

ROBERTA DE OLIVEIRA RESENDE RIBEIRO

ELEMENTOS TRAÇO EM MÉIS DE ABELHAS (*Apis mellifera*) DO ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO, BRASIL: INFLUÊNCIAS DA SAZONALIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós –  
Graduação em Medicina Veterinária da  
Universidade Federal Fluminense, como  
requisito parcial para obtenção do Grau de  
Mestre. Área de Concentração: Higiene  
Veterinária e Processamento Tecnológico de  
Produtos de Origem Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO

Co-orientador: Prof. Dr. EDGAR FRANCISCO OLIVEIRA DE JESUS

Niterói  
2010

ROBERTA DE OLIVEIRA RESENDE RIBEIRO

ELEMENTOS TRAÇO EM MÉIS DE ABELHAS (*Apis mellifera*) DO ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO, BRASIL: INFLUÊNCIAS DA SAZONALIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós –  
Graduação em Medicina Veterinária da  
Universidade Federal Fluminense, como  
requisito parcial para obtenção do Grau de  
Mestre. Área de Concentração: Higiene  
Veterinária e Processamento Tecnológico de  
Produtos de Origem Animal.

Aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. EDGAR FRANCISCO OLIVEIRA DE JESUS  
Laboratório de Instrumentação Nuclear/COPPE/Universidade Federal do Rio de  
Janeiro

---

Dr<sup>a</sup>. RENATA DE FARIA BARBOSA  
Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares/CNEN-SP

Niterói  
2010

Dedico este trabalho aos meus pais, Marielze e Roberto, as pessoas mais importantes na minha vida, que sempre me estimularam e tornaram viáveis os meus estudos, muitas vezes abnegando de suas próprias vidas em prol da minha felicidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu irmão pelo exemplo de pessoa que é, fundamental na minha vida pessoal e profissional. Obrigada por acreditar sempre em mim, por me apoiar, por estar sempre presente na minha vida, mesmo que seja em pensamentos. Agradeço também por fazer a sua ausência física ser quase imperceptível, devido a sua tamanha destreza de encarar os desafios da vida, fazendo sempre o impossível para acalantar nossos corações.

Ao Cat por ter interrompido meus estudos com suas travessuras, o que descontraía o ambiente. Obrigada pelo seu amor incondicional e por me ouvir todas as vezes que julguei necessário.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Eliane Teixeira Mársico – minha querida orientadora, pela amizade e afeto desprendido, pela paciência para agüentar as minhas sandices, pelo excesso de compreensão e incentivo, fundamentais para a minha formação. Obrigada por ter sempre acreditado em mim e por ser um exemplo de profissional dedicada, estando sempre pronta para, generosamente, compartilhar parte de seu vasto conhecimento, tornando mais prazerosa esta jornada. Por fim, obrigada pela parceria na vida.

Ao Prof. Dr Edgar Francisco Oliveira de Jesus por todo apoio e carinho depreendido durante toda a caminhada. Obrigada pela paciência interminável, por estar sempre pronto para ouvir as minhas infundáveis dúvidas e, acima de tudo, obrigada pela imensa colaboração na confecção, leitura e tratamento das amostras.

Ao Professor Sérgio Borges Mano, pela amizade e exemplo de profissional, estando sempre presente, auxiliando na minha formação profissional.

A amiga e eterna mestre Rami Fanticelli, pelo incentivo e presença constante, por ter me auxiliado nos momentos mais decisivos da minha vida profissional e por ser a primeira a despertar o meu interesse para este lado da ciência.

Ao Drausio de Paiva Ferreira, pela atenção, amizade e valiosa ajuda durante o curso de Pós-Graduação.

Ao amigo Carlos Frederico Guimarães, pela agradável companhia e ensinamentos durante a minha permanência no Laboratório de Controle Físico-Químico.

Aos Amigos da UFF – Maria Lúcia, Neila e Felipe, que enriqueceram meu processo de formação profissional, servindo como base e exemplo de profissionais dedicados, e ainda agradeço pelas conversas descontraídas, sendo sempre atenciosos e solícitos.

A amiga Carla da Silva, pela ajuda fundamental na elaboração deste estudo, pela companhia em todos os momentos, agradeço por ter sido a minha agenda, minha lista telefônica, por sempre trazer uma palavra positiva nas horas em que mais precisei. Obrigada pela amizade que levarei pelo resto da vida.

Aos Amigos e companheiros de uma vida - Dui, Emília, Otávio, Fernanda Gomes, Dani, Roberta, Larissa, Rodrigo, Marília e Rozanne, agradeço a cada um de vocês, que de uma maneira única e especial fazem parte da minha vida. Obrigada pelos churrascos, cervejas, viagens, conversas e apoio incondicional, por vibrarem a cada pequeno passo que dou e por tornarem a minha vida extremamente prazerosa.

A amiga Fernanda, pelos conselhos, horas de conversas, pelo carinho e compreensão, por ter entendido as minhas limitações tecnológicas e por ter sido indispensável para conclusão deste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Aos apicultores que com presteza, forneceram as amostras as quais permitiram-me a realização deste estudo.

Ao Laboratório de Instrumentação Nuclear – LIN, localizado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, situado na cidade de Piracicaba, São Paulo, pela atenção e apoio técnico, em especial ao Professor Virgílio Franco do Nascimento Filho por possibilitar a realização das análises, fundamentais para a concretização deste trabalho; ao pesquisador e técnico especialista, Eduardo de Almeida, pelo incentivo e apoio prestados durante nossa permanência no Laboratório, que tornou este projeto executável.

Ao Prof<sup>o</sup> Rodolfo de Almeida, pelo auxílio no tratamento estatístico dos resultados.

A coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – pelo auxílio financeiro.

Enfim, agradeço àqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse concluído. Minha gratidão a todos que, pela amizade, carinho e

respeito, ou pelo simples convívio ao longo dessa jornada, ligaram-se a mim, pelo vínculo da experiência comum.

“Quem já passou por essa vida e não viveu  
Pode ser mais, mas sabe menos do que eu  
Porque a vida só se dá pra quem se deu  
Pra quem amou, pra quem chorou, pra quem sofreu  
Ah, quem nunca curtiu uma paixão nunca vai ter nada, não  
Não há mal pior do que a descrença  
Mesmo o amor que não compensa é melhor que a solidão  
Abre os teus braços, meu irmão, deixa cair  
Pra que somar se a gente pode dividir  
Eu francamente já não quero nem saber  
De quem não vai porque tem medo de sofrer  
Ai de quem não rasga o coração, esse não vai ter perdão”

Vinícius de Moraes

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 11

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, p. 15

**RESUMO**, p. 17

**ABSTRACT**, p. 18

**1 INTRODUÇÃO**, p. 19

**2 REVISÃO DE LITERATURA**, p. 21

2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O MEL, p. 21

2.2 ELABORAÇÃO DO MEL, p. 23

2.3 CENÁRIO APÍCOLA BRASILEIRO, p. 25

2.4 CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DOS MUNICÍPIOS DE BARRA MANSA,  
NOVA FRIBURGO E TERESÓPOLIS, p. 29

