

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Mariele dos Santos

**ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO POR BIFENILAS POLICLORADAS E
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL DE SISTEMAS DE
PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL DO RIO GRANDE DO
SUL**

Santa Maria, RS
2021

Mariele dos Santos

**ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO POR BIFENILAS POLICLORADAS E
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL ORGÂNICO E DO MEL
CONVENCIONAL DO RIO GRANDE DO SUL**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

Orientadora: Ijoni Hilda Costabeber

Santa Maria, RS
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

dos Santos, Mariele

ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO POR BIFENILAS POLICLORADAS E
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL ORGÂNICO E DO MEL
CONVENCIONAL DO RIO GRANDE DO SUL / Mariele dos Santos.-
2021.

90 p.; 30 cm

Orientadora: Ijoni Hilda Costabeber

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2021

1. Bifenilas Policloradas 2. Sistemas de produção 3.
Contaminação ambiental 4. Qualidade de alimentos 5. Mel
orgânico I. Costabeber, Ijoni Hilda II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, MARIELE DOS SANTOS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Mariele dos Santos

**ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO POR BIFENILAS POLICLORADAS E
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL ORGÂNICO E DO MEL
CONVENCIONAL DO RIO GRANDE DO SUL**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

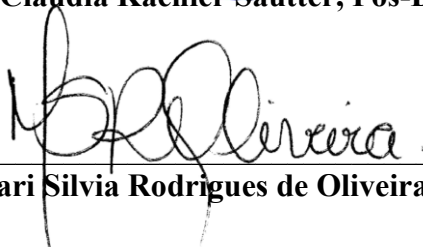
Aprovado em 10 de fevereiro de 2021:




Ijoni Hilda Costabeber, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Cláudia Kaehler Sautter, Pós-Dra. (UFSM)



Mari Silvia Rodrigues de Oliveira, Dra. (UFSM)



Thiago Guilherme Schwanz, Dr. (BAT)



Vanusa Granella, Dra. (IFFar)

Santa Maria, RS
2021

DEDICATÓRIA

A minha família, meu companheiro de vida Thomaz e as nossas filhas Luísa e Laura.

AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho foi possível pela colaboração, compreensão e dedicação de várias pessoas. Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste estudo e de maneira especial, agradeço:

- ao Thomaz, meu companheiro de vida, pela compreensão, dedicação, incentivo e apoio diário. Você foi fundamental em todas as etapas do doutorado.

- às minhas filhas Luísa e Laura, pelo carinho e amor que me proporcionam diariamente.

- aos meus pais, por não medirem esforços para que eu continuasse estudando e chegasse até aqui. Saudades eternas!

- à orientadora Profa. Dra. Ijoni Hilda Costabeber, pelos ensinamentos, pelo apoio, conselhos nos momentos de insegurança e, principalmente, por acreditar neste projeto desde o início.

- à Profa. Dra. Ionara Regina Pizzutti e a equipe do CEPARC, pela disponibilidade de realizar as determinações de PCBs num laboratório de referência e por sua inestimável contribuição neste trabalho.

- à Dra. Catiucia Souza Vareli pela dedicação e apoio ao projeto, validando a metodologia e ajudando nas análises dos PCBs.

- à Profa. Pós-Dra. Cláudia Kaehler Sautter, pelo profissionalismo, por toda ajuda no laboratório, com os dados e o incentivo nas inúmeras vezes que busquei conselhos. Também agradeço a toda sua equipe do laboratório, seus alunos da iniciação científica, Graciele, Uashington, Yohana, Rafaela, Rafael, Lucas, Ariane, e a colega de doutorado Juciane, pela colaboração e esforço com as análises físicas e químicas dos méis. Foi um período muito importante que levarei na memória com muito carinho e gratidão a cada um de vocês.

- à Profa. Me. Elizabete Dockhorn, pela disposição e os contatos com apicultores que foram fundamentais para o projeto iniciar.

- ao Dr. Thiago Guilherme Schwanz, pelo apoio e a disponibilidade para o suporte técnico com as correções para publicação que tornou possível a defesa da tese.

- aos membros efetivos e suplentes da banca examinadora por terem aceitado o convite para contribuir com este trabalho.

- aos amigos, funcionários e professores do Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, pelas conversas, convívio e contribuições na pesquisa, em especial a Marialene e ao Vinicyus, sempre dispostos a ajudar.

- às colegas da pós-graduação, Anelise e Grazielle, que tornaram a árdua missão mais agradável.

- ao Instituto Federal Farroupilha, que possibilitou o afastamento integral do meu trabalho no Campus São Vicente do Sul para cursar o doutorado.

- aos apicultores que cederam amostras de seus méis para realização desta pesquisa.

- à Universidade Federal de Santa Maria pelas oportunidades!

RESUMO

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO POR BIFENILAS POLICLORADAS E PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL ORGÂNICO E DO MEL CONVENCIONAL DO RIO GRANDE DO SUL

AUTORA: Mariele dos Santos
ORIENTADORA: Ijoni Hilda Costabeber

O mel passa uma imagem de ser naturalmente saudável e livre de contaminantes. No Brasil, o Rio Grande do Sul é um dos estados com maior produção de mel. A grande valorização deste produto, principalmente no mercado externo, exige a aplicação de rigorosos padrões de qualidade e segurança do mel, assim como o investimento em sistema de produção orgânico. As bifenilas policloradas, do inglês *Polychlorinated biphenyls* (PCBs), são compostos organoclorados sintéticos tóxicos que apesar de terem sua fabricação e comercialização proibidas há vários anos, devido ao seu descarte inapropriado, contaminaram o meio ambiente e ainda são detectadas. No presente trabalho foram analisados os padrões de identidade e qualidade e a contaminação por PCBs em 90 méis de diferentes origens florais (monoflorais e multiflorais) de sistemas de produção orgânico e convencional provenientes do Rio Grande do Sul. Foi investigada a ocorrência de 11 congêneres de bifenilas policloradas: PCBs 28, 52, 77, 81, 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180. A extração foi realizada pelo método QuEChERS modificado (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) seguido de cromatografia gasosa com detector de captura de microelétrons com limites de detecção de 5 ng g⁻¹ e 10 ng g⁻¹. Os resultados mostraram a presença de 4 congêneres em 15 amostras de mel provenientes de 9 municípios, confirmando a contaminação ambiental no Sul do Brasil. Os níveis máximos de concentração detectados foram 635 ng g⁻¹ para PCB 28, 194 ng g⁻¹ para PCB 101, 65 ng g⁻¹ para PCB 77 e 50 ng g⁻¹ para PCB 81. Embora essa contaminação no mel represente um baixo risco, trata-se de um poluente orgânico persistente, classificado como comprovadamente carcinogênico para seres humanos e animais. Entre as amostras contaminadas, não foram identificadas diferenças significativas quanto ao sistema de produção e origem floral. Ao analisar os resultados dos padrões de identidade e qualidade individualmente, a grande maioria dos méis estava dentro dos limites definidos pela legislação nacional e internacional, o que permite afirmar que o mel produzido no Rio Grande do Sul tem boa qualidade, fato que evidencia a adoção de boas práticas apícolas pelos produtores do estado. Através da análise dos componentes principais foi possível explicar grande parte da variabilidade entre os parâmetros umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF dos méis conforme o sistema de produção e a origem floral. A análise por agrupamento hierárquico, classificando em grupos usando distâncias euclidianas, exibiu a diferenciação desses 10 parâmetros de qualidade das amostras.

Palavras-chave: Bifenilas Policloradas. Sistemas de produção. Contaminação ambiental. Qualidade de alimentos.

ABSTRACT

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

STUDY OF CONTAMINATION BY POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND QUALITY PARAMETERS OF ORGANIC HONEY AND CONVENTIONAL HONEY FROM RIO GRANDE DO SUL

AUTHOR: Mariele dos Santos
ADVISOR: Ijoni Hilda Costabeber

Honey gives an image of being natural, healthy and free from contaminants. In Brazil, Rio Grande do Sul is one of the states with the highest honey production. The great appreciation of this product, especially in the foreign market, requires the application of rigorous standards of quality and safety of honey, as well as the investment in organic production system. Polychlorinated biphenyls, from English Polychlorinated biphenyls (PCBs), are toxic synthetic organochlorine compounds that, despite having been banned from manufacturing and marketing for several years, due to their inappropriate disposal, have contaminated the environment and are still detected. In the present work, the identity and quality patterns and the contamination by PCBs in 90 honeys of different floral origins (monofloral and multifloral) from organic and conventional production systems from Rio Grande do Sul were analyzed. The occurrence of 11 congeners of polychlorinated biphenyls: PCBs 28, 52, 77, 81, 101, 118, 126, 138, 153, 169 and 180. Extraction was performed using the modified QuEChERS method (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) followed by chromatography gas with microelectron capture detector with detection limits of 5 ng g⁻¹ and 10 ng g⁻¹. The results showed the presence of 4 congeners in 15 samples of honey from 9 municipalities, confirming environmental contamination in southern Brazil. The maximum levels of concentration detected were 635 ng g⁻¹ for PCB 28, 194 ng g⁻¹ for PCB 101, 65 ng g⁻¹ for PCB 77 and 50 ng g⁻¹ for PCB 81. Although this contamination in honey represents a low risk, it is a persistent organic pollutant, classified as proven carcinogenic for humans and animals. Among the contaminated samples, no significant differences were identified regarding the production system and floral origin. When analyzing the results of the identity and quality standards individually, the vast majority of honeys were within the limits defined by national and international legislation, which allows us to affirm that the honey produced in Rio Grande do Sul has good quality, a fact that shows the adoption of good beekeeping practices by state producers. Through the analysis of the main components it was possible to explain a large part of the variability between the parameters humidity, ash, electrical conductivity, pH, free acidity, total acidity, reducing sugars, apparent sucrose, diastatic activity and HMF of the honey according to the production system and the floral origin. The analysis by hierarchical grouping, classifying in groups using Euclidean distances, showed the differentiation of these 10 quality parameters of the samples.

Keywords: Polychlorinated biphenyls. Production systems. Environmental contamination. Food quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DESENVOLVIMENTO

- Figura 1 - O mel é produzido a partir do néctar removendo a maior parte da água, convertendo sacarose em frutose e glicose, e outras alterações enzimáticas 19
- Figura 2 - Possíveis fontes de contaminação do mel 24

ARTIGO 1

- Figura 1 - Origem geográfica das 90 amostras: 26 municípios do Rio Grande do Sul, Brasil . 35
- Figura 2 - Distribuição das Σ PCBs (ng g^{-1}) nas amostras dos sistemas de produção orgânico e convencional. Os Σ PCBs são mostrados em gráficos de caixa que ilustram o intervalo (barras mínimas e máximas), quartis (caixa), mediana (indicada pela linha em negrito) e outliers (*) 45
- Figura 3 - Distribuição dos Σ PCBs (ng g^{-1}) nas amostras por origem floral. Os Σ PCBs são mostrados em gráficos de caixa que ilustram o intervalo (barras mínimas e máximas), quartis (caixa), mediana (indicada pela linha em negrito) e outliers (*) . 46
- Figura Suplementar S1 - Fórmulas estruturais e nomenclatura dos 11 congêneres analisados . 52

ARTIGO 2

- Figura 1 - Dendrograma obtido pela análise de agrupamento dos parâmetros umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF dos méis usando distâncias euclidianas.. 63
- Figura 2 - Projeção das variáveis nos planos dos fatores 1 e 2 referentes ao sistema de produção..... 65
- Figura 3 - Projeção das variáveis nos planos dos fatores 1 e 2 referentes a origem floral..... 66

LISTA DE TABELAS

DESENVOLVIMENTO

Tabela 1 - Parâmetros físicos e químicos de méis em diversos países	23
Tabela 2 - Ocorrência de bifenilas policloradas em mel investigadas em diversos países	27

ARTIGO 1

Tabela 1 - Tabela 1. Município, sistema de produção, origem floral, frequência de detecção (%) e concentrações de PCBs (ng g^{-1}) nas 15 amostras contaminadas de mel do Rio Grande do Sul. O LOQ foi de 20 ng g^{-1}	41
Tabela 1S - Origem geográfica (Município), sistema de produção, origem floral e vegetação próxima da colmeia de cada uma das 90 amostras de méis	53

ARTIGO 2

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade dos méis (média \pm desvio padrão) conforme o sistema de produção	67
Tabela 2 - Parâmetros de qualidade dos méis (média \pm desvio padrão) conforme a origem floral	68
Tabela 1S - Sistema de produção, origem floral e vegetação próxima da colmeia de cada uma das 90 amostras de méis	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- A₂₈₄ - Absorvância em 284 nanômetros
A₃₃₆ - Absorvância em 336 nanômetros
ABEMEL – Associação Brasileira de Exportadores de Mel
ACP - Análise do Componente Principal
AD - Atividade Diastásica
Ah – Receptor Ah, do inglês *Aryl Hydrocarbon*
C - Cinzas
EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, do inglês *European Food Safety Authority*
EUA – Estados Unidos da América
F - Fator
GC- μ ECD – Cromatografia a Gás com Micro Detecção por Captura de Elétrons, do inglês *Gas Chromatography with Micro Electron Capture Detection*
HMF – Hidroximetilfurfural
IARC – Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer, do inglês *International Agency for Research on Cancer*
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LOD – Limite de Detecção, do inglês *Limit Of Detection*
LOQ – Limite de Quantificação, do inglês *Limit Of Quantification*
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NI - Não Informado
OAC – Organismo da Avaliação da Conformidade Orgânica
PCB – Bifenila Policlorada, do inglês *Polychlorinated Biphenyl*
pH - Potencial Hidrogeniônico
PNCR – Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
POP – Poluente Orgânico Persistente
PSA – Amina Primária Secundária, do inglês *Primary Secondary Amine*
QuEChERS – Rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*
RSD – Desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*
SIF – Serviço de Inspeção Federal
t - Tempo
TCDD – 2,3,7,8 Tetraclorodibenzeno-p-dioxina
WHO – Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 DESENVOLVIMENTO	18
3.1 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1.1 Mel de abelhas	18
3.1.2 Parâmetros de identidade e qualidade	20
3.1.3 Sistema de produção convencional	24
3.1.4 Sistema de produção orgânico	25
3.1.5 Bifenilas policloradas	26
3.1.6 Análise de PCBs em mel	28
3.1.7 Controle dos níveis de resíduos no mel	29
3.2 ARTIGO 1	30
3.3 ARTIGO 2	57
4 DISCUSSÃO	81
5 CONCLUSÃO	84
REFERÊNCIAS	86

APRESENTAÇÃO

A presente tese segue as normas estabelecidas no Manual de Dissertações e Teses: Estrutura e Apresentação - MDT da UFSM (UFSM, 2015).

O item Desenvolvimento está apresentado na forma de revisão bibliográfica, artigo 1 e artigo 2. As seções Materiais e Métodos e Resultados e Discussões estão apresentadas nestes dois artigos.

O primeiro artigo intitulado “Contaminação de bifenilas policloradas em mel do Rio Grande do Sul” foi aceito para publicação no dia 07 de dezembro de 2020 e publicado online em 16 de janeiro de 2021 pelo periódico *Food Additives & Contaminants, Part A*, <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1865578>. O artigo apresenta o estudo a respeito da contaminação por bifenilas policloradas em amostras de méis de diferentes sistemas de produção, origem geográfica e floral. As referências deste artigo estão formatadas conforme as regras do periódico.

O segundo artigo intitulado “Parâmetros de qualidade do mel do Rio Grande do Sul de diferentes sistemas de produção e origens florais” apresenta os parâmetros de qualidade analisados nas amostras de méis comparando os resultados individuais com a legislação, bem como uma discussão sobre as diferenças significativas entre os méis de diferentes sistemas de produção e origem floral, os resultados da análise de componentes principais e da análise de agrupamento hierárquico.

Ao final, encontram-se os itens Discussão e Conclusão, que apresentam uma compilação de interpretações e comentários a respeito dos resultados que estão contidos nos artigos. As referências encontradas no último item desse documento referem-se somente às citações que aparecem nos itens Introdução, Revisão Bibliográfica e Discussão.

1 INTRODUÇÃO

A mudança de hábitos da população em busca de uma vida mais saudável faz crescer a procura por produtos naturais, principalmente por alimentos orgânicos. Dentre os produtos naturais, o mel é um alimento apreciado por seu sabor característico e considerável valor nutritivo, sendo por isso cada vez mais consumido (CHIESA et al., 2016; DA SILVA et al., 2016).

A produção de mel no Brasil no ano de 2016 atingiu 39,59 mil toneladas segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Isso significa um aumento de 4,6% em relação ao ano anterior. O valor da produção alcançou R\$ 470,51 milhões e na comparação com o ano anterior, aumentou 31,5%. A região Sul do País foi responsável por 43,1% do total produzido e o estado do Rio Grande do Sul contribuiu com 6,28 mil toneladas ou 15,8%. Um aumento de 26,6% se comparado com o ano de 2015 (IBGE, 2017).

Conforme a Associação Brasileira de Exportadores de Mel – ABEMEL, as exportações brasileiras de mel natural em 2020, no período entre janeiro e outubro, somaram 38,07 mil toneladas e renderam aproximadamente US\$ 77.910,00, sendo em média US\$ 2,05 o preço por Kg de mel. Os principais compradores do mel brasileiro foram os Estados Unidos (28,81 mil toneladas), Alemanha (4,65 mil toneladas) e o Canadá (0,97 mil toneladas) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL - ABEMEL, 2020).

Principalmente no mercado externo, o mel é um produto muito valorizado, fazendo com que a exportação seja o destino de grande parte da produção apícola brasileira. Em muitos casos, ela é mais vantajosa em quantidade e preço do que o mercado interno. Por isso, a busca por rigorosos padrões de identidade e qualidade se faz fundamental para atender um mercado consumidor cada vez mais exigente (CHIESA et al., 2016; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL - ABEMEL, 2020).

A utilização extensiva e constante de agrotóxicos e o descarte inapropriado de compostos tóxicos no meio ambiente afetam as abelhas e o mel de um sistema de produção convencional pode ser contaminado. Isso ocorre devido à contaminação direta de práticas da apicultura, bem como, pela contaminação indireta de fontes ambientais e práticas agrícolas (SHENDY et al., 2016; TETTE et al., 2016).

A produção de mel orgânico é um sistema de base ecológica, que incentiva o uso de boas práticas agrícolas para manter o equilíbrio do ecossistema agrícola e diversidade, promoção do uso sustentável dos recursos naturais, qualidade ambiental, bem-estar animal e

saúde humana (EC, 2007). O mel orgânico é mais caro e mais procurado pelo consumidor que tem o intuito de consumir um produto livre de contaminantes (CHIESA et al., 2016).

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são produtos químicos que persistem no ambiente, bioacumulam através da cadeia alimentar e representam risco de causar efeitos adversos para a saúde humana e ao meio ambiente, como por exemplo, as bifenilas policloradas (PCBs). Os PCBs eram compostos usados, principalmente, em equipamentos elétricos, como transformadores e capacitores, pois são bons isolantes térmicos e elétricos. Estas substâncias, devido ao seu descarte inapropriado, contaminaram o meio ambiente através de atividades antropogênicas e são encontradas até hoje na água, no solo, nos alimentos, animais e seres humanos. A exposição humana a esses poluentes ambientais é associada a efeitos adversos a saúde, entre eles, câncer e diabetes, além de alterações neurocomportamentais e imunológicas (ALI et al., 2016; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2017; KRAFT et al., 2017; MUSTIELES et al., 2017; VAFEIADI et al., 2017; VINCETI et al., 2017; ZIEGLER et al., 2017).

Devido à natureza lipofílica dos PCBs, eles entram na cadeia alimentar acumulando-se em gorduras, mas também podem estar presentes em produtos não gordurosos, como o mel. Devido ao contato das abelhas com a contaminação ambiental do ar e da poeira durante o voo ou ao coletar o néctar das plantas, os PCBs podem ser encontrados no mel e nos demais produtos apícolas. Como as abelhas viajam de 1,5 a 3 Km em torno da colmeia, dependendo da disponibilidade de alimento e se aproximam de muitas plantas, o mel pode ser um indicador de poluição ambiental (KUJAWSKI; NAMIEŚNIK, 2008; BADIOU-BÉNÉTEAU et al., 2013; SHENDY et al., 2016).

Em vários países, estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de novas metodologias que sejam mais efetivas no controle da qualidade do mel. Muitos desses estudos têm como objetivo principal o desenvolvimento e a validação de métodos que sejam capazes de determinar a presença de resíduos de contaminantes em méis de uma maneira rápida, simples e economicamente viável (ESTEVINHO et al., 2012; BARGAŃSKA; ŚLEBIODA; NAMIEŚNIK, 2013; PANSERI et al., 2014; RODRÍGUEZ LÓPEZ et al., 2014; TETTE et al., 2016; SAITTA et al., 2017).

Desta forma, é imprescindível aplicar essas metodologias possibilitando investigar a qualidade do mel em relação aos contaminantes ambientais ao qual a população está exposta, visto que a abelha é considerada um bioindicador ambiental. Ao mesmo tempo, são escassas as pesquisas sobre a contaminação ambiental por PCBs no mel brasileiro.

