferiores ao mínimo permitido pela legislação que é de 8 unidades, exceto o mel silvestre ainda cristalizado que apresentou valor superior aos 3 permitido pela legislação quando o HMF é inferior a 15mg/kg (BRASIL, 1997) (Quadros 1 e 2 e Figura 3).

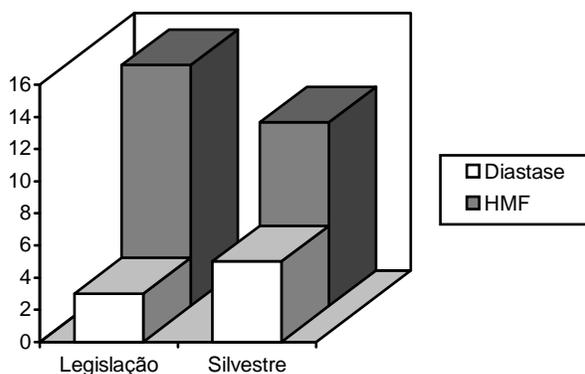


Figura 3. HMF e índice de diastase do mel silvestre cristalizado em comparação com os valores permitidos pela legislação brasileira

CONCLUSÕES

1- Os valores referentes ao Hidrometilfurfural aumentam quando o mel é aquecido independente da origem floral deste mel e da forma de aplicação de calor utilizada para a dissolução dos cristais.

2- Com base apenas na taxa de Hidroximetilfurfural presente no mel, o banho-maria é a forma de aplicação de calor que provoca menores alterações quando comparado ao mel cristalizado.

3- Com base no índice de diastase o aquecimento solar é a única forma de aplicação de calor que não provoca alterações independente da origem floral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, E.; ALVES, S.B. Insetos úteis. Piracicaba: Livrocetes, 1979. 188p.

BASTOS, D.H.M.; SILVA, J.R. Análise de méis produzidos na região bragantina. LECTA, v.12, n.2, p.121-134, 1994.

BRASIL. Leis, decretos, portarias, etc. Portaria nº 367, de 4 de setembro de 1997. Diário Oficial de 8 de setembro de 1997. Seção 1, p.19696-19703. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação da Identidade e Qualidade do Mel. CRANE, E. Honey. A comprehensive survey. London: Heinemann, 1975. 608p

CRANE, E. Honey. A comprehensive survey, London: Heinemann, 1975. 608p.

CARVALHO, C.A.L., MARCHINI, L.C., TEIXEIRA, G.M. et al. Características físico-químicas de amostras de ml da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., Salvador, 1998. Anais... Salvador: CBA, 1998. p.200.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; GIOVANNINI, A.K. O mel na alimentação. In: NOGUEIRA, R.H.F. et al. SIMPÓSIO SOBRE APICULTURA, Jaboticabal, 1984. Anais... Jaboticabal: UNESP, 1984. p.4-8.

KOMATSU, S.S. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) de diferentes municípios do Estado de São Paulo. Piracicaba, ESALQ/USP, 1996. 90f. (Tese de doutoramento).

PFAU, L.A., RUHLE, E.R. Concurso de mel: método de avaliar a qualidade do mel. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 7., Salvador, 1986. Programa e resumos... Salvador: CBA, 1986. p.58.

SALINAS, F.; ESPINOSA-MANSILLA, A.; BERZAS-VEVADO, J.J. Flow-injection determination of HMF in honey by Winkler method. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, v.340, n.4, p.250-252, 1991.

SILVA, R.M.B., SILVA, E.C.A., MORETI, A.C. DE C.C. et al. Typing of honeys produced on the Paraíba River Valley, North seashore and Mantiqueira Range, State of São Paulo, Brazil. In: IBRA CONFERENCE ON TROPICAL BEES, Management and diversity, 6., San Jose, Costa Rica, 1994. Proceedings.. San Jose, Costa Rica: IBRA, 1994. p.26.

STONOAGA, V.I.; FREITAS, R.J.S. Conteúdo de água e açúcares em mel de abelha. Boletim CEPPA, Curitiba, v.9, n.1, p.9-16, 1991.

THRASYVOULOU, A.; MANIKIS, J.; TSELIOS, D. Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. Apidologie, v.25, p. 297-302, 1994.

- VERÍSSIMO, M.T. Analisando méis de Santa Catarina. Apic. No Brasil, São Paulo, v.4, n.19, p.28, 1987.
- VIDAL, R. Mel- Análise e Adultrações. In: NOGUEIRA, R.H.F. et al. SIMPÓSIO SOBRE APICULTURA, Jaboticabal, 1984. Anais... Jaboticabal:UNESP, 1984. p.47-55.
- VIDAL,R.; FREGOSI, E.V. de. Mel:características, análises físico-químicas, adultrações e transformações. Barretos: Instituto Tecnológico Científico "Roberto Rios", 1984. 95p.
- WHITE, J.W. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. Bee World, v,75, n.3, p.104-117, 1994.
- WHITE Jr., J.W. Hydroxymethylfurfural content of honey as na indicator of its adultraation with invert sugars. Bee World, v.61, n.1, p.29-37, 1980.