**2.4.1 Barra Mansa**, p. 29

**2.4.2 Nova Friburgo**, p. 30

**2.4.3 Teresópolis**, p. 31

2.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUALIDADE DO MEL, p. 31

2.6 CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS POR METAIS TRAÇO, p. 32

2.7 DADOS TOXICOLÓGICOS DOS METAIS, p. 35

**2.7.1 Bromo**, p. 36

**2.7.2 Cobre**, p. 37

**2.7.3 Cromo**, p. 37

**2.7.4 Ferro**, p. 39

**2.7.5 Manganês**, p. 39

**2.7.6 Níquel**, p. 40

**2.7.7 Selênio**, p. 41

**2.7.8 Zinco**, p. 42

2.8 PROCEDIMENTOS ANÁLITICOS UTILIZADOS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM MEL, p. 43

2.9 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE ELEMENTOS TRAÇO EM ALIMENTOS, p.45

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, p. 47

3.1 METODOLOGIA, p. 47

**3.1.1 Amostras**, p.47

**3.1.2 Localização das áreas de coleta da amostras**, p. 48

**3.1.3 Reagentes analíticos**, p. 50

**3.1.4 Análises físico-químicas**, p. 50

**3.1.5 Preparo das Vidrarias**, p. 51

**3.1.6 Fluorescência de Raio-X por reflexão total (TXRF)**, p. 51

3.1.6.1 Limpeza dos discos refletorres de Quartzo, p. 52

3.1.6.2 Preparo das amostras para análise por TXRF, p. 52

3.1.6.3 Análise quantitativa por TXRF, p. 54

3.1.6.4 Preparo do branco, p. 55

3.1.6.5 Instrumentação, p. 56

3.1.6.6 Sensibilidade Relativa, p. 59

3.1.6.7 Validação das análises por TXRF, p. 59

3.1.6.8 LIMITE DE DETECÇÃO DO TXRF, p. 59

3.2 TRATAMENTO ESTATÍSTICO, p. 60

**4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**, p. 61

4.1 CÁLCULO DA SENSIBILIDADE DO SISTEMA, p. 61

4.2 ANÁLISE DAS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES ELEMENTARES, p. 63

4.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA, p. 64

4.4 RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 64

4.5 OBTENÇÃO DOS RESULTADOS NAS AMOSTRAS DE MEL, p. 64

4.6 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÊS DE TERESÓPOLIS – RJ COLETADOS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, p. 71

4.7 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DE BARRA MANSA – RJ COLETADOS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, p. 80

4.8 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DO MUNICÍPIO DE NOVA FRIBURGO – RJ, AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO SUL, NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, p. 85

4.9 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DO MUNICÍPIO DE NOVA FRIBURGO – RJ, AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO NORTE, NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, p. 87

4.10 COMPARAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE METAIS NAS REGIÕES DE TERESÓPOLIS, NOVA FRIBURGO E BARRA MANSA, p. 91

**5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES**, p. 93

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, p. 97

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 Gráfico demonstrativo do volume de mel exportado no período de 2000 a 2009, f. 28
- Fig. 2 Gráfico adaptado da superfície de propagação de substância poluentes no meio ambiente. A área acinzentada caracteriza os setores do ambiente visitado pelas abelhas, f. 33
- Quadro 1 Teor dos principais minerais encontrados no mel, f. 36
- Quadro 2 Concentração máxima permitida pela Legislação Brasileira para alguns metais em mel, f. 46
- Fig. 3 Colméias onde foram coletadas as amostras de Barra Mansa/RJ, f. 47
- Fig. 4 Teresópolis/RJ, f. 48
- Fig. 5 Nova Friburgo/RJ (Região Norte), f. 49
- Fig. 6 Nova Friburgo/RJ (Região Sul), f. 49
- Fig. 7 Barra Mansa/RJ, f. 50
- Fig. 8 Entrada do Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), localizado em Piracicaba, São Paulo, Brasil, f. 51
- Fig. 9 Refletores posicionados verticalmente em base acrílica, f. 52
- Fig. 10 Refletores imersos em água com detergente neutro, f. 52
- Fig. 11 Cadinhos de porcelana dentro do forno mufla, f. 53
- Fig. 12 Balões volumétrico com resíduos das amostras e ácido clorídrico, f. 53

- Fig. 13 Protocolo de preparo das amostras de mel para análise por TXRF, f. 54
- Fig. 14 Alíquota de 10 $\mu$ L sendo pipetada no centro de um disco refletor de quartzo, f. 56
- Fig. 15 Amostras secando dentro da estufa a 50°C, f. 56
- Fig. 16 Inserção do disco refletor no suporte; detalhe do equipamento com módulo de reflexão total, f. 57
- Fig. 17 Detector de Raios X semicondutor de Si (Li) da marca Canberra, f. 57
- Fig. 18 Gravação dos espectros de Raios X característicos pelo sistema Genie-Camberra, f. 58
- Fig. 19 Espectros sendo analisados no “software” - Sistema de Análise Quantitativa de Raio-X (Quantitative X-Ray Analysis System – QXAS), f. 58
- Fig. 20 Soluções padrão monoelementar, f. 59
- Tab. 1 Concentração final (mg.L<sup>-1</sup>) dos elementos utilizados na solução padrão para a determinação da curva de sensibilidade para os elementos da linha K do sistema de TXRF do LIN – Piracicaba (SP), f. 62
- Fig. 21 Curva de calibração para os elementos da linha K do sistema TXRF do LIN–Piracicaba (SP), f. 62
- Fig. 22 Espectro típico de mel obtido pelo sistema TXRF do LIN – Piracicaba (SP), f. 63
- Tab. 2 Valores de concentração calculados e certificados do material de referência fígado bovino (SRM-1577b “Bovine liver”) para TXRF, f. 64
- Tab. 3 Resultados das análises de acidez (meq/Kg), açúcares redutores (%), açúcares não redutores (%), sólidos insolúveis (%), Teste de Fiehe e reação de Lugol, em méis das regiões de Teresópolis (RJ), Friburgo (RJ) – região sul, Friburgo (RJ) – região norte e Barra Mansa (RJ) nas quatro diferentes estações do ano, f. 65
- Tab. 4 Concentrações médias, desvio padrão, valores máximo e mínimo ( $\mu$ g.g<sup>-1</sup>) em méis da região de Teresópolis (RJ), nas quatro diferentes estações do ano, f. 66
- Tab. 5 Concentrações médias, desvio padrão, valores máximo e mínimo ( $\mu$ g.g<sup>-1</sup>) em méis da região de Barra Mansa (RJ), nas quatro diferentes estações do ano, f. 67
- Tab. 6 Concentrações médias, desvio padrão, valores máximo e mínimo ( $\mu$ g.g<sup>-1</sup>) em méis da região sul de Nova Friburgo - RJ, nas quatro diferentes estações do ano, f. 68

- Tab. 7 Concentrações médias, desvio padrão, valores máximo e mínimo ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em méis da região de norte de Nova Friburgo - RJ, nas quatro diferentes estações do ano, f. 69
- Tab. 8 Concentrações médias, desvio padrão, valores máximo e mínimo ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em méis das regiões de Teresópolis (RJ), Friburgo (RJ) – região sul, Friburgo (RJ) – região norte e Barra Mansa (RJ) nas quatro diferentes estações do ano, f. 70
- Fig. 23 Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 72
- Fig. 24 Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 73
- Fig. 25 Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de outubro de 2008, f. 73
- Fig. 26 Temperaturas médias, máxima e mínima registradas no município de Teresópolis (RJ), durante o mês de fevereiro de 2009, f. 74
- Fig. 27 Comparação entre as médias das concentrações de Mn encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 75
- Fig. 28 Comparação entre as médias das concentrações de Fe encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 76
- Fig. 29 Comparação entre as médias das concentrações de Zn encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 78
- Fig. 30 Comparação entre as médias das concentrações de Br encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 78
- Fig. 31 Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de fevereiro 2009, f. 79
- Fig. 32 Comparação entre as médias das concentrações de Sr encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano, f. 80
- Fig. 33 Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano, f. 81