Enfim, os produtos apícolas, como o mel, são amplamente consumidos e a sua qualidade é intimamente ligada às características dos tratamentos da colmeia e à qualidade do meio ambiente. Desta forma, este trabalho tem como justificativa um problema desafiador que precisa ser abordado, inclusive nos sistemas de produção orgânicos: a contaminação por PCBs no mel em consequência da contaminação ambiental. Considerando que nosso País possui uma extensa área territorial, potencial apícola e poucos estudos sobre o impacto do descarte inadequado de poluentes ambientais em mel, a presente pesquisa visa contribuir no sentido de ampliar o conhecimento a respeito da qualidade dos méis do estado do Rio Grande do Sul.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a contaminação por bifenilas policloradas e os parâmetros físicos e químicos de qualidade em méis de sistemas orgânicos e sistemas convencionais provenientes de diversos municípios do Rio Grande do Sul.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar 11 congêneres de bifenilas policloradas (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 e PCB 180) por cromatografia á gás e detector de captura de elétrons (GC- μ ECD) nas amostras de méis;
- Determinar padrões de identidade e qualidade das amostras de méis, tais como umidade, cinzas, pH, acidez livre, acidez total, condutividade elétrica, teor de hidroximetilfurfural (HMF), índice diastásico, açúcares redutores e sacarose aparente;
- Verificar a distribuição geográfica das amostras contaminadas com PCBs;
- Avaliar a concentração de PCBs das amostras de acordo com o sistema de produção, origem geográfica e origem floral;
- Avaliar os parâmetros físicos e químicos das amostras e relacionar com o sistema de produção e origem floral.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 REVISÃO DE LITERATURA

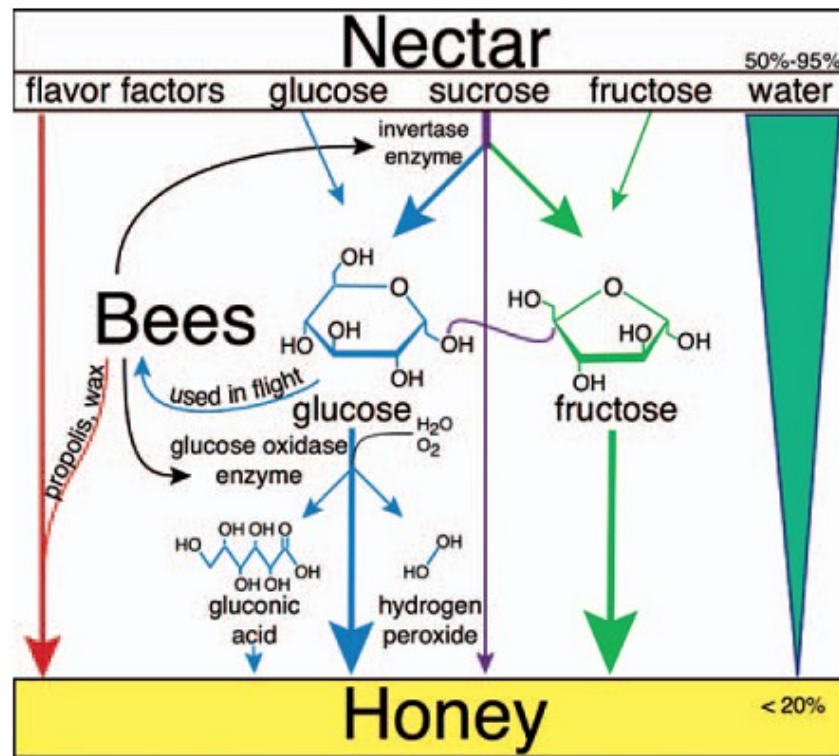
3.1.1 Mel de abelhas

Mel é um alimento apreciado por seu sabor doce e viscosidade característicos. Ele é um concentrado de açúcar invertido em solução aquosa que contém uma mistura de outros carboidratos, proteínas (enzimas), ácidos orgânicos, compostos fenólicos, vitaminas (B6, tiamina, niacina, riboflavina e ácido pantotênico), minerais (cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio e zinco), substâncias aromáticas, pigmentos, ceras e grãos de pólen, que o tornam uma mistura complexa (DA SILVA et al., 2016; BOUSSAID et al., 2018).

As abelhas são insetos de interesse econômico por serem polinizadores essenciais aos ecossistemas e pela sua atividade apícola. As abelhas operárias coletoras recolhem o néctar e o carregam na vesícula nectarífera até a colônia, repassando para outra operária ou depositando diretamente nos favos. No transporte acontece a diluição pela saliva onde são adicionadas enzimas (invertase, diastase e glicose oxidase) provenientes das glândulas hipofaríngeas das abelhas. As enzimas atuam no processamento do néctar para transformá-lo em mel conforme o diagrama na Figura 1 (CRANE; KIRK VISSCHER, 2009).

Embora, o perfil de mel concentrado não seja adequado para o crescimento microbiano, ele apresenta maior umidade durante o processo de evaporação, que pode demorar vários dias, pois ele é rediluído com água para alimentação de abelhas larvárias. Neste momento, o mel ganha proteção de outro mecanismo, o sistema de oxidação da glicose. A enzima glicose oxidase, produzida e adicionada pelas abelhas, é ativada em soluções de mel diluídas e converte a glicose em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é um potente antimicrobiano, mas também bastante volátil, sendo grande parte evaporado do mel à medida que é concentrado, embora possa ser produzido novamente quando o mel é rediluído. O ácido glucônico proporciona o abaixamento do pH e acidez adequada, que ajuda ainda a bloquear o crescimento bacteriano, além de contribuir para o flavor do mel (CRANE; KIRK VISSCHER, 2009).

Figura 1 – O mel é produzido a partir do néctar removendo a maior parte da água, convertendo sacarose em frutose e glicose, e outras alterações enzimáticas.



Fonte: Crane; Kirk Visscher, (2009).

Assim, a composição do néctar floral coletado pelas abelhas contribui diretamente na composição do mel elaborado, conferindo-lhe características específicas. Cada país tem suas próprias características de clima, flora e biodiversidade que combinadas com a presença de abelhas, permite a produção de mel com diferentes características sensoriais, físicas, químicas e padrões microbiológicos (DA SILVA et al., 2016).

Conforme a sua origem o mel é classificado em mel floral quando as abelhas utilizam néctar das plantas e mel de melato quando é obtido de secreções de líquidos açucarados colhidos pelas abelhas como se fosse néctar (BRASIL, 2000). Os dois tipos de méis passam por processos enzimáticos parecidos, porém, tem composição química diferente e, portanto, suas características físico-químicas são diferentes no produto final. O mel de melato é mais escuro, tem pH mais alto, maior acidez e menor teor de glicose, razão pela qual usualmente não cristaliza. O pH não está diretamente relacionado com a acidez, devido à ação de tamponamento de ácidos e sais minerais encontrados no mel. O mel floral é chamado monofloral, quando o néctar é coletado predominantemente de uma espécie floral e

multifloral ou silvestre, quando é obtido a partir de diferentes origens florais (BALOŠ et al., 2020).

3.1.2 Parâmetros de identidade e qualidade

Os carboidratos presentes no mel são responsáveis pelas suas características em relação à viscosidade, densidade, higroscopicidade e capacidade de granulação. A frutose e a glicose são os monossacarídeos presentes em maior concentração no mel. A proporção de frutose e glicose, 1,2:1, é utilizada para avaliar a cristalização do mel, devido à menor solubilidade da glicose em água em relação à frutose. Essa proporção sofre influência da fonte do néctar do qual o mel foi extraído, ou seja, pelos tipos de flores utilizadas pelas abelhas, origem geográfica e condições climáticas (ESCUREDO et al., 2014; DA SILVA et al., 2016). Segundo a Legislação Brasileira, o teor de açúcares redutores no mel é no mínimo de 65 g 100 g⁻¹ para mel floral (BRASIL, 2000). Os padrões do Codex Alimentarius e da União Européia indicam o valor mínimo de 60 g 100 g⁻¹ de açúcares redutores para o mel floral (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

O segundo maior constituinte do mel é a água. A umidade interfere no sabor (sensação), gosto (paladar), cor e gravidade específica, assim como nas propriedades físicas do mel, como viscosidade e cristalização. A proporção entre a glicose e a água do mel orienta a taxa de cristalização que ocorre no mel, quando a razão é inferior a 1,7, a cristalização é lenta, mas quando a proporção é superior a 2,0, a cristalização é rápida e completa. Seu conteúdo varia dependendo da origem botânica, nível de maturidade alcançado na colmeia, técnicas de processamento e condições de armazenamento, sendo um indicativo importante da tendência à fermentação afetando diretamente a conservação do produto (ESCUREDO et al., 2014; SOHAIMY; MASRY; SHEHATA, 2015; LAREDJ; WAFFA, 2017).

De acordo com a Legislação Brasileira, o Codex Alimentarius e a União Européia o teor de umidade no mel não deve ser superior 20 g 100g⁻¹ (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

A acidez livre constitui um parâmetro relacionado à deterioração do mel. Esta é caracterizada pela presença de ácidos orgânicos, em equilíbrio com as suas lactonas, ou ésteres internos e alguns íons inorgânicos, como os fosfatos, cujos ácidos correspondentes são componentes no mel. Valores elevados podem ser indicativos de fermentação dos açúcares em ácidos orgânicos. A acidez do mel e o pH entre 3,2 e 4,5 inibem o crescimento microbiano, porque o pH adequado para a maioria dos micro-organismos fica entre 7,2 e 7,4

(KARABAGIAS et al., 2014; LAREDJ; WAFFA, 2017). A Legislação Brasileira, o Codex Alimentarius e a União Européia permitem um valor máximo de 50,00 meq kg⁻¹ para a acidez livre (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

O teor de cinzas é uma medida que avalia o conteúdo mineral presente no mel. O elemento químico potássio, em geral, corresponde a um terço do conteúdo total de minerais encontrados no mel. Em menores quantidades, encontram-se sódio, ferro, cobre, silício, manganês, cálcio e magnésio. O teor de minerais pode ser indicativo de poluição ambiental e de origem geográfica, pois o conteúdo depende do tipo de solo das flores da qual foi colhido o néctar, também, estão relacionados com a cor e o sabor do mel, quanto maior a quantidade de minerais, mais escuro e mais forte é o sabor do mel. Conforme Karabagias et al. (2014) existe uma correlação diretamente proporcional entre a cor, teor de minerais e condutividade elétrica do mel (YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; KARABAGIAS et al., 2014; SOHAIMY; MASRY; SHEHATA, 2015). A Legislação Brasileira estabelece um máximo de cinzas de 0,60 g 100 g⁻¹ para mel floral. A União Européia e o Codex Alimentarius não estipulam um valor para este parâmetro (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

O conteúdo de 5-Hidroxiacetilfurfural (5-HMF) é indicativo de deterioração do mel por superaquecimento ou más condições de armazenamento. Em geral, é formado pela decomposição de monossacarídeos ou pela reação de Maillard, quando o mel é aquecido ou armazenado durante um tempo prolongado; à medida que a temperatura do tratamento térmico e o tempo de armazenamento aumentam, a concentração de HMF aumenta significativamente. Porém, apenas o teor de HMF não pode ser usado para a determinação do grau do tratamento térmico, pois mais fatores afetam seus níveis, tais como, os açúcares, os ácidos orgânicos, o pH, a umidade, a atividade de água e a fonte floral. Do mesmo modo, o HMF também pode se formar em baixas temperaturas com condições ácidas por desidratação de açúcares e reações subsequentes. Além disso, o teor elevado de HMF em méis pode ser indicativo de falsificação por adição de xarope invertido, pois ele pode ser produzido pelo aquecimento dos açúcares em meio ácido para a inversão da sacarose (CHERNETSOVA; MORLOCK, 2012; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; CHAKIR et al., 2016; DA SILVA et al., 2016). Na Legislação Brasileira o valor máximo de HMF é de 60,00 mg kg⁻¹. O Codex Alimentarius e a União Européia estabelecem como valor máximo 40,00 mg kg⁻¹ para o mel processado ou mistura de méis e um valor máximo de 80,00 mg kg⁻¹ se o mel e a mistura desses méis possuírem origem declarada de regiões de clima tropical (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

Assim como o HMF, a atividade diastásica pode ser utilizada como indicativo de prolongado tempo de armazenamento e aumento de temperatura, pois, a atividade diastásica reduz ao longo do armazenamento ou quando o produto é submetido ao aquecimento acima de 60° C. As enzimas diastases (alfa e beta amilases) são naturalmente encontradas no mel conforme a origem floral e geográfica, elas hidrolisam a molécula de amido em maltose (dissacarídeo) e maltotriose (trissacarídeo). A atividade diastásica corresponde à atividade das enzimas presentes em 1 g de mel, que pode hidrolisar 0,01 g de amido em 1 h a 40°C, expressa como o número de diastase em unidades Göthe (AHMED et al., 2013; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; CHAKIR et al., 2016). As legislações vigentes estabelecem um valor mínimo de 8,00 unidades Göthe, contudo, para méis com atividade diastásica naturalmente mais baixa, tolera-se um mínimo de 3 unidades Göthe, caso os méis possuam até 15 mg kg⁻¹ de HMF (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

A Tabela 1 apresenta algumas pesquisas que investigaram parâmetros físicos e químicos de méis em outros países.

Tabela 1 - Parâmetros físicos e químicos de méis em diversos países.

País	Umidade (g 100g ⁻¹)	Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	Cinzas (g 100g ⁻¹)	HMF (mg kg ⁻¹)	Atividade diastásica (unidades Göthe)	pH	Acidez livre (meq kg ⁻¹)	Acidez total (meq kg ⁻¹)	Açúcares redutores (g 100g ⁻¹)	Sacarose aparente (g 100g ⁻¹)	Referência
Grécia	10,47-20,47	0,81-1,75	-	-	-	-	18,08 - 41,54	23,75- 44,94	-	-	Karabagias et al., (2014)
Tunísia	17,27-19,80	0,39- 0,89	0,08-0,69	12,07-27,43	-	3,67-4,11	-	7,11-27,20	66,85-74,42	-	Boussaid et al., (2018)
Espanha	15,1-18,4	0,16-1,57	-	0,4-27,7	4,90-43,97	3,60-5,53	16-48	-	64,6-85,4	0,06-3,45	Bentabol Manzanares et al., (2014)
Marrocos	14,3-20,2	0,12-1,74	-	0,09-783	4,3-24,6	3,52-5,13	8,86-44,09	11,94- 58,03	58,77-85,56	0,42-2,98	Chakir et al., (2016)
Argentina	14,10-18,80	0,12-0,22	-	4,00-26,28	-	3,18-4,10	9,00-36,80	-	67,7-73,5	0,4-5,6	Isla et al., (2011)
Brasil	23,9-28,9	0,30-0,67	0,03-0,41	-	-	3,1-5,3	-	-	-	-	Sousa et al., (2016)
Turquia	7,99-17,40	-	-	0,00-4,12	-	3,68-6,42	3,86-30,42	6,23-34,93	55,73-80,47	2,85-8,44	Tornuk et al., (2013)

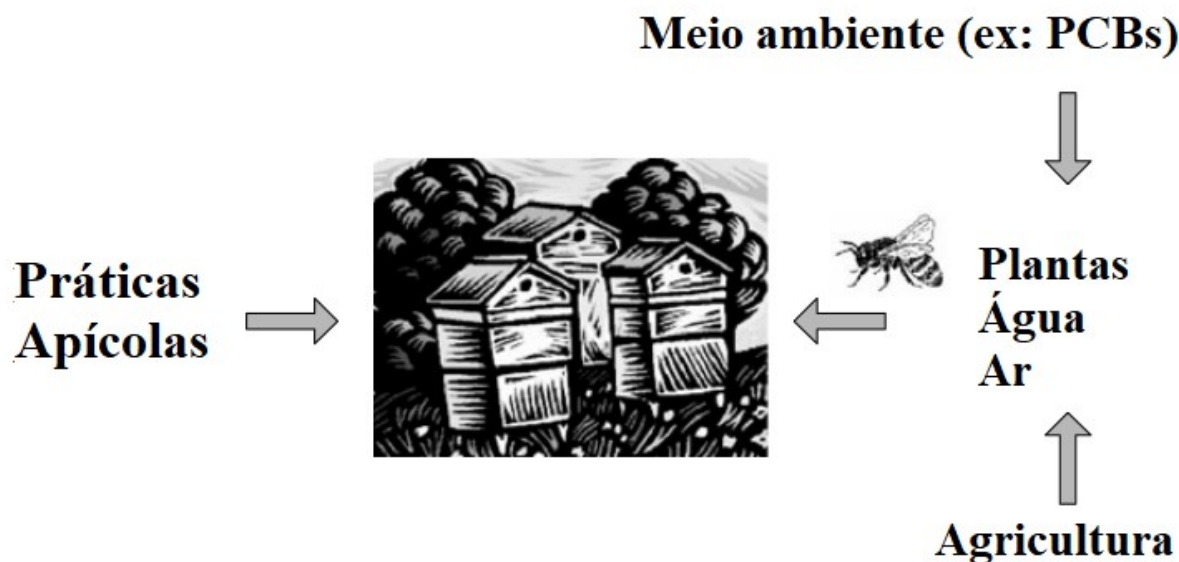
Fonte: Autora.

3.1.3 Sistema de produção convencional

O mel e os produtos apícolas passam uma imagem de produtos naturais, saudáveis e livres de contaminantes, embora em muitos lugares eles sejam produzidos em ambientes poluídos. A utilização extensiva e constante de pesticidas no meio ambiente afeta as abelhas e o mel pode ser contaminado. Isso pode ocorrer devido à contaminação direta de práticas da apicultura, bem como, pela contaminação indireta de fontes ambientais (MALHAT et al., 2015).

Acaricidas, fungicidas, inseticidas e outras substâncias tóxicas são usadas nas colônias para controlar doenças nas abelhas e dessa forma, aumentam o risco de contaminação direta do mel e dos outros produtos apícolas. Por outro lado, a contaminação indireta do meio ambiente ocorre por causa do uso generalizado e ampla distribuição de pesticidas que tem seus resíduos introduzidos no mel por abelhas que coletaram o néctar de flores contaminadas (Figura 2) (KASIOTIS et al., 2014).

Figura 2 – Possíveis fontes de contaminação do mel



Fonte: Adaptado de Kujawski e Namieśnik, (2008).

3.1.4 Sistema de produção orgânico

Atualmente, o interesse do consumidor por alimentos orgânicos mostra a preocupação com a segurança alimentar para a qualidade de vida. Ao comprar um alimento orgânico, em geral mais caro, o consumidor tem uma expectativa que vai além do sabor, aroma e aparência. Ele busca um alimento seguro, que não lhe cause danos à saúde e seja livre de contaminantes físicos, microbiológicos e principalmente sem contaminantes químicos. Esse mercado mais exigente, com maior valor agregado ao produto, estimula a produção orgânica (CHIESA et al., 2016).

“Orgânico” é um termo de rotulagem que denota produtos que foram produzidos de acordo com os padrões de um sistema de produção orgânica e certificados por um organismo ou autoridade de certificação devidamente constituída. A agricultura orgânica é baseada na minimização do uso de insumos externos, evitando o uso de fertilizantes sintéticos e pesticidas. As práticas de agricultura orgânica não podem garantir que os produtos estejam completamente livres de resíduos, devido à poluição ambiental geral. No entanto, os métodos são usados para minimizar a poluição do ar, solo e água (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

O sistema de produção orgânico do mel incentiva o uso de boas práticas agrícolas para manter o equilíbrio do ecossistema agrícola e promover a utilização sustentável dos recursos naturais, a qualidade, a saúde e o bem-estar de humanos e animais (EC, 2007). A apicultura orgânica precisa ser conduzida somente em plantações ou pomares declarados orgânicos e os mesmos não devem sofrer ação de agrotóxicos em um raio de 4,8 km, nem estarem próximas a estações de tratamento de esgoto e estradas principais a um raio de 3,2 km (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

A cultura e comercialização dos produtos orgânicos no Brasil foram aprovadas pela Lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Sua regulamentação, no entanto, ocorreu apenas em 27 de dezembro de 2007 com a publicação do Decreto N° 6.323 que visa estabelecer o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção (BRASIL, 2003, 2007a).

No Brasil, para que possam comercializar seus produtos como orgânicos, os produtores necessitam obter certificação por um Organismo da Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC) credenciado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -

MAPA; ou organizar-se em grupo e cadastrar-se junto ao MAPA para realizar a venda direta sem certificação (BRASIL, 2009).

3.1.5 Bifenilas policloradas

As Bifenilas policloradas (PCBs) foram produzidos pela cloração do bifenil na presença de catalisador. Esses compostos apresentam dois anéis benzênicos unidos pela ligação C-C e sua fórmula geral é $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ onde $(1 \leq n \leq 10)$. Podem apresentar de 1 a 10 átomos de cloro na molécula e assim formar, teoricamente, até 209 congêneres (WHO, 2000).

Os PCBs são contaminantes químicos organoclorados pertencentes a classe dos poluentes orgânicos persistentes e estão presentes até hoje em indicadores de poluição ambiental, devido principalmente ao descarte inapropriado de equipamentos antigos ou incineração não efetiva, apesar de sua fabricação ter sido proibida em 1977 nos EUA e em 1981 no Brasil. O Brasil importava o produto para ser utilizado em transformadores, capacitores, fluidos de transferência de calor, aditivos em plastificantes, tintas, adesivos e pesticidas. A partir da publicação da Portaria Interministerial 19, de 29 de janeiro de 1981, foi proibido fabricar, comercializar ou usar os PCBs, comercialmente conhecidos como Askarel, Aroclor, Clophen, Phenoclor, Kanechlor e outros, em território nacional, mas permitido que os equipamentos já instalados continuassem em uso até a sua substituição integral ou troca do fluido dielétrico por outro produto isento de PCBs (BRASIL, 1981).

Embora os níveis de PCBs devam diminuir lentamente após sua proibição, eles ainda estão entre os poluentes mais persistentes e onipresentes no meio ambiente, porque ainda estão presentes em aplicações elétricas, como transformadores e capacitores, bem como em prédios, por exemplo, nas tintas e selantes antigos (EGSMOSE et al., 2016; VORKAMP, 2016; QUINETE et al., 2017).

A exposição humana aos PCBs do meio ambiente ocorre por absorção dérmica, inalação e principalmente pela ingestão de alimentos com baixos níveis de contaminação (WHO, 2000; BERGHUIS et al., 2014; KRAFT et al., 2017; QUINETE et al., 2017).

O mecanismo e a cinética de biotransformação dependem da estrutura do congêner. Os mais tóxicos, são o PCB 77, PCB 81, PCB 126 e PCB 169. Eles tem alta afinidade com o receptor Ah (*Aryl hydrocarbon*) e seus mecanismos de ação bioquímico e toxicológico são semelhantes aos da 2,3,7,8 tetraclorodibenzeno-p-dioxina (TCDD) e, por isso, são chamados de PCBs semelhantes as dioxinas. As dioxinas são formadas a partir dos PCBs, por combustão ou processos industriais. Os demais congêneres não semelhantes às dioxinas são

menos tóxicos, tem pequena afinidade pelos receptores Ah, porém são mais frequentes e em maiores concentrações na cadeia alimentar (GRIMM et al., 2015).

Os principais efeitos dos PCBs sobre a saúde humana são discutidos na literatura em relação à neurotoxicidade (VINCETI et al., 2017), imunotoxicidade (ZIEGLER et al., 2017), toxicidade reprodutiva, efeitos da tireoide (QUINETE et al., 2017), efeitos hepáticos, efeitos na pele, efeitos cardiovasculares (KIM et al., 2015), diabetes (ALI et al., 2016; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2017; VAFEIADI et al., 2017), síndrome metabólica (obesidade, colesterol elevado, alta pressão arterial e resistência à insulina) (MUSTIELES et al., 2017) e efeitos carcinogênicos (KRAFT et al., 2017).