- Fig. 34 Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de meís coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano, f. 82
- Fig. 35 Índice pluviométrico registrado na região de Barra Mansa – RJ, nos meses de abril 2008 a março de 2009, f. 82
- Fig. 36 Comparação entre as médias das concentrações de Mn encontradas nas amostras de meís coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano, f. 83
- Fig. 37 Comparação entre as médias das concentrações de Zn encontradas nas amostras de meís coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano, f. 84
- Fig. 38 Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de meís coletados na região sul de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano, f. 86
- Fig. 39 Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de meís coletados na região norte de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano, f. 88
- Fig. 40 Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de meís coletados na região norte de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano, f. 89
- Fig. 41 Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de novembro 2008, f. 90

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CBA	Confederação Brasileira de Apicultura
SEBRAE/CE	Serviço de Apoio as Micro e Pequenas Empresas do Estado do Ceará
SECEX	Secretaria de Comércio Exterior
ABEMEL	Associação Brasileira de Exportadores de Mel
DESER	Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais
Kg	quilograma
SP	São Paulo
CSN	Companhia Siderúrgica Nacional
km <sup>2</sup>	Quilometro quadrado
mm	Milímetro
mg.kg <sup>-1</sup>	Miligrama por quilo
mg	Miligrama
AgBr	Brometo de prata
µg.g <sup>-1</sup>	Micrograma por grama
Cr <sup>3+</sup>	Cromo trivalente
Cr <sup>6+</sup>	Cromo hexavalente
mg.Kg <sup>-1</sup>	Miligrama por quilo
Fe	Ferro
µg	Micrograma
LD	Limite de Detecção
Al	Alumínio
Br	Bromo
Ca	Cálcio

Cu	Cobre
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Ni	Níquel
Zn	Zinco
Co	Cobre
Na	Sódio
Li	Lítio
Rb	Rubídio
P	Fósforo
S	Enxofre
XRF	X Ray Fluorescence
TXRF	Total Reflection X-Ray Fluorescence
ppb	Partes por bilhão
µL	Microlitro
K	Potássio
Ti	Titânio
MS	Ministério da Saúde
UFF	Universidade Federal Fluminense
LANARA	Laboratório Nacional de Referência Animal
LIN	Laboratório de Instrumentação Nuclear
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
HCl	Ácido Clorídrico
Ga	Gálio
mA	miliamper
QXAS	Quantitative X-Ray Analysis System
NIST	National Institute for Science and Technology
SAS	Statistical Analysis System
Sr	Estrôncio

## RESUMO

O mel está sujeito a diferentes fontes de contaminação, pois abelhas operárias fazem viagens exploratórias em áreas que cercam seu “habitat”, recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores, fornecendo numerosos indicadores biológicos que variam de acordo com as diferentes estações do ano. Durante este processo, diversos microrganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e podem ficar armazenados em sua superfície corporal, serem inalados, ou ainda, ingeridos pelas mesmas. Desta forma, o mel pode ser usado como bioindicador para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos. Baseado neste fato objetivou-se avaliar as concentrações dos metais K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br e Sr em 160 amostras de méis de abelhas *Apis mellifera*, divididos em quatro estações do ano, e em quatro distintos locais do estado do Rio de Janeiro (Barra Mansa, Teresópolis, região norte de Friburgo e região sul de Friburgo) com intuito de verificar a influência da sazonalidade na qualidade toxicológica e nutricional do produto. Para o estudo dos elementos traço foi utilizada a técnica de Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total (TXRF). Os resultados demonstraram que a distribuição de metais não foi uniforme em nenhuma região. O K e Ca foram os metais de maior concentração em todas as amostras estudadas. Para os metais K, Ca, Mn, Fe, Zn, Br e Sr, foi evidenciado uma correlação positiva, com diferença estatisticamente positiva ( $p < 0,05$ ), nas quatro estações estudadas. Com relação aos teores de Ni, Ti e Mn, observou-se que as concentrações não foram elevadas, demonstrando não haver problemas relacionados à contaminação por estes metais nos méis nas regiões estudadas. O teor de Cr apresentou-se acima da concentração máxima permitida pela legislação brasileira em algumas amostras, em todos os locais de coleta. A presença dos contaminantes citados, mesmo em quantidades diminutas, indicou que o mel pode ser utilizado para avaliar a presença de contaminantes no ambiente, pois passa por um processo de bioacumulação, representando assim, o grau de contaminação da região pesquisada. Foi possível também observar a forte influência das variações climáticas e da origem botânica em grande parte dos metais estudados. A técnica utilizada para determinação dos metais mostrou-se eficiente, por ser uma técnica multielementar, permitindo assim, a detecção simultânea de vários elementos. O método TXRF ainda se diferenciou por possuir características importantes, como o baixo nível de detecção pouco tempo de medição e a utilização de diminutas quantidades de amostras, exigindo pouca manipulação, o que previne a contaminação nesta etapa.

Palavras-chave: Mel; Bioindicador; Elementos Traço, TXRF

## ABSTRACT

Honey is subject to different sources of contamination, because bees do explorations in areas surrounding its habitat, collecting nectar, water and pollen of flowers, providing numerous markers that vary according to different seasons. During this process, several microorganisms, chemicals and airborne particles are trapped by bees and can be stored in their body surface, are inhaled or ingested by bees. Therefore, honey can be used as bioindicators for monitoring environmental impact caused by biological, chemical and physical. Based on this fact aimed to evaluate the concentrations of metals K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br and Sr in 160 samples of honey bee *Apis mellifera*, divided into four seasons and in four different locations of Rio de Janeiro (Barra Mansa, Teresópolis, north of Friburgo and the southern region of Friburgo) in order to verify the influence of seasonality in the toxicological and nutritional quality of the product. For the study of trace elements was used the technique of fluorescence X-ray total reflection (TXRF). The results showed that the distribution of metals was not uniform in any region. The K, and Ca were the highest concentration of metals in all samples studied. For the metals K, Ca, Mn, Fe, Zn, Br and Sr, was shown a positive correlation, with a statistically positive ( $p < 0.05$ ) in four season studied. With respect to Ni, Ti and Mn, showed that concentrations were not high, showing no problems related to contamination by these metals in honey in the regions studied. The content of Cr presented above the maximum concentration allowed by Brazilian legislation in some samples in all sampling sites. The presence of contaminants mentioned, even in small quantities, indicated that honey can be used to assess the presence of contaminants, because it passes through a process of accumulation, representing the degree of contamination of the area surveyed. It was also possible to observe the strong influence of climatic variations and botanical origin in most of the metals studied. The technique used for determination of metals was efficient, because it is a multielement technique, which allows the simultaneous detection of several elements. The TXRF method has distinguished itself by having important characteristics such as low detection level a short time of measurement and use of small amounts of samples, requiring little manipulation, which prevents the contamination in this step.

Keywords: Honey; bioindicator; Trace Elements, TXRF

## 1 INTRODUÇÃO

O mel é uma substância produzida por abelhas melíferas, a partir do néctar de flores ou de secreções de partes vivas das plantas e é utilizado como suplemento alimentar pelo homem, desde as mais antigas civilizações, como a dos gregos e a dos egípcios. Apreciado por seu sabor característico, possui considerável valor nutritivo, com riqueza de elementos em sua composição, que o transforma em um dos alimentos mais complexos encontrados na natureza e, certamente, o único agente edulcorante que pode ser utilizado por seres humanos, sem que haja qualquer tipo de transformação.

Atualmente, a apicultura tem se sobressaído por ser uma atividade baseada no tripé da sustentabilidade, pois trás benefícios sociais, econômicos e ecológicos. Em todo o país, milhares de empregos são gerados nos serviços de manejo das abelhas, fabricação e comércio de equipamentos, beneficiamento dos produtos e polinização de culturas agrícolas. Neste sentido, o Brasil se destaca, pois é detentor de características especiais de flora e clima que, aliados à rusticidade da abelha africanizada, lhe conferem um excelente potencial para desenvolvimento da atividade apícola. Argumento reforçado, principalmente, porque a composição química de qualquer grupo de mel dependerá em grande parte da origem botânica do néctar ou secreções utilizadas para confecção do produto final.

Perante cenários desta natureza, produtos apícolas têm suas imagens associadas a produtos naturais e, conseqüentemente, livres de impurezas do ponto de vista higiênico-sanitário e toxicológicos. Contudo, produtos apícolas, atualmente, são produzidos em ambientes muitas vezes inóspitos, estando sujeito a diferentes fontes de contaminação. Este fato apresenta relevância no contexto deste estudo, pois abelhas operárias fazem viagens exploratórias em áreas que cercam seu

“habitat”, recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores. Com isto, quase todos os setores ambientais, tais como, solo, vegetação, água e ar, são explorados pelas abelhas produtoras de mel, fornecendo numerosos indicadores biológicos que variam de acordo com as diferentes estações do ano. Durante este processo, diversos microrganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e podem ficar armazenados em sua superfície corporal, serem inalados ou, ainda, ingeridos pelas mesmas. Pautado neste fato, o mel pode ser usado como bioindicador para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos.

Diante deste panorama, o presente estudo objetivou determinar as concentrações de diferentes metais em méis de locais distintos do estado do Rio de Janeiro, traçando um comparativo entre uma região rica em indústrias metalúrgicas e químicas, que reconhecidamente contribuem para contaminação do ambiente, e regiões, possivelmente livres de fontes antropogênicas de contaminação. Também foram consideradas as mudanças sazonais que ocorreram em todas as estações do ano.

Em linhas gerais, preceituou-se obter dados que contribuíssem tanto com a avaliação do perfil de metais dos méis nas diferentes regiões estudadas, baseado na característica de indicador biológico de contaminação ambiental do produto, como colaborar com a estimativa de possíveis riscos que o consumo de mel oriundo das regiões estabelecidas possa acarretar a saúde do consumidor.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O MEL**

O mel é uma substância produzida por abelhas melíferas, a partir do néctar de flores ou de secreções de partes vivas das plantas (BRASIL, 2000) e é utilizado como suplemento alimentar pelo homem desde as mais antigas civilizações, como a dos gregos e egípcios. Apreciado por seu sabor característico, possui considerável valor nutritivo, com riqueza de elementos em sua composição, que inclui diferentes açúcares, predominando os monossacarídeos glicose e frutose, além da sacarose, maltose, malesitose e outros oligossacarídeos (incluindo dextrinas). Apresenta também proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, substâncias minerais, pólen e outras substâncias. Importante também ressaltar a presença de pequenas concentrações de fungos, algas, leveduras e outras partículas sólidas resultantes do processo de obtenção do mel (CODEX STANDARD FOR HONEY, 2001).

O produto pode ser usado em quase todas as circunstâncias em substituição ao açúcar comum, sendo um diferencial na gastronomia, porém é mais oneroso. Quando comparado ao açúcar comum refinado de cana-de-açúcar, o mel oferece algumas vantagens, pois além da sua rica composição, ele transforma os açúcares compostos em açúcares simples, possibilitando a imediata absorção pelo organismo, passando seus componentes diretamente ao sangue (MASSON, 1984). Desta forma, seu uso na nutrição humana não deveria limitar-se apenas à característica adoçante, mas, também ao fato de ser um alimento de alta qualidade, rico em energia, que apresenta efeito sobre o sistema imunológico, possuir atividades antibacteriana, antiinflamatória, analgésica, sedativa, expectorante e

hiposensibilizadora (WIESE, 1995) e, ainda, possuir inúmeras outras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos (EMBRAPA MEIO-NORTE, 2003).

O mel pode ser classificado, quanto à sua origem, em mel floral ou mel de melato. O mel floral é obtido dos néctares das flores, e ainda pode ser classificado em mel unifloral ou monofloral, quando o produto procede principalmente da origem de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias, ou mel multifloral ou polifloral obtido a partir de diferentes origens florais. O mel de melato é formado principalmente a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (BRASIL, 2000).

De acordo com a Instrução Normativa nº 11 de 2000, que regulamenta a identidade e qualidade do mel, as características sensoriais são: cor, sabor, aroma e consistência (viscosidade) (ibid).

A viscosidade do mel depende, em grande parte, do seu conteúdo em água e está assim ligada a sua densidade relativa; ou seja, quanto menor o teor de água, mais altas a densidade e viscosidade (CRANE, 1983).

A coloração, aroma e sabor do mel variam de acordo com a sua origem floral, podendo ser quase incolor (oriundo de flores como o assa-peixe), âmbar (flores de laranjeiras), escuro (eucalipto, silvestre) e pardo escuro (trigo sarraceno). A coloração pode ser alterada com tempo e a temperatura de estocagem do mel, nestes casos observa-se escurecimento. Outros fatores, tais como o superaquecimento e excesso de metais, também podem ocasionar escurecimento do mel. O escurecimento devido aos teores de minerais são confirmados através de pesquisas que demonstraram que os méis mais escuros podem ter de quatro a seis vezes mais sais minerais que os claros, com destaque para o manganês, potássio, sódio e ferro (COUTO; COUTO, 2002). Nos mercados mundiais o mel é avaliado por sua cor, sendo que méis mais claros alcançam preços mais elevados (CARVALHO et al., 2003).

As propriedades físico-químicas do mel são influenciadas por diversos fatores, tais como natureza do solo, raça de abelhas, estado fisiológico da colônia, estágio da maturação do mel, e variações climáticas, sendo alterado também pelas condições de processamento e armazenamento. Outro ponto a se ressaltar faz referência ao fato do mel ser uma matriz heterogênea, devido à presença de resíduos de cera, própolis e materiais inorgânicos insolúveis em água em sua

composição, ficando sujeito a modificações em seu aroma, paladar (sabor), coloração, viscosidade e propriedades medicinais (SERRANO et al., 1994; CAMPOS, 2000).

Para se estabelecer uma dieta adequada a cada indivíduo é de fundamental importância conhecer a composição dos nutrientes presentes nos alimentos, podendo, assim, recomendar uma alimentação balanceada a cada grupo populacional e ainda desenvolver novos produtos. Por este motivo, os diversos elementos que atuam no mel, influenciando nas características físicas, químicas e sensoriais, vêm sendo fonte de pesquisas de inúmeros trabalhos científicos (LAJOLO, 1995).