A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) classifica o PCB 126 no Grupo 1 como comprovadamente carcinogênico para os seres humanos e animais desde 2012 e a partir de 2016 os demais congêneres também (IARC, 2016; LAUBY-SECRETAN et al., 2016).

O monitoramento de contaminantes no mel e produtos apícolas é importante, tanto para a proteção do consumidor, quanto para fornecer informações sobre o uso de produtos químicos em áreas próximas das colmeias, bem como, indicar alguma contaminação ambiental, no caso dos PCBs (ROSZKO et al., 2016). A Tabela 2 apresenta algumas pesquisas que investigaram a contaminação de PCBs em mel em diversos países.

Tabela 2 - Ocorrência de bifenilas policloradas em mel investigadas em diversos países.

País	Congêneres analisados	ΣPCBs	Referência
Itália (regiões da Lombardia, Calabria e Trentino)	PCB 28, 52, 101, 138, 153 e 180	0,27 - 0,92 ng g ⁻¹ (concentração individual)	CHIESA et al., (2016)
Itália (Sicília e Calábria)	PCB 28, 52, 77, 81, 101,105, 114, 118, 123, 126,138, 153, 156, 157, 167, 169, 180 e 189	<LOD (LOD = 0,10 ng g ⁻¹ e LOD = 0,12 ng g ⁻¹)	SAITTA et al., (2017)
Egito	PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180	<LOD (LOD = 1,00 ng g ⁻¹ e LOD = 3,00 ng g ⁻¹)	SHENDY et al., (2016)
Líbano	PCB 18, 31, 28, 52, 44, 70, 81, 101, 123, 118, 114, 105, 126, 149, 153, 138, 167, 156, 157, 169, 180, 189	<LOD (LOD = 0,92 ng g ⁻¹ até LOD = 16,76 ng g ⁻¹)	AL-ALAM et al., (2019)
Turquia	PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180	1,48 ng g ⁻¹	ERDOĞRUL, (2007)

Espanha	PCB 28, 52, 101, 138, 153 e 180	4,30 - 593,70 ng g ⁻¹ (concentração individual)	HERRERA et al., (2005)
---------	---------------------------------	---	------------------------

LOD: Limite de detecção.

Fonte: Autora.

3.1.6 Análise de PCBs em mel

O método de preparo de amostra denominado QuEChERS, proposto em 2003 por Anastassiades et al. para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas e verduras, é utilizado, com modificações do procedimento original, inclusive para determinação de contaminantes organoclorados em matrizes como o mel e produtos apícolas (KASIOTIS et al., 2014; SAITTA et al., 2017; HERRERA LÓPEZ et al., 2016; SHENDY et al., 2016).

Neste método, a acetonitrila é o solvente para a extração e os sais, acetato de sódio e sulfato de magnésio atuam na manutenção do pH e como secante, respectivamente, promovendo uma melhor separação entre as fases orgânica e aquosa. Para efeitos de matriz, devido à alta complexidade do mel, contendo proteínas, lipídios e cera, a etapa de limpeza é uma etapa importante. Assim, o sorvente amina primária secundária (PSA) é utilizado para remover ácidos orgânicos polares, bem como pigmentos polares, açúcares e ácidos graxos dos extratos (MALHAT et al., 2015; AL-ALAM et al., 2017).

A identificação e quantificação de PCBs em mel pode ser realizada por cromatografia à gás ou cromatografia líquida combinados com vários sistemas de detecção (RIAL-OTERO et al., 2007; SOUZA TETTE et al., 2016).

O detector de captura de elétrons (DCE), acoplado ao cromatógrafo à gás, responde seletivamente aos compostos orgânicos contendo halogenados, como pesticidas e bifenilas policloradas. Nesse detector, a amostra eluída de uma coluna passa sobre uma fonte radioativa emissora β de níquel-63. Um elétron do emissor causa a ionização do gás de arraste (ex.: gás hélio) e a produção de uma rajada de elétrons. Na ausência de espécies orgânicas, produz-se uma corrente constante entre um par de eletrodos em decorrência desse processo de ionização. Contudo, a corrente decresce significativamente na presença de moléculas orgânicas que contêm grupos funcionais eletronegativos que tendem a capturar elétrons. Os compostos halogenados, peróxidos, quinonas e grupos nitro são detectados com alta sensibilidade. O detector não é sensível a grupos funcionais como aminas, álcoois e hidrocarbonetos (SKOOG et al., 2015).

3.1.7 Controle dos níveis de resíduos no mel

No Brasil, o MAPA incluiu o mel no Programa de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCR) no ano de 2007 após o embargo ao mel brasileiro determinado pela comunidade Europeia, em 2005. A implementação foi justificada pela necessidade de análises de controle de qualidade complementares, semelhante às que são realizados pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) ao mel produzido por seus países-membros. O PNCR estabelece análise anual de amostras de mel do país e torna possível o conhecimento das violações decorrentes do uso indevido de medicamentos veterinários ou de contaminantes ambientais. O programa foi regulamentado pela Instrução Normativa nº 9 em 2007 e prevê a execução de análises e determina o limite de referência ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) para vários tipos de compostos, entre eles, organoclorados, carbamatos, piretroides e organofosforados além do monitoramento de resíduos de antibióticos no mel, mas não inclui as bifenilas policloradas (BRASIL, 2007b).

3.2 ARTIGO 1

Artigo enviado em 13 de agosto de 2020. Aceito para publicação em 07 de dezembro de 2020. Publicado online em 16 de janeiro de 2021 pelo periódico *Food Additives & Contaminants, Part A*. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1865578>

CONTAMINAÇÃO DE BIFENILAS POLICLORADAS EM MEL DO RIO GRANDE DO SUL

Santos, Mariele dos^a; Vareli, Catiucia S.^b; Janisch, Bárbara^b, Pizzutti, Ionara R.^b; Fortes, Juciane^a; Sautter, Cláudia Kaehler^a; and Costabeber, Ijoni H.^c

^a*Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil;*

^b*Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil;*

^c*Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

RESUMO

Poluentes orgânicos persistentes são caracterizados por sua estrutura química, persistência ambiental e toxicidade para as populações humanas e selvagens. A produção desses produtos químicos é regulamentada e restrita. No entanto, eles continuam a ser detectados no ambiente. Neste estudo, foi investigada a ocorrência de 11 congêneres de bifenilas policloradas (PCBs 28, 52, 77, 81, 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180) em 90 amostras de mel produzidas no estado do Rio Grande do Sul. As amostras eram de diferentes municípios, sistemas de produção e origens florais. A extração foi realizada pelo método QuEChERS modificado (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) seguido de cromatografia gasosa com detector de captura de microelétrons. Os resultados mostraram a presença de 4 congêneres (PCBs 28, 77, 81, 101) em 15 amostras de mel, confirmando a contaminação ambiental no Sul do Brasil. Entre as amostras contaminadas, não foram identificadas diferenças significativas quanto ao sistema de produção e origem floral.

PALAVRAS-CHAVE: poluição ambiental; poluentes orgânicos persistentes; produção orgânica; bioindicadores; qualidade dos alimentos.

INTRODUÇÃO

As abelhas e seus produtos são bioindicadores de poluição ambiental devido a sua intensa atividade de forrageamento nas proximidades de sua colmeia. Ao coletar água, néctar e pólen das flores, as abelhas podem carregar contaminantes ambientais em seus pelos, por inalação ou ingestão, ao serem expostas a um grande número de poluentes, como pesticidas, em um raio que varia de 1,5 a 3 km ao redor da colmeia, dependendo da abundância de alimentos (Badiou-Bénéteau et al. 2013; Drummond et al. 2017; García-Valcárcel et al. 2016; Herrera López et al. 2016).

O uso extensivo e constante de pesticidas, bem como o descarte inadequado de equipamentos contendo compostos tóxicos, afetam as abelhas e contaminam diretamente o mel por meio de práticas apícolas e indiretamente por meio de fontes ambientais e práticas agrícolas (Shendy et al. 2016; Tette et al. 2016).

O mel é um importante produto apícola, amplamente consumido por sua doçura e por sua percepção como alimento puro, não contaminado, saudável, natural, principalmente o mel orgânico; embora isso nem sempre seja verdade (Chiesa et al. 2016). Os sistemas de produção orgânicos seguem padrões que os diferenciam dos sistemas de produção convencionais, mas isso não garante que os produtos sejam totalmente isentos de contaminantes, devido à poluição ambiental. A classificação do mel como orgânico está fortemente relacionada às características dos tratamentos das colmeias, condições de extração, processamento e armazenamento dos produtos apícolas e também depende da qualidade do meio ambiente (EC 2007).

A legislação para apicultura orgânica estabelece restrições quanto à localização de apiários, alimentação, prevenção de doenças e tratamentos veterinários. Estabelece que as plantas que podem ser forrageadas pelas abelhas devem estar longe de qualquer fonte de poluição, como áreas industriais e centros urbanos (Brasil 2009; EC 2007). A legislação brasileira estabelece que a distância entre a produção de mel orgânico e o sistema de produção convencional deve ser adequada para evitar a contaminação de agrotóxicos e garantir a qualidade orgânica, mas não define essa distância (Brasil 2009).

Poluentes orgânicos persistentes (POPs), por exemplo, bifenilos policlorados (PCBs), são produtos químicos que se bioacumulam na cadeia alimentar e apresentam risco de causar efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente. Os PCBs foram usados principalmente em equipamentos elétricos, como transformadores e capacitores, como isoladores. A produção global de PCB acumulada foi de aproximadamente 1,3 milhão de toneladas (Zhao et al. 2017).

No Brasil, PCBs foram importados para uso em transformadores, capacitores, fluidos de transferência de calor, aditivos em plastificantes, tintas, adesivos e pesticidas, até que seu uso e venda foram proibidos em 1981. No entanto, a regulamentação permitiu a continuidade do uso de equipamentos com PCBs já instalado até sua substituição (Brasil 1981).

Devido ao descarte inadequado de equipamentos contendo PCBs, o meio ambiente tem sido contaminado por meio de atividades antrópicas. Eles ainda são encontrados hoje na água, solo, alimentos, animais e humanos. A exposição humana a esses poluentes ambientais está associada a efeitos adversos à saúde, incluindo câncer e diabetes, além de alterações neurocomportamentais e imunológicas (Ali et al. 2016; Costabeber e Emanuelli 2003; Henríquez-Hernández et al. 2017; Kraft et al. 2017 ; Mustieles et al. 2017; Vafeiadi et al. 2017; Vincenti et al. 2017; Ziegler et al. 2017).

Os PCBs são caracterizados por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação C-C e sua fórmula geral é $C_{12}H_{(10 - n)} Cl_n$ em que ($1 \leq n \leq 10$). As fórmulas estruturais dos congêneres aqui estudados são fornecidas em material suplementar (Figura 1S do Material Suplementar após as referências), e podem ter de 1 a 10 átomos de cloro na molécula; portanto, a formação de até 209 congêneres é teoricamente possível (Kraft et al. 2017).

Os humanos são expostos a PCBs ambientais por meio da absorção cutânea, inalação e principalmente pela ingestão de alimentos (Kraft et al. 2017; Quinete et al. 2017; WHO 2000). O mecanismo de biotransformação e a cinética dependem da estrutura do congêneres. Dentre eles, os congêneres PCBs 77, 81, 118, 126 e 169 são importantes por serem os mais tóxicos. Possuem mecanismos de ação bioquímica e toxicológica semelhantes aos da molécula tetraclorodibenzo-p-dioxina (Grimm et al. 2015). Enquanto isso, os PCBs não semelhantes a dioxinas 28, 52, 101, 138, 153 e 180 são os congêneres encontrados em concentrações mais elevadas na cadeia alimentar (Kraft et al. 2017).

Devido à sua lipofilicidade, os PCBs entram na cadeia alimentar, acumulando-se principalmente em itens gordurosos, mas também em produtos sem gordura, como o mel (Badiou-Bénéteau et al. 2013; Kujawski e Namieśnik 2008; Shendy et al. 2016). A contaminação ambiental é um problema desafiador que deve ser abordado, inclusive em locais com sistemas de produção orgânica (Chiesa et al. 2016).

A classificação do mel orgânico está fortemente relacionada às características dos tratamentos das colmeias, condições de extração, processamento e armazenamento dos produtos apícolas. Também depende da qualidade do meio ambiente. A legislação estabelece restrições quanto à localização de apiários, alimentação, prevenção de doenças e tratamentos veterinários. Estabelece que as plantas que podem ser forrageadas pelas abelhas devem estar

longe de qualquer fonte de poluição, como áreas industriais e centros urbanos (Brasil 2009; EC 2007). A legislação brasileira estabelece que a distância entre a produção de mel orgânico e o sistema de produção convencional deve ser adequada para evitar a contaminação de agrotóxicos e garantir a qualidade orgânica, mas não define essa distância (Brasil 2009).

Vários estudos em diversos países foram realizados para desenvolver e validar métodos que são mais rápidos e eficazes no controle da qualidade do mel. A extração da matriz e a purificação da amostra são cruciais para determinar os contaminantes do mel. O método Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) modificado e a adição de amina secundária primária para purificação são técnicas de extração eficientes e facilmente realizadas para compostos como PCBs, que reduzem problemas comuns como tempo de extração, volume de resíduos gerado e interferência da matriz (Bargańska et al. 2013; Estevinho et al. 2012; Panseri et al. 2014; Rodríguez López et al. 2014; Saitta et al. 2017; Tette et al. 2016).

A cromatografia gasosa com detecção de captura de microelétrons (GC- μ ECD) responde seletivamente e com alta sensibilidade a compostos orgânicos, particularmente aqueles contendo halogênios, e é usada com sucesso para estudar compostos presentes em níveis de traços em alimentos (Afful et al. 2013; Miao; 2013; Tette et al. 2016).

Faltam informações sobre os PCBs no mel do Brasil. O presente estudo tem como objetivo investigar a presença de 11 congêneres de PCB em mel produzido no estado brasileiro do Rio Grande do Sul usando o método QuEChERS modificado, seguido de análise GC- μ ECD. As amostras eram de diferentes municípios, sistemas de produção e origens florais.

MATERIAL E MÉTODOS

QUÍMICOS E REAGENTES

Os padrões dos 11 PCBs, congêneres 28, 52, 77, 81, 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180 (Material Suplementar Figura S1) foram adquiridos da AccuStandard (New Haven, Connecticut, Estados Unidos). Bromofós etil (Dr. Ershenstorf, Alemanha) com pureza > 98,5% foi usado como o padrão interno do instrumento. Os seguintes reagentes foram usados: acetato de sódio anidro, PA (JT Baker, México), sulfato de magnésio anidro (JT Baker, Japão), amina secundária primária (PSA) (Supelco, Estados Unidos), isooctano (Macron Chemicals, Estados Unidos), tolueno (Mallinckrodt Chemical, Estados Unidos), ácido acético

glacial (JT Baker, Estados Unidos) e acetonitrila de grau HPLC (Sigma-Aldrich, Estados Unidos).

As soluções de trabalho de grau analítico foram preparadas diariamente diluindo a solução de mistura dos 11 padrões de PCB em 9: 1 isooctano / tolueno armazenado a -20°C , que foram usados para construir as curvas de calibração.

COLETA DE AMOSTRAS

Noventa amostras de 500 g de mel foram fornecidas por apicultores cujas colmeias estavam localizadas em 26 diferentes municípios do Rio Grande do Sul (Figura 1). Os méis foram produzidos no mesmo período do ano e coletados entre dezembro de 2017 e março de 2018. As colmeias localizavam-se em áreas rurais próximas a matas nativas ou áreas agrícolas, sem atividades industriais. Das 90 amostras, 47 eram oriundas de sistemas de produção orgânicos, sendo 27 multiflorais e 20 monoflorais; 43 amostras eram provenientes de sistemas de produção convencionais, 33 multiflorais e 10 monoflorais (Tabela S1 de Material Suplementar).

Os PCBs foram determinados no Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes (Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes - CEPARC) da Universidade Federal de Santa Maria (Universidade Federal de Santa Maria - UFSM), de acordo com a norma NBR ISO / IEC 17025: 2017.

Figura 1 - Origem geográfica das 90 amostras: 26 municípios do Rio Grande do Sul, Brasil.



EXTRAÇÃO E LIMPEZA

As amostras de mel foram analisadas usando o método de extração QuEChERS modificado e GC- μ ECD de acordo com Vareli et al (2018).

Cada amostra de 500 g de mel foi homogeneizada com uma espátula e a seguir pesando uma alíquota de 10 g de mel em tubo cônico de 50 mL em balança semianalítica modelo Mettler PM600 (Mettler Instrument B. V., Suíça). Em seguida, foram adicionados 10 mL de água ultrapura Milli-Q (Millipore, Brasil) e a mistura foi agitada manualmente por aproximadamente 1 min e, em seguida, agitada em vórtice por um minuto adicional em um modelo de vórtice Genie2 (Scientific Industries, Inc., Estados Unidos) até homogeneização completa. A extração foi realizada de acordo com o método QuEChERS modificado,

adicionando 10 mL de acetonitrila contendo 1% de ácido acético em um dispensador de volume (Brand, Alemanha). Em seguida, a agitação de bancada foi realizada (GFL, Alemanha) por 1 min. Em seguida, 1 g de acetato de sódio e 4 g de sulfato de magnésio anidro foram adicionados e a agitação em vórtex foi realizada por 1 min, seguida de centrifugação a 3.500 rpm por 3 min em centrífuga (Heraus Megafuge 16 R, Thermo Fisher Scientific, Alemanha). Dois mL do sobrenadante foram coletados em um tubo cônico de 15 mL contendo 50 mg de PSA e 300 mg de sulfato de magnésio anidro e pesados em balança analítica (Sartorius LA 230S, Sartorius Ag, Alemanha). O tubo cônico contendo a mistura foi agitado em vórtex por 1 min e centrifugado a 3.500 rpm por 3 minutos. Em seguida, 990 μL de extrato foram coletados em um frasco, 10 μL de uma solução de bromofós etil 10 mg L^{-1} foram adicionados e a solução foi injetada no GC- μECD .

ANÁLISE GC- μECD

As análises cromatográficas foram realizadas usando um cromatógrafo de gás (HP6890, Hewlett Packard, Alemanha) equipado com um microdetector de captura de elétrons, injetor automático Split / splitless (HP6890, Hewlett Packard, Alemanha), amostrador automático (G1512A, Hewlett Packard, Alemanha), capilar coluna DB-5 espectrômetro de massa (60 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm) e software HP 6890 GC ChemStation (Hewlett Packard, Alemanha).

As seguintes condições cromatográficas foram utilizadas para o sistema GC- μECD : para GC: volume de injeção de 4 μL ; injetor em modo splitless; temperatura do injetor = 200 $^{\circ}\text{C}$; programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 100 $^{\circ}\text{C}$ (4 min), aumento de temperatura de 40 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ para 200 $^{\circ}\text{C}$ (6 min), aumento de temperatura de 40 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ para 240 $^{\circ}\text{C}$ (6 min) e Aumento de temperatura de 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ para 280 $^{\circ}\text{C}$ (6 min), para um tempo total de execução cromatográfica de 22 min; o gás de arraste era o hélio; programação do fluxo de gás de arraste: 1,0 mL min^{-1} inicialmente, 1,0 mL min^{-1} aumento para 2,0 mL min^{-1} (10 min), 0,8 mL min^{-1} aumento para 2,5 mL min^{-1} (3 min), 0,8 mL min^{-1} aumento para 1,0 mL min^{-1} ; para μECD : temperatura do detector = 330 $^{\circ}\text{C}$; o gás de reposição utilizado foi nitrogênio ultrapuro; e fator = 1.

PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

O método foi validado quanto à sua curva analítica, linearidade, efeito de matriz (seletividade), controle de qualidade, precisão e precisão intermediária (repetibilidade), exatidão (fortificação / recuperação) e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) (Vareli et al. 2018; SANTE 2015).

O bromofós etil foi utilizado como instrumento de padrão interno (I.I.S.) devido à sua boa resposta e resolução cromatográfica comprovada em estudos de seletividade em relação aos compostos alvo do estudo. O objetivo do uso do composto era corrigir qualquer possível variação na injeção (SANTE 2015).

As 7 curvas analíticas foram preparadas em isooctano: solvente tolueno (9: 1, v / v) e 7 curvas analíticas em extrato de matriz controle, livre de contaminação, em 7 níveis de concentração: 1; 5; 20; 50; 100; 200; 300 ng g⁻¹. Os padrões foram adicionados antes da extração. Todos os níveis receberam a mesma quantidade de matriz de controle e solvente. Após, 4 µL de cada solução analítica foram injetados no sistema GC-µECD. 4 µL foram usados para aumentar a sensibilidade do método, respeitando os valores do solvente expandido no liner. Cada concentração foi injetada 7 vezes no solvente, 7 vezes cada concentração no extrato da matriz, controle da matriz e controle do solvente. Através das áreas obtidas, foi verificada a linearidade do método cromatográfico. A linearidade foi avaliada levando-se em consideração o coeficiente de determinação e os valores residuais.

O efeito da matriz foi calculado levando-se em consideração a inclinação da curva analítica no solvente e no extrato de controle da matriz. Para verificar a linearidade, não apenas o coeficiente de determinação (r^2) foi avaliado, mas também os resíduos das curvas analíticas preparadas em um extrato de matriz de controle. 10 µL do I.I.S., bromofós etil 10 mg L⁻¹, foram adicionados diretamente ao frasco, momentos antes do início da análise. A precisão, considerando a repetibilidade do instrumento, foi avaliada através da injeção de 7 vezes cada nível da curva analítica e 7 vezes cada nível das fortificações. A precisão intermediária do método foi determinada pela realização de dois testes de fortificação / recuperação em 3 níveis de concentração diferentes (20, 50 e 100 ng g⁻¹) em 7 dias, porém por um segundo analista e, em seguida, o desvio padrão relativo (RSD%) foi avaliada das recuperações que cada analista obteve. Além disso, o teste t foi usado para verificar se os resultados entre os dois analistas eram estatisticamente semelhantes. Os resultados da fortificação / recuperação foram utilizados para estudar a precisão, os quais foram

comparados com o valor fortificado da amostra (valor real). Os resultados de recuperação para serem aceitos precisavam estar na faixa de 70 a 120%, com precisão de até 20%, conforme SANTE (2015). O LOD foi calculado como 3 vezes a relação sinal-ruído e o LOQ foi o nível mais baixo dos testes de recuperação.