## 2.2 ELABORAÇÃO DO MEL

Todo mel tem sua origem em certos materiais vegetais, que são encontrados e coletados pelas abelhas campeiras que, posteriormente, os transformam em mel na colméia. A capacidade da colônia em obter mel depende da população total de abelhas nela contida, pois estas têm a função de coletar, tanto a matéria-prima para a composição do mel, como pólen suficiente para fornecer proteína para o desenvolvimento da abelha (MASSON, 1984).

Grande parte da colônia de abelhas é composta por operárias e fêmeas não reprodutoras. Inicialmente, ao eclodir das células como uma abelha adulta, até o terceiro dia de vida, as operárias são encarregadas de manter a boa higiene das células onde, posteriormente, nascerão as outras operárias. Entre o 5° e 10° dias, após a eclosão, ocorre o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas, responsáveis por produzir o alimento larval, conhecido popularmente como geléia real. Com o tempo, ocorre a atrofia desta glândula e, simultaneamente, as glândulas de cera presente sob o abdômen se desenvolvem, e as abelhas secretam cera para construção e reparo dos favos. Naturalmente, por volta do 15° dia, as glândulas de cera decrescem e as glândulas de veneno tornam-se ativas. A glândula hipofaríngea atrofiada, nesta etapa, produz uma secreção rica em enzimas diastase, invertase e glicose-oxidase, que possuem papel fundamental na conversão do néctar em mel (ibid).

A coleta de matéria-prima é a atividade final na vida de uma abelha operária. Durante este período, ela é chamada de abelha campeira. Para tal atividade, as

abelhas levam da colméia uma quantidade de néctar suficiente para capacitá-la a alcançar as flores que serão utilizadas como fonte de néctar, até que sua vesícula melífera esteja repleta. Então, a abelha retorna à colméia e o néctar ou melato coletado é diluído pelas secreções de várias glândulas durante o vôo, em especial as hipofaringeanas, que secretam enzimas utilizadas na elaboração do mel (CRANE, 1983).

Ao chegar à colméia, a abelha coletora já terá diluído o néctar com sua saliva, sendo que a mesma o retém até encontrar uma abelha caseira que queira aceitar seu alimento. Quando isto ocorre, toda a carga trazida é passada para uma ou mais abelhas caseiras ou receptoras, que manipulam o néctar em suas peças bucais. Estas descansam em uma parte despovoada da colméia, com a cabeça mais elevada e, repetidamente, estendem e retraem suas probóscides, expondo ao ar uma gota diluída de néctar e, em seguida, aspira a gota de volta para a boca. Ao término do processo, as abelhas caseiras depositam sua carga em um alvéolo da colméia. Em seguida, o conteúdo de água do néctar é diminuído de 55 para 40%, no período de uma hora após sua chegada na colméia, quando então, terá recebido o complemento total de enzimas da abelha. Considerável parte da umidade do mel em elaboração continua sendo perdida até que seu conteúdo tenha atingido de 17 a 20%, de acordo com a umidade atmosférica e temperatura do local. Quando isto ocorre, as abelhas operculam a célula, fechando-a hemerticamente com uma cobertura de cera, prevenindo desta forma, a absorção de água pelo mel, que tem acentuada característica higroscópica e, assim, o risco de fermentação (MASSON, 1984).

Durante esta redução no teor de umidade, a abelha introduz a enzima invertase, responsável por alterações químicas que levam a um conteúdo de açúcar mais alto do que poderia ser adquirido sem ação enzimática. Isto ocorre, pois a invertase transforma a sacarose do alimento coletado em glicose e frutose. Ao mesmo tempo, certos açúcares superiores são sintetizados e, diferente da glicose e da frutose, estão presentes no mel, mas não no material vegetal (CRANE, 1979).

A diastase, outra enzima secretada pelas glândulas hipofaringeanas das abelhas, quebram o amido. Contudo, não exerce papel de relevância na produção do mel (ibid).

A terceira enzima, a glicose-oxidase, reage com a glicose formando gliconolactona e peróxido de hidrogênio, este, capaz de proteger a colméia contra a

decomposição bacteriana, até que seu conteúdo de água esteja baixo o suficiente para fazê-lo (CRANE, 1983).

A produção de mel anual está diretamente ligada ao ciclo sazonal geral da produção e ao consumo de mel pela colônia de abelhas. Cada local onde as abelhas são mantidas apresenta um padrão próprio sazonal, com isto, em determinadas épocas do ano aumenta o fluxo de mel gerando um excedente para o apicultor, em contra partida, pode haver um período com poucas fontes de alimento, que irá servir apenas para manter a colônia entre os fluxos principais. Este ciclo varia de acordo com o local em que a colméia está inserida (ibid).

O Brasil, pelas suas dimensões continentais, possui uma diversificação climática bem ampla, influenciada pela sua configuração geográfica, sua significativa extensão costeira, seu relevo e a dinâmica das massas de ar sobre o território. Este último fator assume grande importância, pois atua diretamente sobre as temperaturas e os índices pluviométricos nas diferentes regiões do país (BRANCO, 1994). Com isto, as abelhas podem ser capazes de coletar quase o ano todo, mas também pode haver um período severo de falta de alimento, em decorrência de períodos de seca, chuvas de monção ou calor extremo. Em geral, o verão (dezembro - março) é a época de colheita do mel, no qual grandes variedades de plantas fornecem um fluxo contínuo por vários meses. Os períodos úmidos são de escassez, mas é caracterizado por um período curto, apenas três meses durante o ano, nesta estação, a colônia encontra-se em déficit, consumindo mais do que coletando (CRANE, 1983).

### 2.3 CENÁRIO APÍCOLA BRASILEIRO

Atualmente, a apicultura nacional vive um período indubitável de crescimento em todas as regiões do país, inclusive na diversificação da exploração dos produtos apícolas. Figurando no mercado apícola internacional como exportador de mel e própolis (CBA, 2009).

Esta situação é resultado de transformações significativas que o cenário apícola brasileiro vem passando, deixando de ser artesanal e voltada apenas para o mercado interno, para tornar-se empresarial. Outro fator de relevância são os significativos avanços tecnológicos, tornando o mercado produtivo e competitivo. O processo de profissionalização da atividade ocorreu apenas nos últimos anos, mais

precisamente a partir de 2001, devido a problemas sanitários nos apiários da China e Argentina, que na ocasião destacavam-se como os maiores produtores mundiais (SEBRAE/CE, 2005).

O embargo do mel da China ocorreu em 2001 pela União Européia, que suspendeu as importações, o que gerou uma situação atípica no mercado mundial, caracterizada pela elevação dos preços internacionais do produto, que ultrapassou a barreira dos U\$2,00/Kg. Neste mesmo momento, a economia brasileira atravessou um período de intensa desvalorização do real frente ao dólar, e exportar passou a ser uma ótima opção para o setor. Diante deste cenário, o mercado interno se viu pressionado e o mel, que era vendido pelos produtores por R\$1,60, passou a ser comercializado por R\$7,00/Kg. A apicultura brasileira chega, dessa forma, à era da exportação e o panorama da economia apícola muda drasticamente. Então, os apicultores brasileiros experimentaram, com sucesso, a exportação de seus produtos e passaram a aplicar técnicas mais apuradas de trato com as abelhas e manipulação do mel (GONDIM, 2006). A legislação também foi aperfeiçoada através da Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, que estabeleceu novos critérios de identidade e qualidade do mel, bem como suas metodologias de análise (BRASIL, 2000).

Com a alta demanda internacional do produto e o preço favorável à exportação, grande parte do mel brasileiro, nos últimos anos, foi direcionada para o mercado externo (GONDIM, 2006).

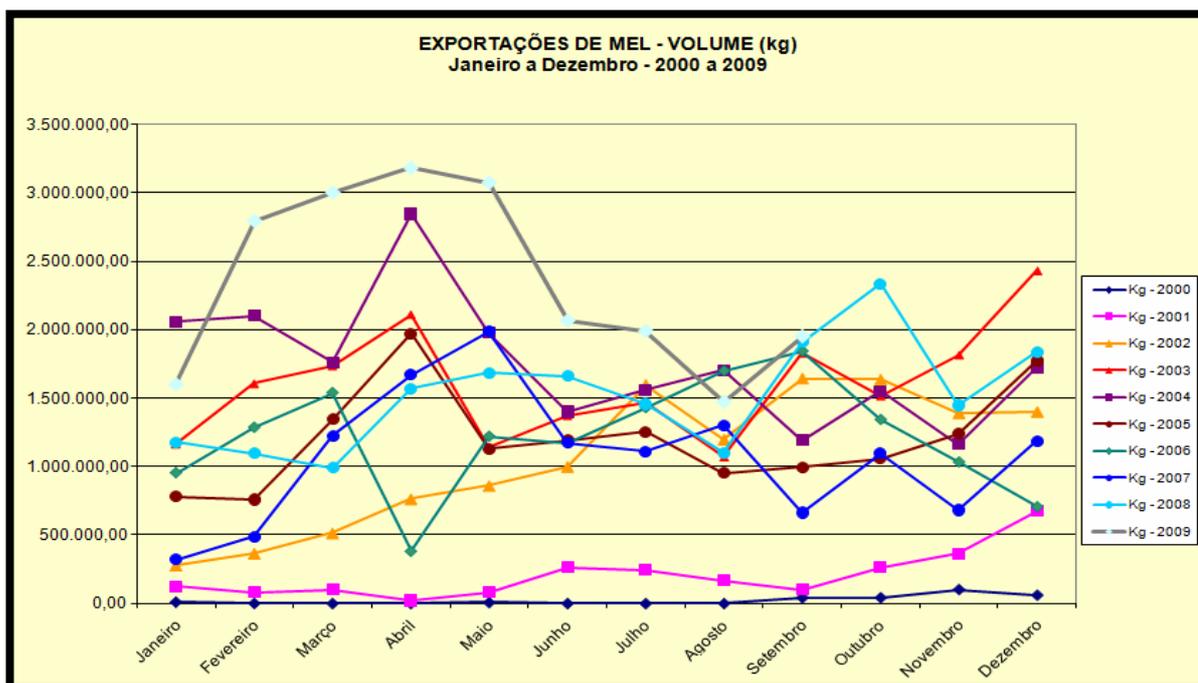
Em 2005, a China retomou a comercialização com a União Européia e a oferta de mel se normalizou no mercado internacional. Com isso, o preço voltou ao patamar de U\$1,00 (um dólar) por quilograma. Nesse mesmo período, ocorreu à valorização do real frente ao dólar, e o câmbio passou a desfavorecer as exportações (SEBRAE/CE, 2005).

Mais recentemente, ocorreu o embargo europeu ao mel brasileiro, pelo não cumprimento de prazos na implantação do Programa Nacional de Controle de Resíduos. O embargo teve seu fim em 2008, neste período o Brasil buscou outros destinos para comercializar o produto. Apesar da crise econômica, os Estados Unidos foram o principal destino das exportações brasileiras em 2008. O país respondeu por 73,1% do total comercializado, com uma receita de US\$ 31,84 milhões, ao preço de US\$ 2,32 por quilo de mel (CBA, 2009).

Com a Alemanha, o Brasil comercializou US\$ 7,188 milhões, ou seja, 16,5% das exportações, a um preço de US\$ 2,66 por quilo, bem acima da média geral. O terceiro mercado comprador do mel brasileiro foi o Canadá, que respondeu por 5,3% das vendas (US\$ 2,308 milhões), com um preço médio de US\$ 2,57 por quilo de mel (ibid).

O ano de 2008, mesmo cheio de desafios para o setor apícola brasileiro, terminou com valores positivos e preço recorde. O setor dobrou o valor das exportações, alcançando US\$ 43,57 milhões, e aumentou em 42% (18,27 mil toneladas) o volume negociado com o exterior em relação a 2007, quando foram comercializadas 12,9 mil toneladas, com faturamento de US\$ 21,2 milhões. O maior aumento nos valores exportados, quando comparado com as quantidades, se deve ao fato do preço médio obtido pelo mel brasileiro em 2008 (US\$ 2,83 por quilo) ter sido o mais alto da história das exportações brasileiras. Esse preço superou os US\$ 1,64 por quilo pago pelo produto em 2007, bem como quebrou o recorde do ano de 2003, que foi de US\$ 2,36 por quilo, conforme divulgado pelo Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior, da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX) do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (SECEX, 2009).

Com isto, apicultura no país cresceu 65% nos últimos nove anos, sendo uma considerável parcela desta produção comercializada no mercado internacional, justificada pelo fato de que as exportações apresentaram um aumento de 78,6% neste mesmo período, conforme exposto na figura 1. As vendas externas de mel se concentram basicamente no estado de São Paulo, nos estados do nordeste, com destaque para o Ceará, e do sul, sendo que São Paulo lidera as exportações de mel por sete anos consecutivos, segundo divulgado pela Associação Brasileira de Exportadores de Mel (ABEMEL, 2009), tendo com referência o Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior, da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX) do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Esta nova realidade apícola exige adequações de pontos do sistema produtivo, para que sejam atendidos os requisitos dos mercados importadores. A não adequação da apicultura brasileira aos parâmetros de qualidade e produtividade pode comprometer seriamente a sustentabilidade da atividade no País.



**Figura1.** Gráfico demonstrativo do volume de mel exportado no período de 2000 a 2009. Fonte: CBA (2009).

Outro aspecto que influencia consideravelmente a economia do setor apícola são os sistemas de união entre pequenos produtores. Muitas vezes, os produtores se organizam em associações e cooperativas, devido à necessidade de concentrar a produção, e assim obter melhores condições visando tornar a negociação interessante para os mesmos e para os compradores. Desta maneira, as associações podem exigir melhores condições de preço e formas de pagamento (DESER, 2005).

A apicultura tem se sobressaído como uma atividade de benefícios sociais, econômico e ecológico. Em todo o país, milhares de empregos são gerados nos serviços de manejo das abelhas, fabricação e comércio de equipamentos, beneficiamento dos produtos e polinização de culturas agrícolas. Neste sentido, o Brasil é detentor de características especiais de flora e clima que, aliados à rusticidade da abelha africanizada, lhe conferem um potencial fabuloso para a atividade apícola (SEBRAE, 2006). Argumento reforçado, principalmente, porque a composição química de qualquer grupo de mel dependerá em grande parte da mistura de flores consumida pelas abelhas que produziram (SERRANO et al., 1994; CAMPOS, 2000).

Para o fortalecimento do setor apícola no Brasil, é necessário o estímulo à competitividade para que se insira no mercado produtos de maior valor agregado, credenciando-o a uma disputa de mercados diferenciados. Para se atingir este objetivo, é indispensável o aumento da produtividade da apicultura nacional, atualmente em torno de 20kg/ano por caixa, para níveis médios de 50kg/ano (apicultura fixa), um patamar que só poderá ser efetivamente alcançado com a introdução de tecnologias como a alimentação das colméias, manejo de quadros, produção e substituição de rainhas, dentre outras ações corretivas (VIEIRA; RESENDE, 2006).