Se qualquer amostra de mel tivesse uma concentração de PCB maior que a faixa linear, ela seria diluída proporcionalmente com solvente para determinar as concentrações de PCB dentro da faixa de validação linear para cálculo posterior da concentração real sem diluição.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças na contaminação das amostras de acordo com a origem geográfica foram avaliadas apenas pela análise estatística descritiva simples, devido ao número reduzido de amostras contaminadas por município. Testes não paramétricos foram usados para avaliar as diferenças na contaminação da amostra entre os sistemas de produção e as origens florais, já que os testes de normalidade mostraram que as concentrações de congêneres de PCB no mel não seguiram uma distribuição normal. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Os dados foram analisados no software SPSS, versão 23 (George & Mallery 2016).

RESULTADO E DISCUSSÃO

MÉTODO DE VALIDAÇÃO

As curvas analíticas construídas a partir dos padrões com a matriz foram lineares no intervalo de 5 a 300 ng mL⁻¹, injetando cada solução 7 vezes. O r^2 do intervalo variou de 0,9710 a 0,9964. A faixa de trabalho foi escolhida por corresponder ao nível que estaria presente nas amostras. Os níveis mais baixos da faixa de trabalho incluem os limites de detecção de todos os compostos. Apenas uma amostra de mel apresentou concentração de PCB 28 maior que a faixa linear, por isso foi diluída proporcionalmente com solvente para determinar a concentração de PCB dentro da faixa de validação linear para posterior cálculo da concentração real sem diluição.

Os solventes e reagentes, assim como a amostra controle de mel, foram submetidos ao processo de extração e condições cromatográficas descritas para verificação da presença de interferentes e foram adequados para o estudo de caracterização realizado. A precisão

intermediária foi inferior a 18% para todos os congêneres e o RSD foi de 22% apenas para o PCB 126. Os testes mostraram acurácias (recuperações) variando de 81 a 116% para todos os congêneres, com um desvio padrão relativo (RSD) $\leq 20\%$ para todos os níveis testados. Os testes de efeito de matriz realizados durante a validação apresentaram resultados satisfatórios. A quantificação final das 90 amostras foi feita em uma matriz pareada.

Os LODs determinados nas amostras de mel foram 5 ng g^{-1} para os congêneres PCB 28, 126, 169 e 180 e 10 ng g^{-1} para os congêneres PCB 52, 77, 81, 101, 118, 138 e 153. Os LOQs dos 11 congêneres de PCB foram 20 ng g^{-1} , o nível mais baixo dos testes de recuperação.

PERFIL DE CONTAMINAÇÃO DE PCB DAS AMOSTRAS

Das 90 amostras analisadas, 15 deram positivo para pelo menos um dos congêneres analisados, aproximadamente 16,7% (Tabela 1). Dos 11 congêneres de PCB considerados neste estudo, 4 foram encontrados (PCBs 28, 77, 81 e 101). PCB 28 foi encontrado em 11,1% das amostras (10 amostras), PCB 101 em 3,4% (3 amostras), PCB 77 em 2,2% (2 amostras) e PCB 81 em 1,1% (1 amostra). Apenas uma amostra apresentou contaminação com mais de um congêneres (PCBs 28 e 101). Os congêneres 52, 118, 126, 138, 153, 169 e 180 não foram detectados.

Os níveis máximos de concentração detectados foram 635 ng g^{-1} para PCB 28, 194 ng g^{-1} para PCB 101, 65 ng g^{-1} para PCB 77 e 50 ng g^{-1} para PCB 81. A soma (ΣPCB) da média as concentrações de PCBs (ng g^{-1}) nas 15 amostras de mel contaminado variaram de 27 a $531,3 \text{ ng g}^{-1}$ (Tabela 1).

As 15 amostras contaminadas foram provenientes de 9 municípios do Rio Grande do Sul (Tabela 1). Devido ao pequeno número de amostras contaminadas por município, não é adequado o uso de teste estatístico em relação à origem, apenas uma simples comparação das médias de PCBs por município. As amostras com os maiores níveis médios de concentração de PCBs foram dos municípios de Alegrete (531 ng g^{-1}), Santana do Livramento (241 ng g^{-1}), Bagé (223 ng g^{-1}), seguido de São Francisco de Assis. (183 ng g^{-1}), Cacequi (122 ng g^{-1}), Candiota (87 ng g^{-1}), Manoel Viana (85 ng g^{-1}), Santiago (51 ng g^{-1}) e Unistalda (27 ng g^{-1}). Os outros 17 municípios não apresentaram amostras contaminadas.

Dois congêneres do tipo dioxina foram detectados: PCB 77 foi encontrado em duas amostras, uma de Cacequi (59 ng g^{-1}) e outra de Santana do Livramento (57 ng g^{-1}); PCB 81 foi encontrado em uma amostra de Santiago ($40,3 \text{ ng g}^{-1}$).

O teste não paramétrico aplicado aos dois sistemas de produção estudados não mostrou diferença significativa ($p = 0,955$) entre as médias de Σ PCBs das 7 amostras de produção orgânica (139 ng g^{-1}) e das 8 amostras de produção convencional (112 ng g^{-1}).

Das 15 amostras contaminadas, 11 eram de méis multiflorais. As 4 amostras monoflorais contaminadas eram de mel de eucalipto. O teste não paramétrico não mostrou diferença significativa ($p = 0,489$) entre as Σ PCBs médias das amostras de mel multifloral (142 ng g^{-1}) e monofloral (82 ng g^{-1}).

A distribuição dos Σ PCBs (ng g^{-1}) nas amostras dos sistemas de produção orgânicos e convencionais e de diferentes origens florais é mostrada nas Figuras 2 e 3, com boxplots ilustrando a faixa (barras mínimas e máximas), quartis (caixa), mediana (indicada pela linha em negrito) e outlier (*).

DISCUSSÃO

Todos os parâmetros de validação do método foram atendidos para garantir a confiabilidade dos resultados sobre a presença de contaminação de PCBs em amostras reais. Os valores encontrados para LOD (5 ng g^{-1} e 10 ng g^{-1}) foram superiores aos relatados por Saitta et al. (2017), 0,10 a $0,12 \text{ ng g}^{-1}$, e por Erdoğan (2007), $0,02 \text{ ng g}^{-1}$ para todos os PCBs. Os resultados das recuperações no presente estudo (81 a 116%) foram superiores aos valores entre 77% e 89% encontrados na literatura (Erdoğan 2007).

ANÁLISE DO PERFIL DE CONTAMINAÇÃO DE PCB DAS AMOSTRAS

Congêneres menos clorados, como os PCBs 28, 77, 81 e 101, com 3, 4, 4 e 5 átomos de cloro na molécula, respectivamente, são mais solúveis em água do que os congêneres mais clorados, que são mais lipofílicos. Essas diferenças têm um forte efeito na persistência de congêneres e em seus coeficientes de partição ambiental. Na atmosfera, PCBs e outros poluentes são distribuídos entre a fase gasosa e os particulados. PCBs contendo até 5 átomos de cloro são encontrados na fase gasosa, enquanto congêneres contendo mais de 5 átomos de cloro são encontrados em partículas (WHO 2002; Zhao et al. 2017).

Todas as amostras de mel foram produzidas no mesmo período do ano e coletadas em colmeias durante o verão. Os PCBs seguem a tendência sazonal, tendendo a ser transportados na atmosfera durante a estação quente e depositados no solo durante a estação fria (Tremolada et al. 2015). O perfil de contaminação encontrado é consequência da contaminação ambiental dos locais visitados por abelhas em busca de néctar. Segundo Erdoğan (2007) as abelhas encontraram essas substâncias durante a busca e / ou transporte do néctar no ambiente por meio do ar contaminado, ao invés do contato com partículas na superfície das plantas.

Faltam informações sobre a presença de PCBs no mel do Rio Grande do Sul. Níveis mais elevados de contaminação foram encontrados do que aqueles relatados por estudos em méis de outros países (Chiesa et al. 2016; Erdoğan 2007; Saitta et al. 2017). No entanto, Herrera et al. (2005) também encontraram altos valores para PCB 28 ($593,7 \text{ ng g}^{-1}$) quando analisaram seis congêneres (PCBs 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180) em 111 méis na Espanha; as concentrações individuais máximas dos outros congêneres estavam entre 4,3 - $28,4 \text{ ng g}^{-1}$.

A pesquisa de Erdoğan (2007) encontrou PCB 28 em uma frequência mais alta do que os outros congêneres (PCBs 52, 101, 118, 138, 153 e 180) ao analisar amostras de mel de Kahramanmaraş, Turquia por GC- μ ECD, o que concorda com esses achados. No entanto, no

estudo de Erdoğan, as concentrações de PCB 28 variaram de 0,25 a 3,07 ng g⁻¹, o que é menor do que as do presente estudo, e PCBs 101 e 180 não foram detectados. As concentrações médias dos outros congêneres, PCBs 52, 118, 138 e 153, foram 1,26, 0,10, 0,21 e 0,10 ng g⁻¹, respectivamente. Saitta et al. (2017) não detectou nenhum dos 18 PCBs (28, 52, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 138, 153, 156, 157, 180, 167, 169 e 189) analisados em amostras de mel italiano das regiões da Sicília e Calábria por GC-MS / MS.

A detecção do PCB 28 no mel é alarmante porque este congêneres está correlacionado direta e proporcionalmente com o câncer de mama ao analisar os PCBs em amostras de tecido adiposo das glândulas mamárias de 123 mulheres em Córdoba na Espanha (Costabeber e Emanuelli 2003). Mohr et al. (2015) identificaram o PCB 28 ao analisar cinco congêneres (PCBs 28, 52, 138, 153 e 180) no soro do cordão umbilical de 148 recém-nascidos do Hospital Universitário de Santa Maria (Hospital Universitário de Santa Maria), Rio Grande do Sul (RS), Brasil, por GC- μ ECD e espectrometria de massa (MS), e associou a contaminação por PCB com dieta, idade e hábitos maternos (Mohr et al. 2015). De acordo com Schettgen et al. (2012), PCB 28 e 101 têm meia-vida de 4,5 e 2,8 anos, respectivamente, no plasma humano.

ANÁLISE DE AMOSTRA CONTAMINADA POR ORIGEM GEOGRÁFICA

A maioria das amostras não mostrou contaminação (75 de 90). As 15 amostras com resultados positivos eram de nove municípios diferentes (Tabela 1). Porém, todos os municípios com amostras contaminadas também apresentaram mel sem contaminação (Tabela S1 de Material Complementar). Por exemplo, os municípios de Alegrete, Bagé e Cacequi apresentaram 2 amostras contaminadas cada, mas também amostras sem contaminação: 2, 12 e 3, respectivamente. A contaminação ambiental provavelmente está associada às microrregiões visitadas pelas abelhas de cada apiário, áreas bem menores que o município como um todo.

As colmeias localizavam-se em áreas rurais próximas a matas nativas ou áreas agrícolas, sem atividade industrial. Mesmo assim, foi detectada contaminação. Arioli et al. (2019) relataram a presença de PCBs em áreas onde as atividades antrópicas são escassas, devido às suas características químicas e físicas. De acordo com Tremolada et al. (2015) PCBs podem ser encontrados também em montanhas de alta altitude.

É necessário um estudo que leve em conta mais detalhes dos locais de coleta de néctar, principalmente quanto à proximidade de possíveis fontes de contaminação, como

transformadores e capacitores antigos, equipamentos cujo fogo ou descarte inadequado são fontes de PCBs. A legislação brasileira que permite o uso de equipamentos já instalados contendo PCBs (Brasil 1981) precisa ser revisada.

Roszko et al. (2016) relataram contaminação semelhante em amostras de diferentes locais, o que sugere que havia rotas de contaminação semelhantes em todos esses locais. Eles analisaram POPs em amostras de pólen de abelha de diferentes regiões da Polônia, encontrando PCBs 28 (61,3 pg g⁻¹), 77 (7,8 pg g⁻¹), 81 (0,8 pg g⁻¹) e 101 (35,8 pg g⁻¹) em quantidades muito menores do que no presente estudo.

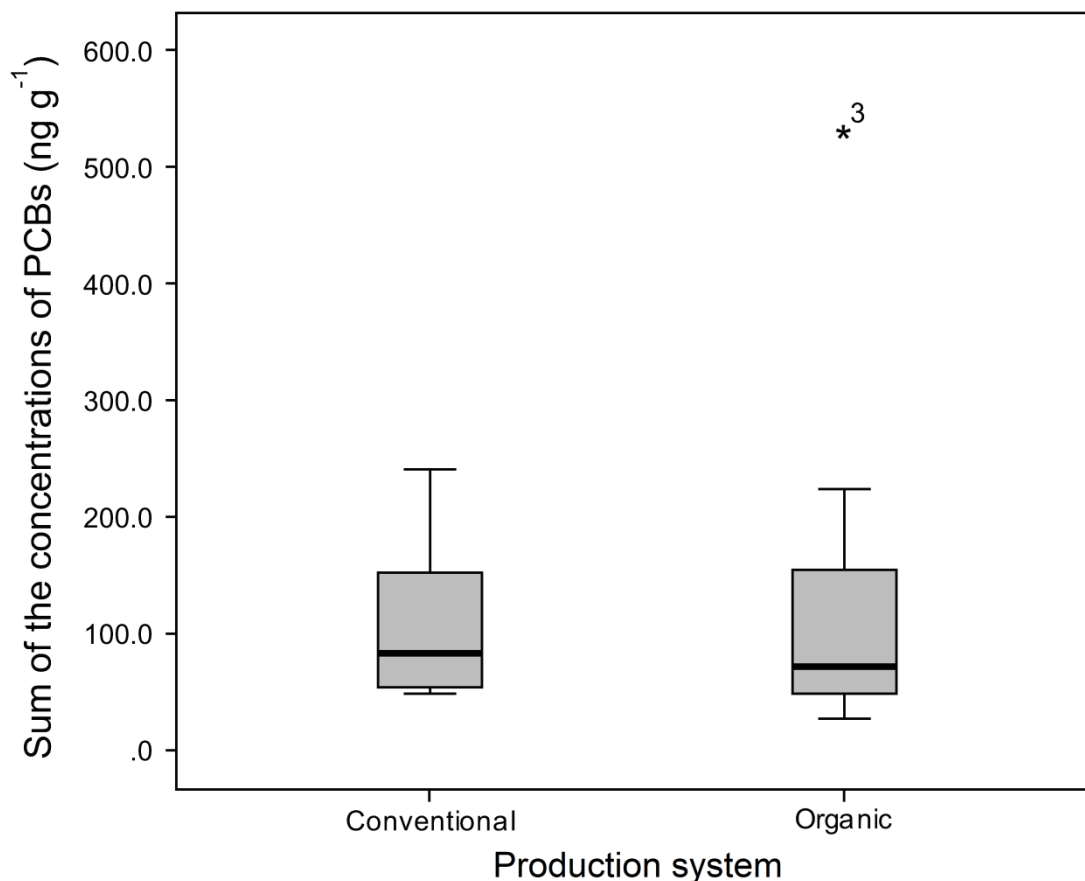
ANÁLISE DE AMOSTRA POR SISTEMA DE PRODUÇÃO

Os resultados confirmam que a contaminação do mel com PCBs não é afetada pelo sistema de produção (Figura 2). Os consumidores esperam que os alimentos orgânicos sejam completamente isentos de contaminação, mas na realidade as práticas de apicultura orgânica (EC 2007; FAO 1999) não garantem que os produtos estejam totalmente livres de contaminantes, uma vez que os efeitos da poluição ambiental ainda estão presentes.

Chiesa et al. (2016) também relataram a presença de PCBs em méis orgânicos (0,27 - 0,92 ng g⁻¹), embora indistintamente em todas as amostras de três regiões da Itália (Chiesa et al. 2016).

Pesquisas em sistemas de produção orgânica mostraram que seus produtos animais, como ovos caipiras, são potencialmente mais contaminados com PCBs e outros POPs do que ovos de sistemas de produção convencionais porque os animais estão em contato próximo com o meio ambiente (Hoogenboom et al. 2016 ; Roszko et al. 2014; Van Overmeire et al. 2009).

Figura 2 - Distribuição das Σ PCBs (ng g^{-1}) nas amostras dos sistemas de produção orgânico e convencional. Os Σ PCBs são mostrados em gráficos de caixa que ilustram o intervalo (barras mínimas e máximas), quartis (caixa), mediana (indicada pela linha em negrito) e *outliers* (*)



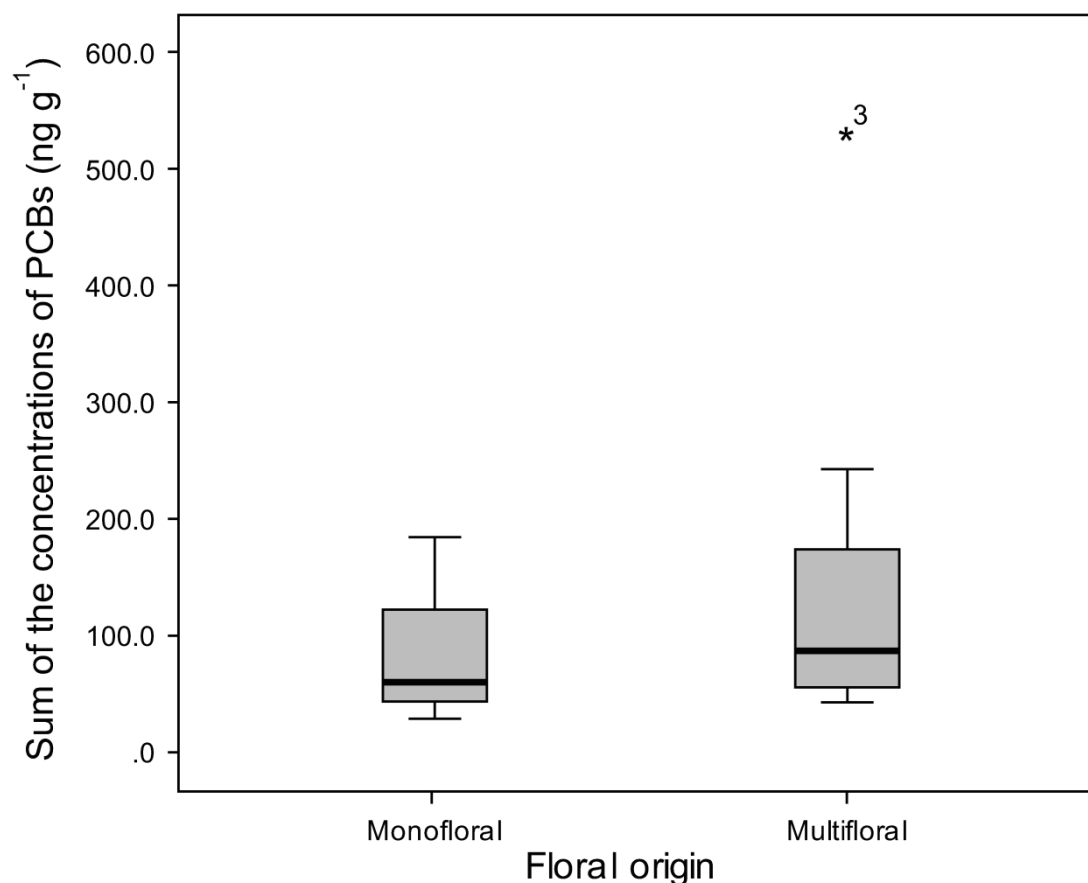
ANÁLISE DA AMOSTRA POR ORIGEM FLORAL

Os resultados não mostraram diferenças significativas nos níveis de contaminação por origem floral (Figura 3). Possivelmente a abundância ou falta de flores em uma região impacta mais a contaminação do que a origem floral. A falta de flores em uma região, seja ela monofloral ou multifloral, faz com que as abelhas busquem outros locais em busca de néctar, aumentando o risco de contaminação.

Esse resultado está de acordo com Chiesa et al. (2016), que também não encontraram diferenças significativas ao estudar a presença de PCBs em 59 amostras de mel orgânico multifloral e monofloral de diferentes regiões italianas.

A legislação brasileira não estabelece limites para PCBs no mel. Existem limites apenas para alimentos de origem animal com maior teor de gordura, como carne bovina, suína, frango, peixe e ovos (Brasil 2013).

Figura 3 - Distribuição dos Σ PCBs (ng g^{-1}) nas amostras por origem floral. Os Σ PCBs são mostrados em gráficos de caixa que ilustram o intervalo (barras mínimas e máximas), quartis (caixa), mediana (indicada pela linha em negrito) e *outliers* (*).



CONCLUSÃO

Um método analítico foi aplicado com sucesso para avaliar congêneres de PCB em mel do Brasil. Das 90 amostras analisadas, 15 apresentaram contaminação com 1 ou 2 dos 4 congêneres encontrados. Dois congêneres semelhantes à dioxina foram detectados. A presença de PCBs no mel indica que as abelhas foram expostas a esses poluentes, confirmando a presença de contaminação ambiental no Brasil. Essa contaminação em diferentes origens geográficas está provavelmente associada às microrregiões visitadas pelas abelhas, e não a um município como um todo. Os sistemas de produção e as origens florais não foram fatores determinantes para esta contaminação. O monitoramento de PCBs no meio ambiente e nos alimentos é necessário para prevenir a exposição humana a esses contaminantes, principalmente por meio da ingestão de alimentos.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Os autores agradecem aos apicultores que forneceram as amostras de mel e à Universidade Federal de Santa Maria por seu apoio.

REFERÊNCIAS

- Afful S, Awudza JAM, Twumasi SK, Osa S. 2013. Determination of indicator polychlorinated biphenyls (PCBs) by gas chromatography–electron capture detector. *Chemosphere* 93(8): 1556–1560.
- Ali N, Rajeh N, Wang W, Abualnaja KO, Kumosani TA, Albar HMS, Eqani SAMAS, Ismail IMI. 2016. Organohalogenated contaminants in type 2 diabetic serum from Jeddah, Saudi Arabia. *Environ. Pollut.* 213: 206–212.
- Arioli F, Ceriani F, Nobile M, Vigano' R, Besozzi M, Panseri S, & Chiesa LM. 2019. Presence of organic halogenated compounds, organophosphorus insecticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in meat of different game animal species from an Italian subalpine area. *Food Additives & Contaminants: Part A.* 36(8), 1244–1252.
- Badiou-Bénéteau A, Benneveau A, G ret F, Delatte H, Becker N, Brunet JL, Reynaud B, Belzunces LP. 2013. Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. *Environ. Int.* 60: 31–41.
- Bargańska Ź, Ślebioda M, Namieśnik J. 2013. Pesticide residues levels in honey from apiaries located of Northern Poland. *Food Control.* 31(1): 196–201.
- Brasil. Portaria Interministerial n. 19, de 29 de janeiro de 1981. [accessed 2017 Aug 10]. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/bra15389.pdf>
- Brasil, Instrução Normativa n. 17, de 29 de maio de 2013. [accessed 2017 Aug 23]. http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/30040061
- Brasil, Instrução Normativa n. 19, de 28 de maio de 2009. [accessed 2017 Aug 23]. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-19-de-28-de-maio-de-2009-mecanismos-de-controle-e-formas-de-organizacao.pdf/view>
- Chiesa LM, Labella GF, Giorgi A, Panseri S, Pavlovic R, Bonacci S, Arioli F. 2016. The occurrence of pesticides and persistent organic pollutants in Italian organic honeys from different productive areas in relation to potential environmental pollution. *Chemosphere.* 154: 482–490.
- Costabeber IH, Emanuelli T. 2003. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. *Food Chem Toxicol.* 41(1): 73–80.

- Drummond J, Williamson SM, Fitchett AE, Wright GA, Judge SJ. 2017. Spontaneous honeybee behaviour is altered by persistent organic pollutants. *Ecotoxicology*. 26(1): 141–150.
- European Commission (EC). Regulation No. 834/2007. 2007. Organic production and labelling of organic products and repealing regulation (EEC) No. 2092/91. *Official Journal of the European Union*; [accessed 2017 Oct 9]. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32007R0834>
- Erdoğrul Ö. 2007. Levels of selected pesticides in honey samples from Kahramanmaraş, Turkey. *Food Control*. 18(7): 866–871.
- Estevinho LM, Feás X, Seijas JA, Vázquez-Tato MP. 2012. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food Chem Toxicol*. 50(2): 258–264.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the World Health Organization (WHO). Guidelines for the production, processing, labelling and marketing of organically produced foods. *Codex Alimentarius*, 1999. [accessed 2018 June 19]. <http://www.fao.org/organicag/doc/glogranicfinal.pdf>
- García-Valcárcel AI, Molero E, Tadeo JL, Hernando MD. 2016. Determination of selected environmental contaminants in foraging honeybees. *Talanta*. 148: 1–6.
- George D, Mallery P. 2016. *IBM SPSS Statistics 23 Step by Step*. New York (NY): Pearson.
- Grimm FA, Hu D, Kania-Korwel I, Lehmler HJ, Ludewig G, Hornbuckle KC, Duffel MW, Bergman Å, Robertson LW. 2015. Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls. *Crit Rev Toxicol*. 45(3): 245–272.
- Henríquez-Hernández LA, Luzardo OP, Valerón PF, Zumbado M, Serra-Majem L, Camacho M, González-Antuña A, Boada LD. 2017. Persistent organic pollutants and risk of diabetes and obesity on healthy adults: Results from a cross-sectional study in Spain. *Sci Total Environ*. 607-608: 1096–1102.
- Herrera, A, Pérez-Arquillué, C, Conchello, P, Bayarri, S, Lázaro, R, Yagüe, C, & Ariño, A. 2005. Determination of pesticides and PCBs in honey by solid-phase extraction cleanup followed by gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 381(3): 695–701.
- Herrera López S, Lozano A, Sosa A, Hernando MD, Fernández-Alba AR. 2016. Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study. *Chemosphere* 163: 44–53.
- Hoogenboom RLAP, Dam GT, van Bruggen M, Jeurissen SMF, van Leeuwen SPJ, Theelen, RMC, Zeilmaker MJ. 2016. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) and biphenyls (PCBs) in home-produced eggs. *Chemosphere*. 150: 311–319.

- Kraft M, Rauchfuss K, Sievering S, Wöckner M, Neugebauer F, Fromme H. 2016. Quantification of all 209 PCB congeners in blood - Can indicators be used to calculate the total PCB blood load? *Int J Hyg Environ Health*. 220(2 Pt A): 201–208.
- Kujawski MW, Namieśnik J. 2008. Challenges in preparing honey samples for chromatographic determination of contaminants and trace residues. *TrAC – Trend Anal Chem*. 27(9): 785–793.
- Miao Q, Kong W, Yang S, Yang M. 2013. Rapid analysis of multi-pesticide residues in lotus seeds by a modified QuEChERS-based extraction and GC–ECD. *Chemosphere*. 91(7): 955–962.
- Mohr S, Sifuentes dos Santos J, Schwanz TG, Wagner R, Mozzaquatro JO, Lorenzoni AS, Costabeber IH. 2015. Polychlorinated biphenyls in umbilical cord serum of newborns from Rio Grande do Sul state, Brazil. *Clin Chim Acta*. 451(Pt B): 323–328.
- Mustieles V, Fernández MF, Martín-Olmedo P, González-Alzaga B, Fontalba-Navas A, Hauser R, Olea N, Arrebola JP. 2017. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ Int*. 104: 48–57.
- Panseri S, Catalano A, Giorgi A, Arioli F, Procopio A, Britti D, Chiesa LM. 2014. Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. *Food Control*. 38(1): 150–156.
- Quinete N, Esser A, Kraus T, Schettgen T. 2017. PCB 28 metabolites elimination kinetics in human plasma on a real case scenario: Study of hydroxylated polychlorinated biphenyl (OH-PCB) metabolites of PCB 28 in a highly exposed German Cohort. *Toxicol Lett*. 276: 100–107.
- Rodríguez López D, Ahumada DA, Díaz AC, Guerrero JA. 2014. Evaluation of pesticide residues in honey from different geographic regions of Colombia. *Food Control*. 37(1): 33–40.
- Roszkó M, Szymczyk K, Jędrzejczak R. 2014. Influence of hen breeding type on PCDD/F, PCB, PBDE levels in eggs. *Sci Total Environ*. 487: 279–289.
- Roszkó MŁ, Kamińska M, Szymczyk K, Jędrzejczak R. 2016. Levels of selected persistent organic pollutants (PCB, PBDE) and pesticides in honey bee pollen sampled in Poland. *PloS One*. 11(12): e0167487.
- Saitta M, Di Bella G, Fede MR, Lo Turco V, Potortì AG, Rando R, Russo MT, Dugo G. 2017. Gas chromatography-tandem mass spectrometry multi-residual analysis of contaminants in Italian honey samples. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 34(5): 800–808.
- [EC] European Commission, Directorate General for Health and Food Safety. 2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed, SANTE/11945/2015. [assessed 2017 Oct 5]. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_

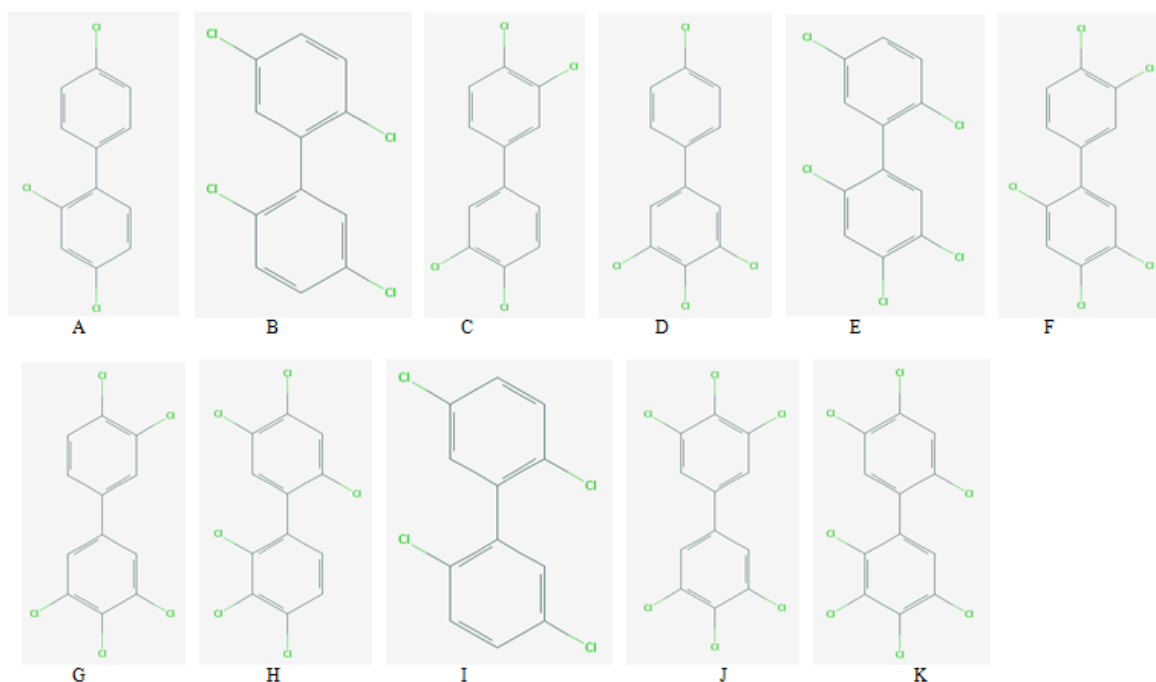
11945.pdf

- Schettgen T, Alt A, Preim D, Keller D, Kraus T. 2012. Biological monitoring of indoor-exposure to dioxin-like and non-dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in a public building. *Toxicol Lett.* 213(1): 116–121.
- Shendy AH, Al-Ghobashy MA, Mohammed MN, Gad Alla SA, Lotfy HM. 2016. Simultaneous determination of 200 pesticide residues in honey using gas chromatography–tandem mass spectrometry in conjunction with streamlined quantification approach. *J Chromatogr A.* 1427: 142–160.
- Tette PAS, Da Silva Oliveira FA, Pereira ENC, Silva G, De Abreu Glória MB, Fernandes C. 2016. Multiclass method for pesticides quantification in honey by means of modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. *Food Chem.* 211: 130–139.
- Tette PAS, Guidi LR, Glória MBA, Fernandes C. 2016. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta* 149: 124–141.
- Tremolada P, Guazzoni N, Comolli R, Parolini M, Lazzaro S, Binelli A. 2015. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in air and soil from a high-altitude pasture in the Italian Alps: evidence of CB-209 contamination. *Environmental Science and Pollution Research.* 22(24), 19571–19583.
- Vafeiadi M, Roumeliotaki T, Chalkiadaki G, Rantakokko P, Kiviranta H, Fthenou E, Kyrtopoulos SA, Kogevinas M, Chatzi L. 2017. Persistent organic pollutants in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Environ Int.* 98: 89–95.
- Van Overmeire I, Pussemier L, Waegeneers N, Hanot V, Windal I, Boxus L, Covaci A, Eppe G, Scippo ML, Sioen I, et al. 2009. Assessment of the chemical contamination in home-produced eggs in Belgium: General overview of the CONTEGG study. *Sci Total Environ.* 407(15): 4403–4410.
- Vareli CS, Pizutti I, Cardoso CS, Janish BD. 2018. Determination of PCBs in honey by modified QuEChERS extraction method followed by gas chromatography with micro-electron-capture Detection. In *12TH European Pesticide Residue Workshop (Ed.)*. Programme & Book of Abstracts. EPRW ed.; Munich, Germany, PO 018.
- Vinceti M, Violi F, Tzatzarakis M, Mandrioli J, Malagoli C, Hatch EE, Fini N, Fasano A, Rakitskii VN, Kalantzi O, et al. 2017. Pesticides, polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients: a case-control study. *Environ Res.* 155: 261–267.
- [WHO] World Health Organization, Regional Office for Europe. 2000. Air Quality Guidelines for Europe. Copenhagen (DK): WHO Regional Publications, European Series. [accessed 2017 Aug 10]. <https://www.euro.who.int/en/publications/abstracts/air-quality-guidelines-for-europe>
- Zhao S, Breivik K, Liu G, Zheng M, Jones KC, Sweetman AJ. 2017. Long-Term Temporal Trends of Polychlorinated Biphenyls and Their Controlling Sources in China. *Environ Sci Technol.* 51(5): 2838–2845.

Ziegler S, Schettgen T, Beier F, Wilop S, Quinete N, Esser A, Masouleh BK, Ferreira MSV, Vankann L, Uciechowski P, Rink L, et al. 2017. Accelerated telomere shortening in peripheral blood lymphocytes after occupational polychlorinated biphenyls exposure. *Arch Toxicol.* 91(1): 289–300.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura Suplementar S1 - Fórmulas estruturais e nomenclatura dos 11 congêneres analisados.



- A: PCB 28; $C_{12}H_7Cl_3$; 4,2',4'-Trichlorobiphenyl; CAS 7012-37-5.
 B: PCB 52; $C_{12}H_6Cl_4$; 2,5,2',5'-Tetrachlorobiphenyl; CAS 35693-99-3.
 C: PCB 77; $C_{12}H_6Cl_4$; 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl; CAS 32598-13-3.
 D: PCB 81; $C_{12}H_6Cl_4$; 3,4,4',5'-Tetrachlorobiphenyl; CAS 70362-50-4.
 E: PCB 101; $C_{12}H_5Cl_5$; 2,4,5,2',5'-Pentachlorobiphenyl; CAS 37680-73-2.
 F: PCB 118; $C_{12}H_5Cl_5$; 2,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl; CAS 31508-00-6.
 G: PCB 126; $C_{12}H_5Cl_5$; 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl; CAS 57465-28-8.
 H: PCB 138; $C_{12}H_4Cl_6$; 2,2',3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl; CAS 35065-28-2.
 I: PCB 153; $C_{12}H_4Cl_6$; 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl; CAS 35065-27-1.
 J: PCB 169; $C_{12}H_4Cl_6$; 3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl; CAS 32774-16-6.
 K: PCB 180; $C_{12}H_3Cl_7$; 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl; CAS 35065-29-3.

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S - Origem geográfica (Município), sistema de produção, origem floral e vegetação próxima da colmeia de cada uma das 90 amostras de méis.

Município	Sistema de produção	Origem floral	Vegetação próxima
Aceguá	Convencional	Multifloral	Soja
Alegrete	Orgânico	Multifloral	Soja e Milho
Alegrete	Convencional	Multifloral	Fumo, Milho e Soja
Alegrete	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
Alegrete	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Bagé	Convencional	Multifloral	Soja
Bagé	Convencional	Multifloral	Soja
Bagé	Convencional	Monofloral	Cornichão
Bagé	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa
Bagé	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa
Bagé	Convencional	Multifloral	Soja
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Orgânico	Multifloral	NI
Bagé	Convencional	Monofloral	Eucalipto
Bagé	Convencional	Monofloral	Eucalipto
Bossoroca	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Caçapava do Sul	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
Caçapava do Sul	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa e Soja
Caçapava do Sul	Orgânico	Multifloral	NI
Cacequi	Orgânico	Monofloral	Eucalipto

Cacequi	Convencional	Monofloral	Eucalipto
Cacequi	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Cacequi	Convencional	Multifloral	Milho e Fumo
Cacequi	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Candiota	Convencional	Multifloral	Soja
Candiota	Convencional	Multifloral	Soja
Candiota	Orgânico	Multifloral	NI
Candiota	Orgânico	Multifloral	NI
Candiota	Convencional	Monofloral	Eucalipto
Candiota	Convencional	Multifloral	Soja
Candiota	Orgânico	Multifloral	NI
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	Soja
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	NI
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	Soja
Dom Pedrito	Orgânico	Multifloral	NI
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	Soja
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	Soja
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	Arroz
Dom Pedrito	Convencional	Multifloral	NI
Dom Pedrito	Orgânico	Multifloral	NI
Encruzilhada do Sul	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
Itacurubi	Convencional	Multifloral	Soja e Fumo
Itaqui	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Jaguari	Orgânico	Multifloral	Milho e Fumo
Jaguari	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Jari	Orgânico	Multifloral	Soja, Milho e Arroz
Jari	Convencional	Multifloral	Soja, Milho e Arroz
Jari	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Lavras do Sul	Orgânico	Multifloral	NI
Lavras do Sul	Orgânico	Multifloral	NI

Lavras do Sul	Convencional	Multifloral	Soja
Lavras do Sul	Convencional	Multifloral	Soja
Maçambará	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Maçambará	Convencional	Monofloral	Eucalipto
Manoel Viana	Orgânico	Multifloral	Eucalipto
Manoel Viana	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Manoel Viana	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Pinheiro Machado	Orgânico	Multifloral	NI
Pinheiro Machado	Orgânico	Multifloral	NI
Rosário do Sul	Orgânico	Multifloral	Soja, Arroz
Rosário do Sul	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Rosário do Sul	Convencional	Multifloral	Soja
Santana da Boa Vista	Convencional	Multifloral	Soja
Santana do Livramento	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Santana do Livramento	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Santana do Livramento	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Santana do Livramento	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
Santana do Livramento	Convencional	Multifloral	Soja
Santana do Livramento	Convencional	Multifloral	Soja
Santiago	Convencional	Multifloral	Soja, Milho
Santiago	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
Santiago	Orgânico	Multifloral	Milho e Fumo
Santiago	Convencional	Multifloral	Milho e Fumo
Santiago	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
São Borja	Convencional	Monofloral	Eucalipto
São Francisco de Assis	Convencional	Multifloral	Soja
São Francisco de Assis	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
São Francisco de Assis	Convencional	Monofloral	Eucalipto
São Gabriel	Orgânico	Monofloral	Laranjeira
São Gabriel	Convencional	Monofloral	Laranjeira

São Gabriel	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
São Gabriel	Convencional	Monofloral	Eucalipto
São Gabriel	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
São Sepé	Orgânico	Multifloral	NI
Unistalda	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
Unistalda	Orgânico	Monofloral	Eucalipto

*NI = Não Informado

3.3 ARTIGO 2

**PARÂMETROS DE QUALIDADE DO MEL DO RIO GRANDE DO SUL DE
DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO E ORIGENS FLORAIS**

Mariele dos Santos^{1*}, Juciane Fortes¹, Ariane Farias⁴, Gracielle Félix⁵, Lucas Lopes⁵, Rafael Payeras³, Rafaela Machado⁵, Uashington Riste³, Yohana Calegari⁵, Claudia K. Sautter² and Ijoni H. Costabeber⁶

¹*Doutoranda. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

²*Docente. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

³*Graduando em Tecnologia em Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

⁴*Graduando em Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

⁵*Graduando em Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

⁶*Docente. Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil*

RESUMO

O Rio Grande do Sul, Brasil, é um grande produtor e exportador mundial de mel. Essa demanda serve de estímulo para a aplicação de rigorosos padrões de qualidade e segurança do mel, assim como o investimento em sistema de produção orgânico que agrega valor e torna o produto competitivo a novos mercados, atendendo um consumidor cada vez mais exigente. O objetivo do presente trabalho foi investigar 10 parâmetros físicos e químicos de qualidade em 90 amostras de méis monoflorais e multiflorais de sistemas de produção orgânico e sistemas de produção convencional provenientes do Rio Grande do Sul, Brasil. A metodologia das análises de umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e hidroximetilfurfural (HMF) foram realizadas segundo os *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. A análise por agrupamento hierárquico forneceu *clusters* de similaridades que evidenciam a interação entre as variáveis distintas. As projeções da análise de componentes principais (ACP), realizada com as amostras de diferentes sistemas de produção e origens florais, possibilitaram visualizar os vetores e a contribuição de cada variável. Os resultados de

umidade, condutividade elétrica e acidez livre apresentaram diferença significativa de acordo com o sistema de produção, sendo que as amostras do sistema convencional tiveram teores mais elevados em relação aos méis orgânicos. Os resultados de pH e sacarose aparente não apresentaram diferenças significativas conforme a origem floral. A maioria das amostras estava em conformidade com os limites estabelecidos pela legislação.

PALAVRAS-CHAVE: apicultura; parâmetros físicos e químicos; boas práticas apícolas; qualidade de alimentos; mel orgânico.

INTRODUÇÃO

Mel é um alimento apreciado por seu sabor doce e viscosidade característicos. Ele é um concentrado de açúcar invertido em solução aquosa que contém uma mistura de outros carboidratos, proteínas (enzimas), ácidos orgânicos, compostos fenólicos, vitaminas (B6, tiamina, niacina, riboflavina e ácido pantotênico), minerais (cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio e zinco), substâncias aromáticas, pigmentos, ceras e grãos de pólen, que o tornam uma mistura complexa (BOUSSAID et al., 2018; DA SILVA et al., 2016).

As abelhas coletam o néctar e o carregam na vesícula nectarífera até a colônia, repassando para outra abelha operária ou depositando diretamente no favo. No transporte acontece a diluição pela saliva onde são adicionadas enzimas (invertase, diastase e glicose oxidase) provenientes das glândulas hipofaríngeas das abelhas. As enzimas atuam no processamento do néctar para transformá-lo em mel (CRANE; KIRK VISSCHER, 2009).

Assim, a composição do néctar floral coletado pelas abelhas contribui diretamente na composição do mel elaborado, conferindo-lhe características específicas. Cada país tem suas próprias características de clima, flora e biodiversidade que combinadas com a presença de abelhas, permite a produção de mel com diferentes características sensoriais, físicas, químicas e padrões microbiológicos (DA SILVA et al., 2016).

O mel floral é chamado monofloral quando o néctar é coletado predominantemente de uma espécie floral e multifloral ou silvestre quando é obtido a partir de diferentes origens florais (BRASIL, 2000).

Sabe-se que os parâmetros físicos e químicos dos méis florais, como pH, umidade, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastática, teores de hidroximetilfurfural (HMF), cinzas, acidez e condutividade elétrica representam os indicadores de qualidade que caracterizam cada variedade de mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

Os méis monoflorais têm maior demanda por parte do consumidor, o que significa que têm um valor comercial mais alto para os apicultores (FEÁS et al., 2010). Atualmente, o interesse do consumidor por alimentos orgânicos mostra a preocupação com a segurança alimentar para a qualidade de vida. Ao comprar um alimento orgânico, em geral mais caro, o consumidor tem uma expectativa que vai além do sabor, aroma e aparência. Ele busca um alimento seguro, que não lhe cause danos à saúde e seja livre de contaminantes físicos, microbiológicos e principalmente sem contaminantes químicos. Esse mercado mais exigente, com maior valor agregado ao produto, estimula a produção orgânica (CHIESA et al., 2016).

Um sistema de produção orgânico do mel segue normas específicas que o diferenciam do sistema de produção convencional. A produção de mel orgânico é um sistema de base ecológica, que incentiva o uso de boas práticas agrícolas para manter o equilíbrio do ecossistema agrícola e diversidade, promovendo o uso sustentável dos recursos naturais, qualidade ambiental, bem-estar animal e saúde humana (CODEX ALIMENTARIUS, 1999; EC, 2007). A apicultura orgânica é baseada na minimização do uso de insumos externos e realizada a uma distância segura de locais que utilizam agrotóxicos ou outras fontes de contaminação (BRASIL, 2009).