Evidentemente, existem avanços no intercâmbio de informações, idéias e experiências, na qual a heterogeneidade do grupo pode agregar certo acúmulo de conhecimento, pois o conjunto de experiências, tanto positivas quanto negativas, vivenciadas serve de referência para novas tomadas de decisões. Porém, o inegável desconhecimento na área dificulta a atuação destas organizações familiares, evidenciando a ausência de entendimentos dos fatores que determinam os resultados econômicos, financeiros e técnicos, em especial em relação aos estudos de mercado, processos tecnológicos e até os modos de organização (GONÇALVES, 2000).

## 2.4 CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DOS MUNICÍPIOS DE BARRA MANSA, NOVA FRIBURGO E TERESÓPOLIS

### 2.4.1 Barra Mansa

O município de Barra Mansa está localizado na região Sudeste do Brasil, no Sul fluminense do Estado do Rio de Janeiro, às margens do Rio Paraíba do Sul, na região fluminense do Médio Vale do Paraíba, entre as Serras do Mar e da Mantiqueira. Os municípios limítrofes são ao Norte, Valença e Quatis; ao Sul, Rio Claro, Piraí e Bananal (SP); ao Leste, Volta Redonda, Barra do Piraí e Piraí; e a Oeste, Resende, Quatis e Porto Real. Possui uma população estimada, em 2006, de 176.151 habitantes, formando uma conurbação com as cidades de Volta Redonda e Pinheiral, com uma população de mais de 450 mil habitantes. O local conta com um clima mesotérmico, com verões quentes e chuvosos e inverno seco. A umidade

relativa do ar é de 77% e a temperatura média mínima anual é de 16°C e a média máxima é de 28°C. O período de chuvas está entre os meses de novembro e março, com pluviosidade de 1.380 mm/ano (PMBM, 2009).

Vale ressaltar que Barra Mansa possui um parque industrial forte e diversificado, contando com grandes companhias siderúrgicas e indústrias químicas, e ainda vem apresentando crescimento expressivo das micro e pequenas empresas, que são responsáveis por 60% dos empregos nesta área (MACEDO, 2008). Destaca-se ainda, a presença da maior usina siderúrgica da América Latina (CSN) e uma das maiores do mundo, que se localiza à margem do município, na cidade de Volta Redonda (PMBM, 2009). Esta usina foi criada em 9 de abril de 1941 e esta atuante na região.

#### **2.4.2 Nova Friburgo**

O município de Nova Friburgo, apesar da grande tradição industrial trazida pela imigração alemã desde o final do século XIX, desde 1990 tem experimentado um lento crescimento econômico, principalmente no setor industrial e, a partir de 2004, vem se recuperando expressivamente. Esse período foi marcado em todo país pela abertura do mercado interno às importações. As principais indústrias do município pertencem ao setor têxtil, seguido pelo setor metalúrgico. Entretanto, o setor agrícola também responde por uma fatia considerável de sua receita. A maior parte do PIB deriva-se do setor dos serviços, seguido pela indústria e a agricultura. A região desponta como a segunda maior produtora de flores do Brasil, sendo superada apenas por Holambra, em São Paulo (PMNF, 2009).

Face a este quadro, a apicultura tornou-se uma alternativa de renda para pequenos produtores, principalmente por esta microrregião ser favorável para exploração desta atividade (MASSON, 1984).

### 2.4.3 Teresópolis

O município de Teresópolis está localizado na região sudeste do Brasil, na região serrana do Rio de Janeiro. Dispõe de uma área de 771km<sup>2</sup>, a uma altitude de 871metros. A cidade é cercada por matas e por formações montanhosas bastante conhecidas, como o Dedo de Deus, Pedra do Sino, Agulha do Diabo, Pedra da Tartaruga e Mulher de Pedra. Por estas estruturas, Teresópolis é considerada a capital nacional do montanhismo. Estando voltada principalmente para o turismo e produção agrícola, faz parte do cinturão verde do Rio de Janeiro, região responsável pela produção da maior parte dos hortigranjeiros consumidos no estado. É reconhecida a importância das hortaliças produzidas no local, ocupando o posto de maior produtor do estado, chegando a produzir cerca de 90% do total produtivo da região (TERESÓPOLIS, 2008).

A cidade dispõe de um clima tropical de altitude, com temperatura média anual de 18°C, com períodos de chuva entre os meses de novembro e fevereiro, com pluviosidade média de 900 mm/ano (ibid).

## 2.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUALIDADE DO MEL

A utilização de métodos físico-químicos visando uma análise detalhada do mel, para fins de sua caracterização, vem contribuindo para o conhecimento e melhor aproveitamento do produto. No Brasil, podemos destacar alguns trabalhos desenvolvidos por Azeredo et al. (1999); Rossi et al. (1999); Leal et al. (2001); Barth et al. (2005), Souza et al. (2009), no qual caracterizam através de análises físico-químicas, méis de diferentes regiões do Brasil. Tais procedimentos se tornaram de grande importância nos últimos anos e o mesmo vem sendo desenvolvido em diferentes países.

As análises físico-químicas contribuem para um controle de qualidade e para fiscalização, tanto para produtos importados, quanto para os produzidos internamente. Os resultados são comparados com padrões citados por órgãos oficiais internacionais, ou com estabelecidos pelo próprio país, protegendo o consumidor de adquirir um produto adulterado (MARCHINI, 1998). A obtenção de parâmetros físico-químicos em amostras de méis é importante para sua

caracterização, como também é primordial para garantir a qualidade deste produto no mercado (CARVALHO et al., 2003).

Métodos físico-químicos para análises de mel são rotineiramente utilizados em laboratórios de qualidade, fiscalização e de pesquisa em todas as partes do mundo. Através da avaliação físico-química de amostras de méis, é possível fornecer informações sobre as características típicas de cada florada e região, bem como das práticas de apicultura adotadas. Além disso, a citada avaliação pode determinar os graus de maturidade, pureza e deterioração (LEGLER, 2000).