Análises estatísticas multivariadas tem sido aplicadas com sucesso em busca da relação entre os parâmetros químicos, físicos, sensoriais, compostos fenólicos e teor de metais com fatores como origem floral e geográfica do mel (BALOŠ et al., 2020; MĂDAȘ et al., 2020; SOUSA et al., 2016; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013).

Na última década, vários estudos foram publicados sobre as características físicas e químicas de méis de diferentes origens botânicas e geográficas, o que revela a importância e o interesse em se determinar a qualidade do mel. No entanto, nenhum estudo determinou os parâmetros de qualidade do mel associados aos sistemas de produção. O objetivo do presente trabalho foi investigar 10 parâmetros físicos e químicos de qualidade em méis provenientes do Rio Grande do Sul, Brasil, bem como investigar a relação de tais parâmetros com as diferentes origens florais (monoflorais e multiflorais) e sistemas de produção (orgânicos e convencionais).

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAGEM DO MEL

Noventa amostras de méis de *Apis mellifera* foram fornecidas por apicultores com apiários localizados no Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram coletadas no período entre dezembro de 2017 e março de 2018. Das 90 amostras, 47 foram produzidas em sistemas de produção orgânico e 43 amostras são de sistemas de produção convencional. Em relação a origem floral, 60 amostras são méis multiflorais e 30 monoflorais (Tabela 1S - Material Suplementar). As análises foram realizadas nos laboratórios do Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS

Todas análises físicas e químicas das amostras de méis foram realizadas de acordo com *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1990) em quadruplicata. Os parâmetros avaliados foram: teor de umidade ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), condutividade elétrica (mS cm^{-1}), teor de cinzas ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), teor de hidroximetilfurfural (HMF) (mg kg^{-1}), atividade diastásica (unidades Göthe), pH, acidez livre (meq kg^{-1}), acidez total (meq kg^{-1}), açúcares redutores ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) e sacarose aparente ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$). Visualmente nenhuma amostra de mel mostrou sinais de fermentação.

A determinação da umidade foi verificada por refratometria, utilizando um refratômetro de bancada (Nova 2WA, Brasil). As medições foram obtidas da % de umidade ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de mel) correspondente ao índice de refração da amostra de mel por referência a tabela de Chataway.

A acidez total da solução de mel a 20% em água destilada deionizada foi medida em um condutímetro (Omegadette, Taiwan). Os resultados foram expressos em miliSiemens por centímetro (mS cm^{-1}).

O método utilizado nos experimentos para determinação de cinzas no mel consistiu na dessecação de 5 g de cada amostra de mel em cápsula de porcelana previamente calcinada. Para tanto, foram mantidas em termostato a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 h. Após as amostras foram submetidas à calcinação a $550 \text{ }^\circ\text{C}$, em mufla (Veb Elebtro, Alemanha) até massa constante. cinzas (C) foi expresso como a porcentagem de resíduo deixado após a calcinação ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ mel) e calculado a partir da Equação 1:

$$C = ((m_1 - m_2) / m_0) \cdot 100 \quad (1)$$

onde m_1 é a massa da cápsula e das cinzas, m_2 é a massa da cápsula e m_0 é a massa do mel.

O HMF foi determinado pelo método padrão onde 5 g de mel foram transferidos para um balão volumétrico de 50 mL com um total de 25 mL de água destilada. Após a clarificação das amostras com 0,5 mL de reagentes de Carrez I (solução de ferrocianeto de potássio 15 % (m/ v)) e 0,5 mL Carrez II (solução de acetato de zinco 30 % (m/ v)), as amostras foram diluídas para 50 mL com água e filtradas. Quando necessário, uma gota de álcool foi adicionada para suprimir a espuma da superfície. Com uma solução de mel clarificada contendo bissulfito de sódio 0,2% (m/ v) como referência e uma solução semelhante sem bissulfito com a amostra, foi obtido um espectro de diferença que representou apenas o HMF na amostra, sem a absorção de interferência do mel. A absorvância foi determinada a 284 e 336 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm em um espectrofotômetro com detector de arranjo de diodos (Agilent Technologies, EUA). Os conteúdos de HMF, expressos como mg kg^{-1} , foram calculados a partir da Equação 2:

$$\text{HMF} = (A_{284} - A_{336}) \cdot F \quad (2)$$

onde A_{284} , A_{336} são as leituras de absorvância e $F = 149,7$ foi calculado com a Equação 3:

$$F = (126 \cdot 1000 \cdot 1000) (16830 \cdot 10 \cdot 5) \quad (3)$$

onde 126 é o peso molecular de HMF, 1000 a conversão de g para mg, 1000 a conversão de g para kg, 16830 a absorvidade molar de HMF a 284 nm, 10 a diluição de 5 g de mel para 50 mL e 5 massa nominal da amostra.

A atividade diastásica foi determinada usando uma solução tamponada de amido solúvel e mel incubados em banho termostatizado (Tecnal Equipamentos Científicos, Brasil) a 40 °C. Em seguida, uma alíquota de 1 mL foi removida em intervalos de 15 min e a absorção da amostra foi seguida a 660 nm em um espectrofotômetro de bancada (Bel Engineering S. R. L., China). Atividade diastásica (AD) foi calculada utilizando o tempo necessário para a absorvância atingir 0,235, e os resultados foram expressos em unidades Göthe como o volume (mL) de solução de amido hidrolisado (1%) pela enzima diastase em 1 g de mel em 1 h, a partir da Equação 4:

$$\text{AD} = 300/ t \quad (4)$$

onde t é o tempo da reação em minutos.

Para análise de pH dez gramas da amostra de mel foram diluídos com 75 mL de água destilada livre de CO₂. Em seguida, os valores de pH foram medidos usando pHmetro (Digimed, Brasil) previamente calibrado.

A acidez livre foi determinada pelo método titulométrico utilizando a solução preparada para a determinação de pH, que foi titulada até pH 8,5 pela adição de solução de NaOH 0,05 N. A seguir a acidez lactônica foi determinada adicionando nesta solução 10 mL de NaOH 0,05 N e titulada com HCl 0,05 N até pH 8,3. Também foi titulado 75 mL de água com NaOH 0,05 N até pH 8,5, onde o volume gasto foi descontado do volume gasto na titulação da acidez livre. A acidez total foi determinada pela soma da acidez livre e acidez lactônica.

Os açúcares redutores foram determinados pela modificação da cor das soluções de Fehling A + B sob ebulição com pérolas de vidro, usando azul de metileno como indicador interno, por titulação com a solução de açúcares redutores do mel. A diferença nas concentrações de açúcar invertido antes e depois do procedimento de hidrólise foi multiplicada por 0,95 para atingir o teor de sacarose aparente.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes de normalidade apontaram que os resultados das determinações nas amostras de mel seguem uma distribuição normal. A seguir foram aplicados testes de análise de agrupamento hierárquico, análise de componentes principais, análise de variância (ANOVA) seguido de comparação de médias pelo teste Tukey, bem como análise univariada de estatística descritiva. O nível de significância foi definido em $p < 0,05$. Os dados foram analisados por meio do software Statistica 10.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

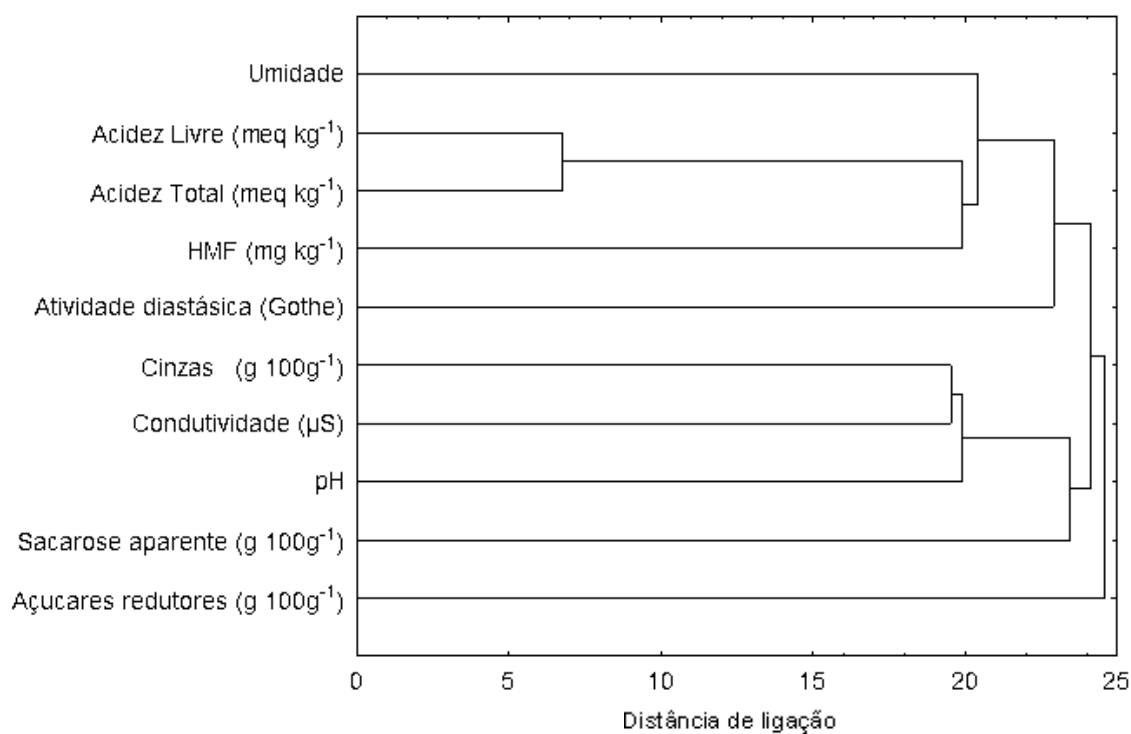
ANÁLISE DE AGRUPAMENTO

A análise de agrupamento hierárquico foi aplicada aos dados normalizados e autoescalados, empregando a distância euclidiana, que significa o quão próximo um parâmetro está do outro, para investigar similaridades entre as diferentes amostras analisadas e fornecendo os *clusters* de similaridade (BALOŠ et al., 2020).

Os resultados aparecem no dendrograma da Figura 1, onde podem ser observados os agrupamentos que evidenciam a interação entre as variáveis distintas.

Os grupos ou *clusters* formados classificaram os 10 parâmetros analisados. A acidez livre e acidez total formam o *cluster* de menor distância euclidiana entre os parâmetros. Mais distante o HMF também está ligado a este *cluster*, seguido pela umidade. Ainda mais distante, mas ligado ao *cluster*, está a atividade diastásica. O outro *cluster* abrange cinzas e acidez total próximos do pH. Mais distante aparece a ligação do parâmetro sacarose aparente. Por último, ligando os dois grupos de *clusters* está o parâmetro açúcares redutores.

Figura 1 - Dendrograma obtido pela análise de agrupamento dos parâmetros umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF dos méis usando distâncias euclidianas.



Fonte: Autora.

O teor de açúcares redutores é o parâmetro de maior importância para explicar a totalidade das amostras estudadas, sendo este o componente majoritário e produto final na obtenção do mel pelas abelhas. Este parâmetro é o de maior variabilidade, então não representa o melhor critério de identificação de origem do mel nem sua flora predominante.

A sacarose aparente e a atividade diastásica são influenciados pelos resultados dos açúcares redutores. Pois, a sacarose é o substrato para obtenção de glicose e frutose a partir do

néctar forrageado pelas abelhas. Já a atividade diastásica é a representação da ação enzimática da alfa e beta amilases, que gera especialmente glicose ou frações de carboidratos oriundo do amido, que possa existir no néctar.

Sequencialmente a umidade responde ao HMF e em menor proporção à acidez, tanto acidez livre quanto acidez total. Neste caso a umidade fornece um meio aquoso favorável para as reações de Caramelização e Maillard que culminam na produção do HMF. A respeito da proximidade entre os parâmetros umidade próximo de acidez livre, acidez total e HMF, conforme Chakir et al., (2016) e Chernetsova; Morlock, (2012) os ácidos orgânicos e a umidade são alguns dos fatores que juntamente com a origem floral e o tratamento térmico contribuem com os níveis de HMF.

O pH fornece a razão de íons presentes no meio, em que a cinzas é a massa dos minerais, especialmente o potássio no mel. A presença de minerais confere o grau de acidez total do meio. Sendo assim, as cinzas e a acidez total são o refinamento deste resultado a despeito dos valores de pH. Sobre a proximidade entre os parâmetros cinzas, acidez total e pH, segundo Feás et al., (2010) a condutividade elétrica do mel pode ser explicada levando em consideração o teor de cinzas e o pH, devido ao conteúdo de íons e ácidos orgânicos. Quanto mais alto seu conteúdo, maior será a condutividade resultante.

No entanto, esta análise exploratória não conseguiu indicar um parâmetro ou conjunto de parâmetros que discriminasse o sistema de produção ou a origem floral das amostras. Para tanto, os dados foram submetidos em blocos à análise de componentes principais.

ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

As figuras 2 e 3 apresentam as projeções da análise de componentes principais (ACP) realizada com as amostras de diferentes sistemas de produção e origens florais, onde podemos visualizar os vetores e a contribuição de cada variável. Foi utilizado autoescalamento conferindo pesos iguais para todas as variáveis (SOUSA et al., 2016). Nesta técnica, observa-se o conjunto de todas as variáveis, sendo plotadas as correlações fator-variáveis (cargas fatoriais) entre os eixos fator 1 e fator 2.

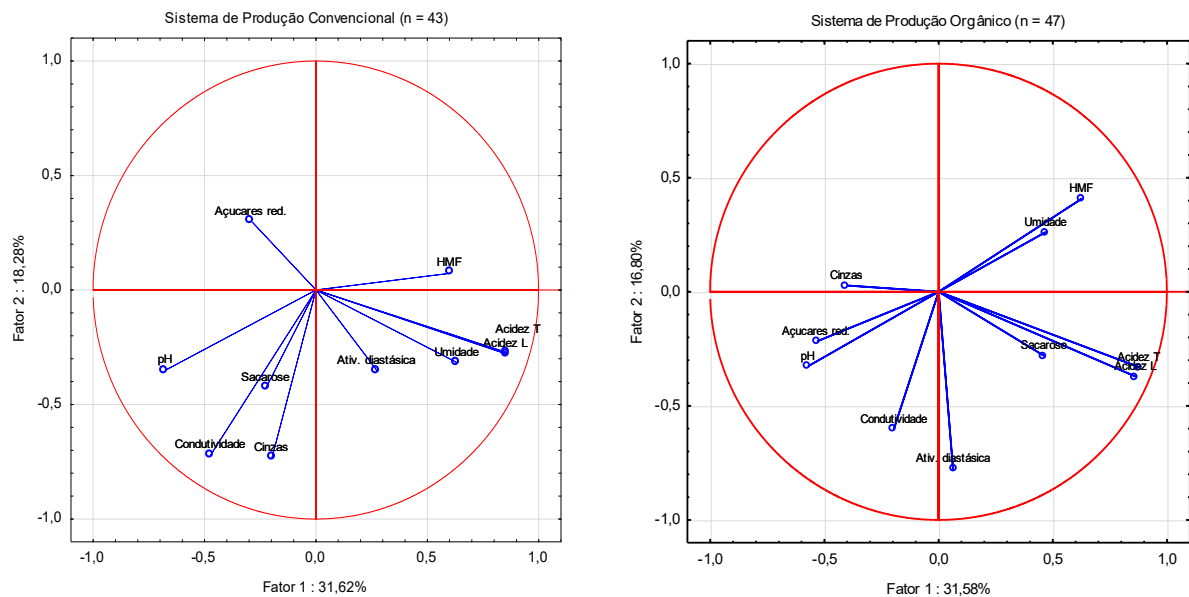
Através do ACP foi possível explicar 49,90% das variáveis do sistema de produção convencional e 48,38% das variáveis do sistema de produção orgânico (Figura 2).

Ao analisar o sistema de produção, tanto no convencional quanto no orgânico (Figura 2), a acidez total e acidez livre são as variáveis mais representativas. No entanto, apesar do

alto valor em relação ao fator 1, estas variáveis não são suficientes para discriminar o sistema de produção, sendo necessário observar outras variáveis.

No sistema de produção convencional as outras variáveis de relevância para o fator 1 são a umidade e o HMF e por fim a atividade diastásica. No sistema de produção orgânico a ordem de importância inicia com o HMF, umidade, sacarose aparente e atividade diastásica.

Figura 2 - Projeções das variáveis nos planos dos fatores 1 e 2 referentes aos sistemas de produção convencional e orgânico.



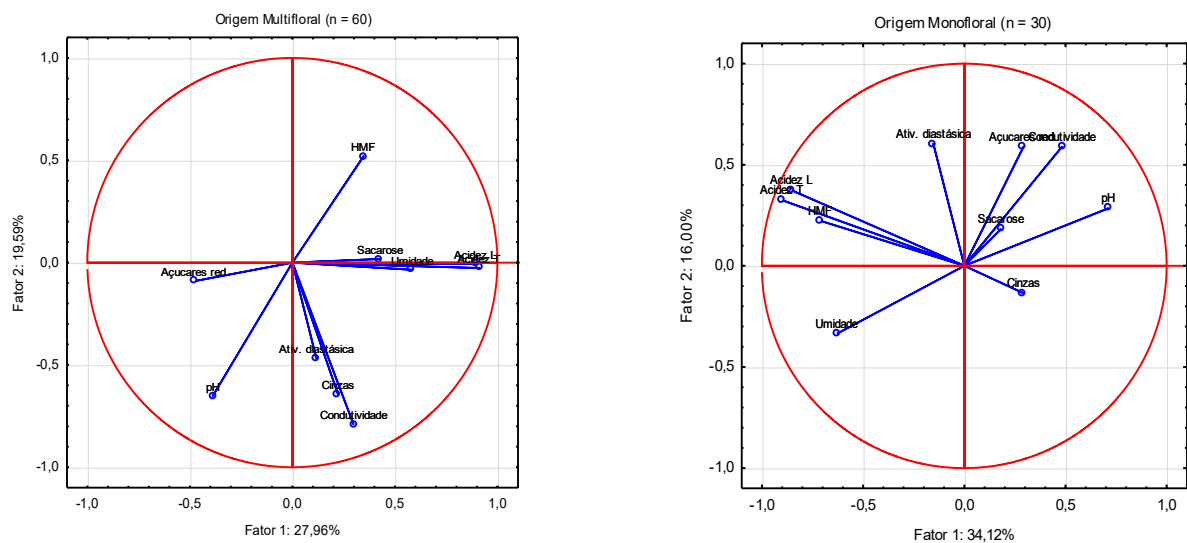
Fonte: Autora.

Para o segundo fator, o sistema de produção convencional é representado predominantemente pelos açúcares redutores. O que pode ser explicado pela prática de suplementação de carboidratos à colmeia no inverno. Já no sistema de produção orgânico, o fator 2 é explicado pelo HMF e umidade. O HMF pode ser decorrente de uma prática de defesa da colmeia conhecido como núcleos de calor gerado por abelhas guarda. Neste processo de defesa, as abelhas formam aglomerados agressivos onde a temperatura máxima chega à 46,5°C (STABENTHEINER; KOVAC; SCHMARANZER, 2007). O uso de pesticidas no sistema de produção convencional pode depledar a pressão de invasores como ácaros, vespas entre outros insetos.

Sobre a origem floral, a ACP tornou possível explicar 47,55% das variáveis do mel de origem monofloral e 50,12% das variáveis do mel de origem multifloral (Figura 3).

Novamente, a acidez total e acidez livre são as variáveis de maior impacto no fator 1 do mel de origem multifloral. Em seguida vem a umidade, a sacarose aparente e o HMF nesta ordem de relevância. Por fim, as variáveis de acidez total, cinzas e atividade diastásica complementam o fator 1. Porém, apenas o HMF contribui positivamente para o fator 2 do mel de origem multifloral.

Figura 3 - Projeções das variáveis nos planos dos fatores 1 e 2 referentes as origens multifloral e monofloral.



Fonte: Autora.

Os méis de origem monofloral apresentaram uma distribuição distinta das demais ACPs. A acidez total, acidez livre e HMF são inversamente correlacionados. Neste, o pH se destacou quanto ao fator 1, seguido da acidez total, cinzas, açúcares redutores e sacarose aparente. A variabilidade da flora aumenta a diversidade de nutrientes minerais das plantas, o que pode contribuir com a massa de cinzas e por consequência influenciando a acidez total do mel. A atividade diastásica, açúcares redutores e acidez total são mais relevantes para o fator 2.

ANÁLISE DAS AMOSTRAS PELO SISTEMA DE PRODUÇÃO

Apenas a umidade ($p = 0,0001$), acidez total ($p = 0,0138$) e acidez livre ($p = 0,0122$) apresentaram diferenças significativas quando comparados os resultados de cada parâmetro entre o grupo de amostras provenientes de sistema de produção orgânico com o grupo de amostras provenientes do sistema de produção convencional (Tabela 1). As amostras do

sistema de produção convencional tiveram teores de umidade, acidez total e acidez livre mais elevados em relação aos méis orgânicos.

O teor de HMF e acidez total apresentaram desvio padrão superior aos demais parâmetros, demonstrando grande amplitude nos resultados destes dois parâmetros nos dois grupos analisados.

Investimentos em sistema de produção orgânico almejam melhorar a qualidade dos méis e a garantia da ausência de compostos indesejados. Também é esperado que méis de alta qualidade devem apresentar teores altos de atividade diastásica e baixos de HMF (ESTEVINHO et al., 2012). Quando considerados os valores médios de atividade diastásica e HMF do grupo de méis orgânicos e do grupo de méis convencionais do presente estudo, claramente ambos sistemas de produção produziram méis de alta qualidade. Não houve diferença significativa nos quesitos atividade diastásica ($p = 0,6051$) e HMF ($p = 0,6717$) entre os dois grupos. O desvio padrão destes parâmetros demonstra que houveram algumas exceções.

Não foi observada diferença significativa em relação ao teor de cinzas ($p = 0,2442$) entre os méis orgânicos e convencionais. Este parâmetro foi relatado em outras pesquisas, como possível indicativo de poluição ambiental (EL SOHAIMY; MASRY; SHEHATA, 2015; YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013).

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade dos méis (média \pm desvio padrão) conforme o sistema de produção.

Parâmetros de qualidade	Sistema de produção	
	Convencional (n = 43)	Orgânico (n = 47)
Umidade (g 100g ⁻¹)	15,18 ^a \pm 1,09	14,75 ^b \pm 1,06
Cinzas (g 100g ⁻¹)	0,301 ^a \pm 1,54	0,319 ^a \pm 0,13
Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	0,37 ^a \pm 0,14	0,34 ^b \pm 0,09
pH	4,10 ^a \pm 0,28	4,09 ^a \pm 0,29
Acidez Livre (meq kg ⁻¹)	32,52 ^a \pm 8,14	30,29 ^b \pm 8,60
Acidez Total (meq kg ⁻¹)	38,78 ^a \pm 7,56	37,57 ^a \pm 9,07
Açúcares redutores (g 100g ⁻¹)	70,72 ^a \pm 3,95	70,42 ^a \pm 3,93
Sacarose aparente (g 100g ⁻¹)	0,44 ^a \pm 1,22	0,61 ^a \pm 1,81
Atividade diastásica (unidades Göthe)	9,37 ^a \pm 3,17	9,21 ^a \pm 2,65
HMF (mg kg ⁻¹)	25,29 ^a \pm 20,18	26,38 ^a \pm 27,36

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem ao nível de significância de 5%.

ANÁLISE DAS AMOSTRAS PELA ORIGEM FLORAL

Os parâmetros umidade, cinzas, acidez total, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, atividade diastásica e HMF apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) conforme a origem multifloral ou monofloral (Tabela 2). Apenas os parâmetros pH ($p = 0,0920$) e sacarose aparente ($p = 0,2478$) não apresentaram diferença significativa. Uma provável explicação para essa falta de diferença nestes dois parâmetros talvez sejam as práticas apícolas exercerem maior influência do que as origens florais.

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade dos méis (média \pm desvio padrão) conforme a origem floral.

Parâmetros de qualidade	Origem floral	
	Multifloral (n = 60)	Monofloral (n = 30)
Umidade (%)	15,04 ^a \pm 1,09	14,78 ^b \pm 1,09
Cinzas (g 100g ⁻¹)	0,277 ^b \pm 0,14	0,379 ^a \pm 0,13
Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	0,33 ^b \pm 0,12	0,39 ^a \pm 0,11
pH	4,08 ^a \pm 0,27	4,13 ^a \pm 0,31
Acidez Livre (meq kg ⁻¹)	34,13 ^a \pm 6,73	25,81 ^b \pm 8,81
Acidez Total (meq kg ⁻¹)	40,43 ^a \pm 6,69	33,59 ^b \pm 9,56
Açúcares redutores (g 100g ⁻¹)	70,23 ^b \pm 3,94	71,22 ^a \pm 3,87
Sacarose aparente (g 100g ⁻¹)	0,59 ^a \pm 1,74	0,39 ^a \pm 1,10
Atividade diastásica (unidades Göthe)	9,82 ^a \pm 2,96	8,22 ^b \pm 2,49
HMF (mg kg ⁻¹)	30,24 ^a \pm 24,68	17,10 ^b \pm 20,57

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem ao nível de significância de 5%.

Fonte: Autora.

Segundo Bogdanov et al., (1997) *apud* Feás et al., (2010), os valores de pH de méis multiflorais mostram valores mais altos do que o pH dos méis monoflorais. Porém, isso não foi observado no presente trabalho ao comparar o pH dos grupos de méis monoflorais com o grupo de méis multiflorais analisados.

Conforme Bouhlali et al., (2019), a sacarose aparente é consequência do manejo incorreto do mel, devido à maturação inadequada ou alimentação artificial das abelhas com xaropes de sacarose. Portanto a origem floral não é um fator determinante para a sacarose

aparente dos méis, confirmando a falta de diferença significativa entre os teores de sacarose aparente dos grupos monofloral e multifloral.

Foi observado que o grupo de amostras de origem multifloral apresentou resultados mais elevados para umidade, acidez livre, acidez total, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF em relação aos resultados dos méis monoflorais. Essa constatação confirma que a fonte floral e fatores como, os açúcares, os ácidos orgânicos, o pH, a umidade e a atividade de água e o tratamento térmico, também contribuem e afetam os níveis de HMF (CHAKIR et al., 2016; CHERNETSOVA; MORLOCK, 2012).

De acordo com Ahmed et al., (2013) e Chakir et al., (2016) as enzimas diastases (alfa e beta amilases) são naturalmente encontradas no mel conforme a origem floral e geográfica. No presente estudo, os teores de atividade diastásica de méis monoflorais, incluindo amostras de méis de eucalipto, laranjeira e cornichão, apresentaram valores mais baixos do que nos méis multiflorais.

ANÁLISE DAS AMOSTRAS PELOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade

O teor de umidade variou de 12,9 g 100g⁻¹ a 18,0 g 100g⁻¹, sendo o valor médio 15,0 g 100g⁻¹ e o desvio padrão 1,1 g 100g⁻¹. A pequena variação observada nos teores de água destas amostras pode ser devido às boas práticas apícolas semelhantes de manejo das colmeias aplicadas pelos apicultores. Assim, todas amostras estavam abaixo do valor máximo de 20 g 100g⁻¹, conforme a legislação brasileira, as diretivas do Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS, 2001) e da União Européia (EC, 2001). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados em outras pesquisas com méis monoflorais e multiflorais cujos valores correspondentes variaram de 15,20 g 100g⁻¹ a 20,60 g 100g⁻¹ (BOUSSAID et al., 2018; FEÁS et al., 2010; KAHRAMAN et al., 2010).

O teor de água do mel depende de vários fatores, como por exemplo, a época de colheita, o grau de maturidade alcançado na colmeia, fatores geográficos e ambientais (KAHRAMAN et al., 2010). Teores elevados de umidade no mel propiciam o crescimento de fungos como *Penicillium* e *Mucors* em sua superfície, resultando em um produto com sabor alterado, altos níveis acidez, glicerol, butanodiol e etanol que reduzem a qualidade desse produto (FEÁS et al., 2010).

Hidroximetilfurfural

O teor de HMF dos méis analisados variou de 1,3 a 137,8 mg kg⁻¹, onde 13,3% das amostras apresentaram conteúdo de HMF acima do máximo permitido na legislação brasileira (60 mg kg⁻¹), 15,5% das amostras apresentaram conteúdo de HMF acima do máximo permitido (40 mg kg⁻¹) na legislação internacional (Codex alimentarius e a Comunidade Européia) e 4,4% das amostras apresentaram conteúdo de HMF acima do máximo permitido para regiões com clima tropical (80 mg kg⁻¹). O teor de HMF indicou que a maioria das amostras analisadas são de méis de produção recente. A presença de maiores concentrações desse composto pode indicar armazenamento do produto a temperaturas acima das recomendadas ou aquecimento inadequado. As reações de caramelização e a reação de Maillard, ambas catalisadas por aquecimento, podem estar associadas a variações da composição do mel. Por isso, merecem atenção em países tropicais, como o Brasil, onde a temperatura média anual é superior a 20° C (MOREIRA et al., 2010). Outra possibilidade para o aumento do teor de HMF pode ser decorrente de uma prática de defesa da colmeia onde as abelhas formam aglomerados agressivos onde a temperatura máxima chega à 46,5°C (STABENTHEINER; KOVAC; SCHMARANZER, 2007).

Kasiotis & Machera, (2017) relataram resultados mais baixos que os apresentados no presente estudo, entre 0,5 to 23,5 mg kg⁻¹ em 28 amostras de méis gregos. Assim como, Estevinho et al., (2012) relataram conteúdo de HMF entre 0,8 a 1,5 mg kg⁻¹ em méis orgânicos portugueses. Boussaid et al., (2018) relataram conteúdo de HMF entre 12,1 to 27,4 mg kg⁻¹ em méis tunisianos, com destaque para os méis de eucalipto que tiveram os maiores valores comparados aos méis de laranja, o que concorda com o presente estudo, pois os méis de eucalipto (n = 27) apresentaram, em média, 17,58 mg kg⁻¹ de HMF, enquanto os méis de laranja (n = 2) 9,81 mg kg⁻¹. A amostra de mel de cornichão (n = 1), uma espécie de leguminosa forrageira, apresentou o maior teor de HMF, 18,65 mg kg⁻¹, entre as amostras monoflorais. Entretanto, os méis multiflorais (n = 60) apresentaram valores mais elevados de HMF, em média, 30,24 mg kg⁻¹, comparado a 17,10 mg kg⁻¹ nos méis monoflorais (n = 30).

Atividade Diastásica

A atividade diastásica das amostras de méis analisadas foi de 9,4 unidades Göthe em média, sendo o intervalo 3,1 – 15,8 unidades Göthe e desvio padrão 2,8 unidades Göthe. Os regulamentos internacionais estabelecem o valor mínimo de 8 na escala de Göthe para

atividade diastásica, com exceção dos méis com baixo teor natural de enzimas e méis com teor de HMF não superior a 15 mg kg^{-1} . O valor mínimo da atividade diastásica pode ser 3 unidades Göthe, que é o caso de algumas amostras monoflorais analisadas. Os valores obtidos são típicos de mel não processado em 84,4% das amostras. No entanto, 15,55% das amostras apresentaram valores inferiores ao estabelecido pela legislação. Desta forma, estas últimas podem ter sido submetidas a superaquecimento (60°C) ou não são amostras de méis de produção recente, visto que, as diastases (alfa e beta amilases) são enzimas naturalmente presentes no mel, sendo sensíveis ao calor e conseqüentemente indicam o grau de preservação do mel (SILVA et al. 2016).

Bentabol Manzanares et al., (2014) relataram atividade diastásica entre 4,90 e 43,97 unidades Göthe ao analisar méis monoflorais espanhóis, neste estudo a maioria dos resultados foram mais elevados quando comparados com os valores de atividade diastásica do presente trabalho. Conforme Moreira et al., (2010) os parâmetros HMF e atividade diastásica no mel estão relacionados à sua qualidade e processamento térmico, eles relataram resultados entre 10,55 e 12,40 unidades Göthe em méis brasileiros de regiões tropicais similares à média de atividade diastásica do presente estudo.

Cinzas

Os méis considerados neste estudo apresentaram teores de cinzas entre 0,04 e $1,04 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, sendo a média $0,32 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e desvio padrão $0,14 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Apenas 3 amostras excederam o limite de $0,6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de cinzas (BRASIL, 2000), o que pode ser indicativo de adulteração por melaço. Desta forma cerca de 96% dos méis analisados apresentaram o teor de cinzas previsto na legislação. Segundo Habib et al., (2014), o conteúdo de cinzas é um parâmetro usado para determinar se o mel é floral, melaço (não floral) ou mistura. Eles relataram resultados entre $0,06 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ a $0,31 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, indicando ausência de adulterações com melaço nas 16 amostras de méis provenientes dos Emirados Árabes. Estes valores foram similares à maioria dos resultados do presente estudo. Assim como os resultados encontrados por Estevinho et al., (2012) que relataram teores de cinzas, entre $0,07 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e $0,43 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ em méis portugueses.

Condutividade elétrica

Os valores de acidez total dos méis analisados variaram de 0,14 a 0,80 mS cm⁻¹, sendo a média 0,35 mS cm⁻¹ e desvio padrão 0,12 mS cm⁻¹. Desta maneira, todas as amostras estavam de acordo com o padrão máximo recomendado de 0,80 mS cm⁻¹ (CODEX ALIMENTARIUS, 2001). A legislação brasileira não inclui este parâmetro (BRASIL, 2000).

Estevinho et al. (2012) relataram valores mais elevados para acidez total comparado ao presente estudo. Eles analisaram 75 méis portugueses com acidez total entre 0,46 a 0,99 mS cm⁻¹, sendo a média 0,66 mS cm⁻¹ e desvio padrão 0,10 mS cm⁻¹. Enquanto que resultados menores aos do presente estudo foram relatados, 0,25 – 0,60 mS cm⁻¹, para méis monoflorais produzidos em uma região semiárida dos Emirados Árabes Unidos (HABIB et al., 2014). Outro estudo em 39 amostras de méis monoflorais gregos também relatou valores mais elevados para acidez total, acidez total entre 0,41 e 1,74 mS cm⁻¹ (KARABAGIAS et al., 2014).

A acidez total do mel pode ser explicada levando-se em consideração o teor de cinzas e ácidos do mel, que reflete a presença de íons e ácidos orgânicos; quanto maior a concentração, maior será a acidez total. Porém, maiores valores de condutividade elétrica não necessariamente correspondem a maiores quantidades de cinzas nos méis (ESTEVINHO et al., 2012). Outros fatores, como a origem floral, a quantidade de ácidos orgânicos e proteínas e o tempo de armazenamento também podem influenciar a condutividade elétrica das amostras de mel (ESCUREDO et al., 2014).

pH

O baixo pH do mel entre 3,2 e 4,5 inibe a presença e o crescimento de microrganismos. O que é de grande importância durante a extração e armazenamento do mel, pois influencia sua estabilidade e vida de prateleira (DA SILVA et al., 2016). As amostras de mel apresentaram pH de 3,4 a 4,8, sendo a média de 4,1 e desvio padrão 0,3. Esses valores de pH foram semelhantes aos relatados por Chakir et al., (2016) em méis do Marrocos, entre 3,52 e 5,13, por Estevinho et al., (2012) em méis portugueses, 3,5 a 4,0 e também por Boussaid et al., (2018) em méis tunisianos, entre 3,67 e 4,11.

Acidez Livre

A média de acidez livre das amostras de mel foi de 31,7 meq kg⁻¹, com valores entre 12,0 - 54,9 meq kg⁻¹ e o desvio padrão 8,4 meq kg⁻¹. A maioria das amostras investigadas,

97,8%, atenderam às exigências estabelecidas nos regulamentos (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001), que exigem não mais que 50 meq kg^{-1} , o que indica a ausência de fermentações.

Os altos valores de acidez livre de duas das amostras podem indicar fermentação do açúcar do mel por leveduras. Durante a fermentação, a glicose e a frutose são convertidas em dióxido de carbono e álcool. O álcool pode ser hidrolisado na presença de oxigênio e convertido em ácido acético, mas normalmente essa conversão é feita por *Acetobacter aceti*. Isso contribui muito para o nível de acidez no mel (BOUSSAID et al., 2018).

Os dados na literatura a respeito da acidez livre de méis apontam intervalos similares ao presente estudo, $20,10 - 35,20 \text{ meq kg}^{-1}$ (BENTABOL MANZANARES et al., 2014), $18,08 - 41,54 \text{ meq kg}^{-1}$ (KARABAGIAS et al., 2014), $8,86 - 44,09 \text{ meq kg}^{-1}$ (CHAKIR et al., 2016) e $17,10 - 20,50 \text{ meq kg}^{-1}$ (MOREIRA et al., 2010).

Acidez Total

A acidez total é a soma da acidez livre e lactônica. A média de acidez total das amostras de mel foi $38,1 \text{ meq kg}^{-1}$, o desvio padrão $8,53 \text{ meq kg}^{-1}$ e os valores mínimo e máximo entre $19,6 - 67,5 \text{ meq kg}^{-1}$. A maioria das amostras investigadas, 92,2%, atenderam à exigência de não mais que 50 meq kg^{-1} para acidez do mel. Porém 7 amostras ultrapassaram um pouco o limite estabelecido na legislação (BRASIL, 2000).

Outros autores relataram intervalos de acidez total similares ao presente estudo, Karabagias et al., (2014), entre $23,75$ e $44,94 \text{ meq kg}^{-1}$, Bouhlali et al., (2019), entre $23,55$ e $43,53 \text{ meq kg}^{-1}$ e Tornuk et al., (2013), entre $6,23$ e $34,93 \text{ meq kg}^{-1}$.

Açúcares redutores

O mel é composto principalmente de monossacarídeos glicose e frutose. O conteúdo de açúcares redutores dos méis analisados variou de $59,6$ a $83,7 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, sendo a média $70,6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e o desvio padrão $3,9 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Apenas uma amostra apresentou açúcares redutores abaixo do estabelecido na legislação (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EC, 2001).

Outras pesquisas relataram valores de açúcares redutores similares ao presente estudo. Isla et al., (2011) entre $67,7$ e $73,5 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, Estevinho et al., (2012), entre $66,7$ até $76,9 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e Boussaid et al., (2018) entre $66,85$ e $74,42 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$.

Sacarose Aparente

A média dos resultados de sacarose aparente foi de $0,3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ no intervalo de 0 até $8,5 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, sendo o desvio padrão $1,3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ entre as 90 amostras analisadas. Quatro amostras apresentaram o conteúdo de sacarose aparente superior a $5 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ exigido pela legislação internacional (CODEX ALIMENTARIUS, 1999; EC, 2001), enquanto duas amostras apresentaram o conteúdo de sacarose superior a $6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ exigido pela a legislação brasileira (BRASIL, 2000).

Os teores foram similares à pesquisa de Isla et al., (2011) que reportou sacarose aparente entre $0,4$ e $5,6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ em 13 méis argentinos, enquanto Tornuk et al., (2013) reportaram valores elevados de sacarose aparente entre $2,85$ e $8,44 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ em 20 méis produzidos na Turquia.

Segundo Bouhlali et al., (2019), este parâmetro é usado para detectar o manejo incorreto do mel, pois níveis elevados podem ser devido à maturação inadequada ou alimentação artificial das abelhas com xaropes de sacarose. O baixo teor de sacarose aparente indica que a sacarose do néctar da flor foi completamente convertida em glicose e frutose, e o mel está no ponto adequado de coleta. Neste estudo eles analisaram 11 méis monoflorais produzidos no Marrocos e encontraram sacarose aparente entre $0,92 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ no mel de eucalipto a $2,35 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ no mel de laranjeira.

CONCLUSÃO

A análise por agrupamento hierárquico forneceu informações sobre a diferenciação dos 10 parâmetros de qualidade das amostras classificados em grupos usando distâncias euclidianas. No entanto, esta análise exploratória não conseguiu indicar um parâmetro ou conjunto de parâmetros que discriminasse o sistema de produção ou a origem floral das amostras. Para tanto, os dados foram submetidos em blocos à análise de componentes principais.

Através da ACP foi possível explicar 49,90% das variáveis do sistema de produção convencional e 48,38% das variáveis do sistema de produção orgânico. Sobre a origem floral, a ACP tornou possível explicar 47,55% das variáveis do mel de origem monofloral e 50,12% das variáveis do mel de origem multifloral.

Os parâmetros pH e sacarose aparente não apresentaram diferença significativa entre o grupo de méis de origem multifloral e monofloral, enquanto, os parâmetros umidade, condutividade elétrica e acidez livre apresentaram diferenças significativas quando comparados entre o grupo do sistema de produção orgânico e o convencional.

Quando considerados os teores de atividade diastásica e HMF do grupo de méis orgânicos e do grupo de méis convencionais, claramente ambos sistemas de produção produziram méis de alta qualidade. O desvio padrão destes parâmetros demonstra que houveram algumas exceções.

O grupo de amostras de origem multifloral apresentou resultados mais elevados para umidade, acidez livre, acidez total, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF em relação aos resultados do grupo de méis monoflorais.

Ao analisar as 90 amostras de méis individualmente, a grande maioria dos resultados estavam dentro dos limites máximos definidos pela legislação nacional e internacional vigente.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Os autores gostariam de agradecer aos apicultores que forneceram as amostras de mel e à Universidade Federal de Santa Maria pelo apoio.

REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis**. 15th. ed. Arlington, VA. USA: AOAC, 1990.

BALOŠ, M. M. Ž. et al. Sugar profile of different floral origin honeys from Serbia. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 398–405, 7 ago. 2020.

BENTABOL MANZANARES, A. et al. Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 572–578, mar. 2014.

BOUHLALI, E. DINE T. et al. Physicochemical properties of eleven monofloral honey samples produced in Morocco. **Arab Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 26, n. 1, p. 476–487, 2 jan. 2019.

BOUSSAID, A. et al. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 265–274, fev. 2018.

BRASIL. **Instrução Normativa N. 11, de 20 de outubro de 2000**. Brasília. Diário Oficial da União, Seção 1, pag. 16, 23 de outubro de 2000, 2000.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 19, de 28 de maio de 2009. Aprova os mecanismos de controle e informação da qualidade orgânica.**, 2009.

CHAKIR, A. et al. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. S946–S954, nov. 2016.

CHERNETSOVA, E. S.; MORLOCK, G. E. Assessing the capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry for 5-hydroxymethylfurfural quantitation in honey. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 314, p. 22–32, mar. 2012.

CHIESA, L. M. et al. The occurrence of pesticides and persistent organic pollutants in Italian organic honeys from different productive areas in relation to potential environmental pollution. **Chemosphere**, v. 154, p. 482–490, jul. 2016.

CODEX ALIMENTARIUS. **Guidelines for the production, processing, labelling and marketing of organically produced foods** Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the World Health Organization (WHO) Codex Alimentarius, , 1999. Disponível em: <<http://www.fao.org/organicag/doc/glorganicfinal.pdf>>

CODEX ALIMENTARIUS. **STANDARD FOR HONEY** CODEX STAN 12-1981, 2001. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2BSTAN%2B12-1981%252Fcxs_012e.pdf>

CRANE, E.; KIRK VISSCHER, P. Honey. In: **Encyclopedia of Insects**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 459–461.

DA SILVA, P. M. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, abr. 2016.

EC. **Council Directive 2001/110 Relating to Honey** European Union Directive (EU) Official Journal of the European Communities OJ L 10, 12.1.2002, p. 47, , 2001.

EC. **REGULAMENTO N. 834/2007 DO CONSELHO de 28 de Junho de 2007 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CEE) n. 2092/91** Jornal Oficial da União Europeia, L 189/1, 20.7.2007, , 2007.

ESCUREDO, O. et al. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, v. 149, p. 84–90, abr. 2014.

ESTEVINHO, L. M. et al. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 258–264, fev. 2012.

FEÁS, X. et al. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 12, p. 3462–3470, dez. 2010.

HABIB, H. M. et al. Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. **Food Chemistry**, v. 153, p. 35–43, jun. 2014.

ISLA, M. I. et al. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1922–1930, nov. 2011.

KAHRAMAN, T. et al. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 41–44, nov. 2010.

KARABAGIAS, I. K. et al. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 146, p. 548–557, mar. 2014.

KASIOTIS, K. M.; MACHERA, K. Improved liquid chromatographic photo diode array mass spectrometric determination of 5-hydroxymethylfurfural and related furfurals in honey. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 578–589, 21 abr. 2017.

MĂDAŞ, M. N. et al. Labeling Regulations and Quality Control of Honey Origin: A Review. **Food Reviews International**, v. 36, n. 3, p. 215–240, 2 abr. 2020.

MOREIRA, R. F. A. et al. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 121, n. 3, p. 697–704, ago. 2010.

SOUSA, J. M. B. DE et al. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 645–651, jan. 2016.

STABENTHEINER, A.; KOVAC, H.; SCHMARANZER, S. Thermal Behaviour of Honeybees During Aggressive Interactions. **Ethology**, v. 113, n. 10, p. 995–1006, 17 set. 2007.

TORNUK, F. et al. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 124–131, abr. 2013.

YÜCEL, Y.; SULTANOĞLU, P. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, v. 1, p. 16–25, mar. 2013.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S - Sistema de produção, origem floral e vegetação próxima da colmeia de cada uma das 90 amostras de méis.

Amostras	Sistema de produção	Origem floral	Vegetação próxima
1	Convencional	Multifloral	Soja, Milho
2	Convencional	Multifloral	Soja
3	Orgânico	Multifloral	Soja, Arroz
4	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
5	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
6	Orgânico	Monofloral	Laranjeira
7	Convencional	Monofloral	Laranjeira
8	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
9	Convencional	Monofloral	Eucalipto
10	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
11	Convencional	Monofloral	Eucalipto
12	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
13	Orgânico	Multifloral	Soja e Milho
14	Orgânico	Multifloral	Eucalipto
15	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
16	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
17	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
18	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
19	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
20	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
21	Convencional	Monofloral	Eucalipto
22	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
23	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
24	Convencional	Monofloral	Eucalipto
25	Convencional	Multifloral	Fumo, Milho e Soja
26	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
27	Orgânico	Multifloral	Milho e Fumo
28	Orgânico	Multifloral	Soja, Milho e Arroz
29	Convencional	Multifloral	Milho e Fumo
30	Convencional	Monofloral	Eucalipto
31	Orgânico	Multifloral	Milho e Fumo
32	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
33	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
34	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
35	Convencional	Multifloral	Milho e Fumo
36	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
37	Convencional	Multifloral	Soja, Milho e Arroz
38	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
39	Convencional	Multifloral	Soja
40	Orgânico	Monofloral	Eucalipto

41	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
42	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
43	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
44	Orgânico	Monofloral	Eucalipto
45	Convencional	Multifloral	Soja e Fumo
46	Orgânico	Multifloral	Floresta Nativa
47	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa e Soja
48	Convencional	Multifloral	Soja e Milho
49	Convencional	Multifloral	Soja
50	Orgânico	Multifloral	Não Informado
51	Orgânico	Multifloral	Não Informado
52	Convencional	Multifloral	Soja
53	Convencional	Multifloral	Soja
54	Orgânico	Multifloral	Não Informado
55	Convencional	Multifloral	Soja
56	Convencional	Multifloral	Soja
57	Convencional	Multifloral	Soja
58	Convencional	Multifloral	Soja
59	Orgânico	Multifloral	Não Informado
60	Orgânico	Multifloral	Não Informado
61	Orgânico	Multifloral	Não Informado
62	Convencional	Multifloral	Não Informado
63	Convencional	Monofloral	Cornichão
64	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa
65	Convencional	Multifloral	Floresta Nativa
66	Convencional	Multifloral	Soja
67	Convencional	Multifloral	Soja
68	Convencional	Multifloral	Soja
69	Convencional	Multifloral	Soja
70	Orgânico	Multifloral	Não Informado
71	Orgânico	Multifloral	Não Informado
72	Orgânico	Multifloral	Não Informado
73	Orgânico	Multifloral	Não Informado
74	Orgânico	Multifloral	Não Informado
75	Orgânico	Multifloral	Não Informado
76	Orgânico	Multifloral	Não Informado
77	Convencional	Monofloral	Eucalipto
78	Convencional	Multifloral	Soja
79	Convencional	Multifloral	Soja
80	Orgânico	Multifloral	Não Informado
81	Orgânico	Multifloral	Não Informado
82	Convencional	Monofloral	Eucalipto
83	Convencional	Multifloral	Soja
84	Convencional	Multifloral	Soja
85	Convencional	Monofloral	Eucalipto
86	Orgânico	Multifloral	Não Informado

87	Convencional	Multifloral	Soja
88	Convencional	Multifloral	Arroz
89	Convencional	Multifloral	Não Informado
90	Orgânico	Multifloral	Não Informado

*NI = Não Informado

4 DISCUSSÃO

As abelhas constituem indicadores confiáveis de qualidade ambiental porque sua intensa atividade de forrageamento as coloca em contato com um grande número de poluentes em um amplo raio ao redor da colmeia, dependendo da abundância de alimentos. Um declínio nas populações de abelhas está sendo observado em muitas partes do mundo, evidenciando a necessidade de monitoramento. Pesquisadores suspeitam que isso possa ser devido a uma combinação de várias doenças, poluição ambiental e prática agrícola, principalmente devido ao uso abusivo de produtos fitossanitários cada vez mais tóxicos e das grandes monoculturas (BADIOU-BÉNÉTEAU et al., 2013). A abelha melífera é, portanto, uma espécie de particular interesse na ecotoxicologia terrestre e o mel tem sido objeto de estudo como indicador de poluição ambiental.

Os PCBs tem natureza lipofílica, eles entraram na cadeia alimentar acumulando-se em gorduras, mas também podem estar presentes em produtos não gordurosos, como o mel. Devido ao contato das abelhas com a contaminação ambiental do ar e da poeira, seja durante o voo ou ao coletar o néctar das plantas, os PCBs podem ser encontrados no mel e nos demais produtos apícolas (KUJAWSKI; NAMIEŚNIK, 2008; SHENDY et al., 2016). Os dados sobre a contaminação dos méis analisados demonstraram a presença de 4 congêneres de bifenilas policloradas em micro-regiões de 9 municípios do estado do Rio Grande do Sul. Embora a contaminação seja em nano gramas por grama de mel, representando um baixo risco, trata-se de um poluente orgânico persistente, classificado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como comprovadamente carcinogênico para seres humanos e animais, Grupo 1 (IARC, 2016; LAUBY-SECRETAN et al., 2016).

O estudo realizado no estado do Rio Grande do Sul demonstrou que a contaminação por PCBs em soro de cordão umbilical de recém-nascidos foi considerada elevada, quando comparada com estudos realizados na Europa e Estados Unidos (MOHR et al., 2015), confirmando que essa contaminação também está presente nos seres humanos.

Foi observado que algumas amostras apresentaram contaminação mais elevada quando comparado com outras pesquisas que investigaram PCBs em méis italianos, egípcios, libaneses, turcos e espanhóis (HERRERA et al., 2005; ERDOĞRUL, 2007; CHIESA et al., 2016; SHENDY et al., 2016; SAITTA et al., 2017; AL-ALAM et al., 2019;). É de conhecimento que não existiram fábricas de PCBs no Brasil, portanto o descarte inadequado de equipamentos elétricos antigos contendo PCBs é provavelmente a maior causa dessa contaminação.

O mel de um sistema de produção convencional pode ser afetado pela contaminação direta associada às práticas apícolas adotadas, bem como pela contaminação indireta decorrente de fontes ambientais e práticas agrícolas (SHENDY et al., 2016; TETTE et al., 2016). Os méis orgânicos são produzidos segundo princípios ecológicos e naturais estritos, que têm como objetivo melhorar a segurança alimentar do mel (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). Todavia, a presença de bifenilas policloradas nas amostras de mel indica que as abelhas foram expostas à poluição ambiental tanto no sistema de produção orgânico quanto no convencional. Isso demonstra que o sistema de produção não foi um fator determinante na contaminação por PCBs dos méis analisados nesta pesquisa.

O mel é um produto muito valorizado, principalmente no mercado externo, fazendo com que a exportação seja o destino de grande parte da produção apícola brasileira. A exportação é mais vantajosa em quantidade e preço do que o mercado interno. Por isso, a busca por rigorosos padrões de identidade e qualidade se faz fundamental para atender um mercado consumidor cada vez mais exigente (CHIESA et al., 2016; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL - ABEMEL, 2020). Ao analisar os resultados dos padrões de identidade e qualidade individualmente, a grande maioria dos 90 méis estava dentro dos limites definidos pela legislação nacional e internacional, o que permite afirmar que o mel produzido no Rio Grande do Sul tem boa qualidade, fato que evidencia a adoção de boas práticas apícolas pelos apicultores do Estado.

Os méis oriundos predominantemente de uma única fonte floral têm maior demanda por parte do consumidor, o que significa que também apresentam maior valor comercial para os produtores. O mel orgânico também é mais caro e procurado pelo consumidor com intuito de consumir um produto livre de contaminantes (CHIESA et al., 2016). Uma parcela significativa dos méis investigados apresenta tais características, sendo monoflorais e/ou orgânicos. Essas especificidades agregam valor aos produtos, o que incentiva a sua produção.

Análises estatísticas multivariadas têm sido aplicadas com sucesso em busca da relação dos parâmetros químicos, físicos, sensoriais, compostos fenólicos e teor de metais com fatores como origem floral e geográfica do mel (YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; SOUSA et al., 2016; BALOŠ et al., 2020; MĂDAŞ et al., 2020). No presente trabalho a análise de agrupamento hierárquico possibilitou evidenciar a interação entre as variáveis distintas. Enquanto a análise de componentes principais, utilizando autoescalamento que confere pesos iguais para todas as variáveis (SOUSA et al., 2016), resultou nas projeções de diferentes sistemas de produção e origens florais. Desta forma, foi possível visualizar os vetores e a contribuição de cada variável. As variáveis em questão foram os parâmetros

umidade, cinzas, condutividade elétrica, pH, acidez livre, acidez total, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF dos méis. Portanto, através da ACP foi possível explicar 49,90% das variáveis do sistema de produção convencional e 48,38% das variáveis do sistema de produção orgânico. Sobre a origem floral, a ACP tornou possível explicar 47,55% das variáveis do mel de origem monofloral e 50,12% das variáveis do mel de origem multifloral.

Ao comparar os resultados, entre os grupos de méis de origem multifloral e monofloral, foi verificado que os parâmetros pH e sacarose aparente não diferiram significativamente. Os parâmetros umidade, condutividade elétrica e acidez livre apresentaram diferenças significativas entre o grupo do sistema de produção orgânico e o convencional. Uma possível explicação para essas diferenças pode estar nas práticas apícolas adotadas.

Na última década, vários estudos foram publicados sobre as características físicas e químicas de méis de diferentes origens (ISLA et al., 2011; TORNUK et al., 2013; KARABAGIAS et al., 2014; BENTABOL MANZANARES et al., 2014; CHAKIR et al., 2016; SOUSA et al., 2016; BOUSSAID et al., 2018), o que revela a importância e o interesse em se determinar a qualidade do mel.

Os artigos que foram desenvolvidos, os quais abordam a contaminação ambiental dos méis do Rio Grande do Sul de diferentes origens florais e sistemas de produção, bem como os seus parâmetros de qualidade, podem ajudar apicultores, pesquisadores e consumidores a compreender melhor as características do mel produzido no Estado e a importância do monitoramento da contaminação ambiental de PCBs ao qual as abelhas e as colmeias estão expostas, como forma de alertar e prevenir a ingestão destes poluentes orgânicos persistentes pelos seres humanos.

5 CONCLUSÃO

O método analítico foi aplicado com sucesso para avaliar os congêneres de PCBs em mel. Foram encontrados 4 congêneres. As amostras contaminadas são oriundas de colmeias instaladas em 9 municípios do Rio Grande do Sul e são em sua maioria, de origem multifloral.

A presença de bifenilas policloradas nas amostras de mel indica que as abelhas foram expostas a poluição ambiental tanto no sistema de produção orgânico quanto no sistema de produção convencional.

A monitoração de bifenilas policloradas no ambiente e nos alimentos é necessária para garantir que a exposição humana a contaminantes, especialmente por ingestão alimentar, seja prevenida. Os resultados do presente estudo mostraram a presença de PCBs em mel, confirmando as abelhas e colmeias como indicadores apropriados da contaminação no meio ambiente.

A análise por agrupamento hierárquico forneceu informações sobre a diferenciação dos 10 parâmetros de qualidade das amostras, classificando em grupos e usando distâncias euclidianas. Desta forma, os agrupamentos evidenciaram a interação entre as variáveis distintas.

Através da análise de componentes principais foi possível explicar 49,90% das variáveis do sistema de produção convencional e 48,38% das variáveis do sistema de produção orgânico. Sobre a origem floral, a ACP tornou possível explicar 47,55% das variáveis do mel de origem monofloral e 50,12% das variáveis do mel de origem multifloral.

Entre os 10 parâmetros avaliados, apenas os parâmetros pH e sacarose aparente não apresentaram diferença significativa entre o grupo de méis de origem multifloral e monofloral. Os parâmetros umidade, condutividade elétrica e acidez livre apresentaram diferenças significativas entre o grupo do sistema de produção orgânico e o convencional.

Os resultados de atividade diastásica e HMF do grupo de méis orgânicos e do grupo de méis convencionais revelam que ambos sistemas de produção produziram méis de alta qualidade. O desvio padrão destes parâmetros demonstra que houveram algumas exceções.

O grupo de amostras de origem multifloral apresentou resultados mais elevados para umidade, acidez livre, acidez total, sacarose aparente, atividade diastásica e HMF em relação aos resultados do grupo de méis monoflorais.

Ao analisar os resultados dos padrões de identidade e qualidade individualmente, a grande maioria dos 90 méis estavam dentro dos limites definidos pela legislação nacional e internacional.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M. et al. In vitro activity of natural honey alone and in combination with curcuma starch against *Rhodotorula mucilaginosa* in correlation with bioactive compounds and diastase activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 10, p. 816–821, out. 2013.
- AL-ALAM, J. et al. A multiresidue method for the analysis of 90 pesticides, 16 PAHs, and 22 PCBs in honey using QuEChERS–SPME. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, n. 21, p. 5157–5169, 2017.
- ALI, N. et al. Organohalogenated contaminants in type 2 diabetic serum from Jeddah, Saudi Arabia. **Environmental Pollution**, v. 213, p. 206–212, jun. 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL - ABEMEL. **Setor apícola brasileiro em números**. Disponível em: <<http://brazilltsbee.com.br/dados-setoriais.aspx>>. Acesso em: 12 dez. 2020.
- BADIOU-BÉNÉTEAU, A. et al. Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. **Environment International**, v. 60, p. 31–41, out. 2013.
- BALOŠ, M. M. Ž. et al. Sugar profile of different floral origin honeys from Serbia. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 398–405, 7 ago. 2020.
- BARGAŃSKA, Ż.; ŚLEBIODA, M.; NAMIEŚNIK, J. Pesticide residues levels in honey from apiaries located of Northern Poland. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 196–201, maio 2013.
- BERGHUIS, S. A. et al. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites is associated with neurological functioning in 3-month-old infants. **Toxicological Sciences**, v. 142, n. 2, p. 455–462, 2014.
- BOUSSAID, A. et al. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 265–274, 2018.
- BRASIL. **Portaria Interministerial n. 19, de 29 de janeiro de 1981**. 1981.
- BRASIL. Instrução Normativa N. 11, de 20 de outubro de 2000. Brasília. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 16, 23 de outubro de 2000, 2000.
- BRASIL. Lei No 10.831, de 23 de dezembro de 2003. **Diário Oficial da União** de 24/12/2003, Seção 1, p. 8, 2003. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.831.htm>. Acesso em: Setembro de 2017.
- BRASIL. **Decreto nº 6.323 de 27 de dezembro de 2007**. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2007a.
- BRASIL. Instrução Normativa N. 9, de 30 de março de 2007. Ministério da Agricultura

Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União** de 04/04/2007, Seção 1, p. 7, 2007b.

BRASIL. Instrução Normativa N. 19, de 28 de maio de 2009. **Diário Oficial da União** de 04/04/2007, Seção 1, p. 7, 2009.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeias Produtivas de Flores e Mel**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007. v. 9

CHAKIR, A. et al. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. S946–S954, nov. 2016.

CHERNETSOVA, E. S.; MORLOCK, G. E. Assessing the capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry for 5-hydroxymethylfurfural quantitation in honey. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 314, p. 22–32, mar. 2012.

CHIESA, L. M. et al. The occurrence of pesticides and persistent organic pollutants in Italian organic honeys from different productive areas in relation to potential environmental pollution. **Chemosphere**, v. 154, p. 482–490, jul. 2016.

CODEX ALIMENTARIUS. **Guidelines for the production, processing, labelling and marketing of organically produced foods**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the World Health Organization (WHO). Rome: Codex Alimentarius, 1999. Disponível em: <<http://www.fao.org/organicag/doc/glorganicfinal.pdf>>. Acesso em Setembro de 2017.

CODEX ALIMENTARIUS. **Standard for honey codex stan 12⁻¹981**, 2001. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCODEX%2BStan%2B12%2D1%2D981%252Fcx_012e.pdf>. Acesso em: Setembro de 2017

CRANE, E.; KIRK VISSCHER, P. Honey. In: **Encyclopedia of Insects**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 459–461.

DA SILVA, P. M. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.

EC. Regulamento n. 834/2007 do conselho de 28 de Junho de 2007 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CEE) n. 2092/91. **Jornal Oficial da União Europeia**, L 189/1, 20.7.2007, 2007.

EGSMOSE, E. L. et al. Associations between plasma concentrations of PCB 28 and possible indoor exposure sources in Danish school children and mothers. **Environment International**, v. 87, p. 13–19, fev. 2016.

ESCUREDO, O. et al. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food Chemistry**, v. 149, p. 84–90, abr. 2014.

ESTEVINHO, L. M. et al. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and**

Chemical Toxicology, v. 50, n. 2, p. 258–264, 2012.

EU. Council Directive 2001/110 Relating to Honey European Union Directive (EU). **Official Journal of the European Communities**, OJ L 10, 12.1.2002, p. 47, 2001.

GRIMM, F. A. et al. Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 45, n. 3, p. 245–272, mar. 2015.

HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A. et al. Persistent organic pollutants and risk of diabetes and obesity on healthy adults: Results from a cross-sectional study in Spain. **Science of The Total Environment**, v. 607–608, p. 1096–1102, dez. 2017.

HERRERA LÓPEZ, S. et al. Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study. **Chemosphere**, v. 163, p. 44–53, nov. 2016.

IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IARC. **Polychlorinated and polybrominated biphenyls**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2016. v. 107

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da pecuária municipal 2016**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2018.

KARABAGIAS, I. K. et al. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 146, p. 548–557, mar. 2014.

KASIOTIS, K. M. et al. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. **Science of The Total Environment**, v. 485–486, n. 1, p. 633–642, 1 jul. 2014.

KIM, S.-A. et al. Associations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls with total, cardiovascular, and cancer mortality in elders with differing fat mass. **Environmental Research**, v. 138, p. 1–7, abr. 2015.

KRAFT, M. et al. Quantification of all 209 PCB congeners in blood—Can indicators be used to calculate the total PCB blood load? **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 2, p. 201–208, mar. 2017.

KUJAWSKI, M. W.; NAMIEŚNIK, J. Challenges in preparing honey samples for chromatographic determination of contaminants and trace residues. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 9, p. 785–793, 2008.

LAREDJ, H.; WAFFA, R. Microbiological and Physicochemical Characterization of Honeys from the Tiaret Region of Algeria. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care**, v. 9, n. 3, p. 85, 2017.

LAUBY-SECRETAN, B. et al. Use of mechanistic data in the IARC evaluations of the

carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and related compounds. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 3, p. 2220–2229, 17 fev. 2016.

MALHAT, F. M. et al. Residues of organochlorine and synthetic pyrethroid pesticides in honey, an indicator of ambient environment, a pilot study. **Chemosphere**, v. 120, p. 457–461, fev. 2015.

MUSTIELES, V. et al. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. **Environment International**, v. 104, p. 48–57, jul. 2017.

PANSERI, S. et al. Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. **Food Control**, v. 38, n. 1, p. 150–156, abr. 2014.

QUINETE, N. et al. PCB 28 metabolites elimination kinetics in human plasma on a real case scenario: Study of hydroxylated polychlorinated biphenyl (OH-PCB) metabolites of PCB 28 in a highly exposed German Cohort. **Toxicology Letters**, v. 276, p. 100–107, jul. 2017.

RIAL-OTERO, R. et al. Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview. **Talanta**, v. 71, n. 2, p. 503–514, 2007.

RODRÍGUEZ LÓPEZ, D. et al. Evaluation of pesticide residues in honey from different geographic regions of Colombia. **Food Control**, v. 37, n. 1, p. 33–40, 2014.

ROSZKO, M. L. et al. Levels of Selected Persistent Organic Pollutants (PCB, PBDE) and Pesticides in Honey Bee Pollen Sampled in Poland. **PloS one**, v. 11, n. 12, dez. 2016.

SAITTA, M. et al. Gas chromatography-tandem mass spectrometry multi-residual analysis of contaminants in Italian honey samples. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 34, n. 0, p. 1–9, 20 fev. 2017.

SANTE. **Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed**, 2015. Disponível em: <http://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727&LabID=100&Lang=EN>. Acesso em: Setembro de 2017.

SHENDY, A. H. et al. Simultaneous determination of 200 pesticide residues in honey using gas chromatography-tandem mass spectrometry in conjunction with streamlined quantification approach. **Journal of Chromatography A**, v. 1427, p. 142–160, jan. 2016.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. [s.l.] Cengage Learning, 2015.

SOHAIMY, S. A. el; MASRY, S. H. D.; SHEHATA, M. G. Physicochemical characteristics of honey from different origins. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, p. 279–287, 2015.

SOUZA TETTE, P. A. et al. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. **Talanta**, v. 149, p. 124–141, mar. 2016.

TETTE, P. A. S. et al. Multiclass method for pesticides quantification in honey by means of modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 211, p. 130–139, nov. 2016.

VAFEIADI, M. et al. Persistent organic pollutants in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. **Environment International**, v. 98, p. 89–95, 2017.

VINCETI, M. et al. Pesticides, polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients: a case-control study. **Environmental research**, v. 155, p. 261–267, maio 2017.

VORKAMP, K. An overlooked environmental issue? A review of the inadvertent formation of PCB¹¹ and other PCB congeners and their occurrence in consumer products and in the environment. **Science of The Total Environment**, v. 541, p. 1463–1476, jan. 2016.

WHO. General description Polychlorinated biphenyls (PCBs). **Air Quality Guidelines WHO**, v. 2, n. 2, p. 1–22, 2000.

YÜCEL, Y.; SULTANOĞLU, P. Characterization of Hatay honeys according to their multi-element analysis using ICP-OES combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 140, n. 1–2, p. 231–237, set. 2013.

ZIEGLER, S. et al. Accelerated telomere shortening in peripheral blood lymphocytes after occupational polychlorinated biphenyls exposure. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 1, p. 289–300, 5 jan. 2017.