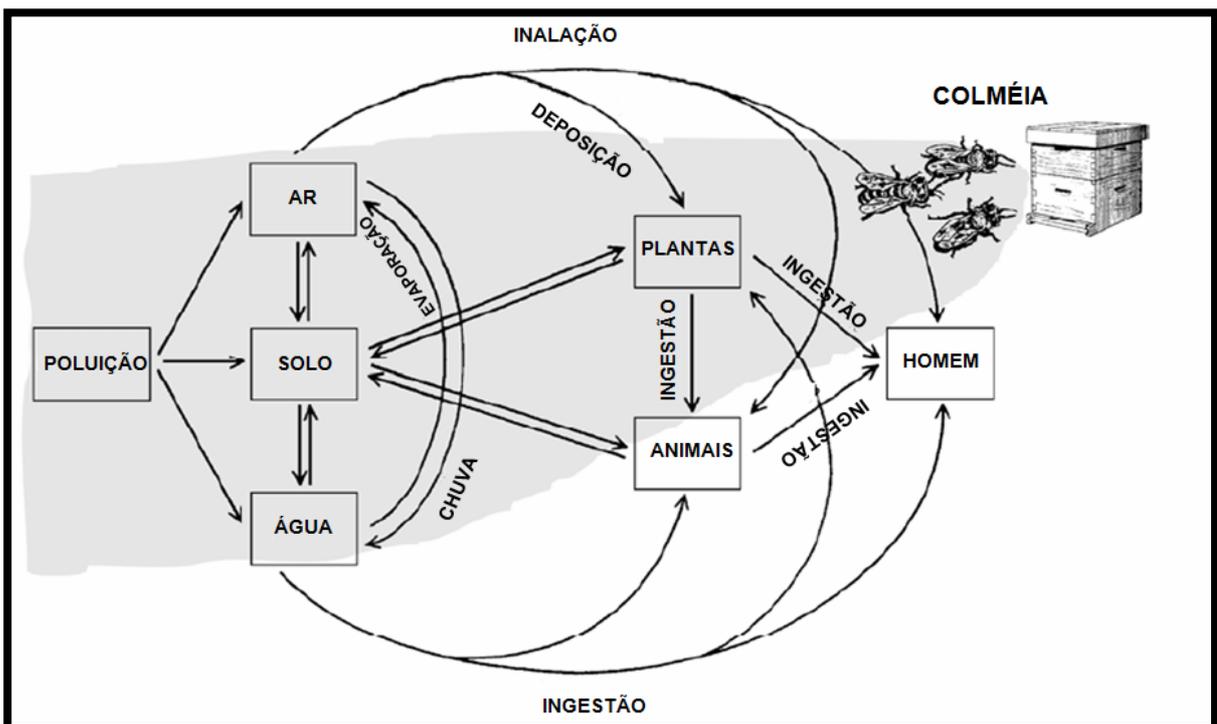
## 2.6 CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS POR METAIS TRAÇO

O setor apícola do Brasil desfruta de uma cômoda situação devido à valorização de seus produtos, principalmente por possuir uma apicultura livre de aplicações de produtos químicos, bem distribuída em todo território nacional, sendo capaz de gerar grandes produções com tarifas bastante competitivas. Entretanto, existe um grande desafio para apicultura brasileira que é assegurar aos consumidores a comprovação da qualidade dos seus produtos e conseguir aumentar a produtividade de forma a reduzir ainda mais os custos de produção, para se ter maior competitividade no mercado. Esta nova realidade apícola exige adequações de pontos do sistema produtivo, para que sejam atendidos os requisitos dos mercados importadores. A não adequação da apicultura brasileira aos parâmetros de qualidade e produtividade pode comprometer seriamente a sustentabilidade da atividade no País (SOUZA, 2006).

Boa parte desta preocupação ocorre, pois produtos apícolas passam pelo processo de bioacumulação, sendo muito útil para a reunião de informações relacionadas com o ambiente onde vivem as abelhas. Contudo, produtos apícolas, atualmente, são produzidos em ambientes muitas vezes inóspitos, estando sujeito a diferentes fontes de contaminação, fato este relevante, pois abelhas operárias fazem viagens exploratórias em um raio de sete quilômetros da área que cercam seu "habitat", recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores (BOGDANOV, 2006; RISSATO et al., 2006). Com isto, quase todos os setores ambientais, como, solo, vegetação, água e ar, são explorados pelas abelhas produtoras de mel, fornecendo numerosos indicadores biológicos que variam de acordo com as diferentes estações do ano (PORRINI et al., 2003). Durante este processo, diversos microrganismos,

produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e podem ficar armazenados na superfície do seu corpo e serem depositados na colméia junto com o pólen, ou ainda podem ser absorvidos juntamente com o néctar das flores, ou ingeridos através da água. Em geral, o mel pode ser contaminado de forma involuntária pelo próprio ambiente ou ainda por práticas apícolas (BOGDANOV et al., 2003). Por estas considerações, uma série de variáveis deve ser considerada quando se usa abelhas ou produtos apícolas, como o mel, para monitorar metais traço no meio ambiente, tais como clima, a época do ano e a origem botânica do mel (BOGDANOV, 2006).

Porrini et al. (2003), relatam ter pesquisado o uso do mel de abelhas como bioindicadores de pesticidas, metais traço e radionuclídeos em regiões da Itália, por um período aproximado de 20 anos. Com auxílio dos estudos realizados neste período, os autores observaram a forma de propagação dos poluentes no meio ambiente, conforme pode ser observado na figura 2.



**Figura 2.** Gráfico adaptado da superfície de propagação de substância poluentes no meio ambiente. A área acinzentada caracteriza os setores do ambiente visitado pelas abelhas. Fonte: PORRINI et al. (2003), com modificações.

Pautado neste acontecimento, as abelhas e seus produtos podem ser usados como bioindicadores para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos. Desta forma, a concentração de metais traço nos

derivados apícolas reflete o perfil de metais em toda a região visitada, sendo reconhecidamente, excelentes indicadores ecológicos, o que pode ser útil na avaliação do grau de contaminação de um ambiente. Com isso, a determinação de metais traço é de grande interesse principalmente para o controle de qualidade dos produtos apícolas, pois altos níveis de metais são indesejáveis devido à sua toxicidade conhecida ou suposta, como, por exemplo, o chumbo, que em alguns países tem seu limite máximo estabelecido em  $1\text{mg.kg}^{-1}$  (BOGDANOV et al., 2003).

No entanto, como citado anteriormente, é preciso ponderar, pois os produtos apícolas podem ser contaminados por práticas apícolas inadequadas ou através do ambiente (BOGDANOV et al., 2003). No caso de práticas apícolas indevidas, pode-se ressaltar que alguns apicultores ainda utilizam colméias pintadas com tinta à base de óleo e retiram própolis que recobre a colméia, favorecendo a contaminação dos produtos por metais traço, originados deste tipo de tinta (BASTOS; MAGALHÃES, 2008). Outra prática ainda muito empregada é a utilização de produtos metálicos (pregos, dobradiças e parafusos) na confecção de colméias feitas de caixa de madeira (CONTI; BOTRÈ, 2001). Estes métodos empregados podem influenciar diretamente na qualidade do mel.

Na ocorrência de contaminações provenientes do ambiente, é importante salientar que as atividades humanas podem aumentar consideravelmente o nível de metais que circulam no ambiente. A poluição da biosfera por metais traço foi acelerada rapidamente desde o início da revolução industrial e a toxicidade destes metais pode gerar graves problemas ambientais (CELLI; MACCAGNANI, 2003).

Atualmente, múltiplos bioindicadores vêm sendo utilizados por vários autores, que propõem técnicas distintas de detecção e avaliação de contaminantes ambientais, e este interesse vem aumentando durante os últimos anos. No entanto, para que se obtenha um resultado final fidedigno, é necessário que haja uma seleção adequada de um organismo como bioindicador, representando assim, um ponto crítico no biomonitoramento da atividade global (CONTI; BOTRÈ, 2001). No que diz respeito à biomonitorização de poluição atmosférica, as abelhas (*Apis mellifera*) tem sido objeto de diversas investigações. Segundo BOGDANOV et al. (2003), as abelhas podem ser consideradas um "bioindicador ideal", pois são continuamente expostos a contaminantes presentes na área em torno do apiário. Além deste fato, é de extrema relevância considerar que é possível obter uma adequada quantidade de material biológico, oriundo das abelhas e seus produtos,

que podem ser facilmente recolhidos e analisados durante todo o ano (CRANE, 1979).

## 2.7 DADOS TOXICOLÓGICOS DOS METAIS

Os metais podem ser classificados de três formas distintas. Metais como sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio, são denominados como elementos essenciais, pois são necessários ao metabolismo biológico dos organismos vivos, entretanto em nível traço, na ordem de miligrama (ULUOZLU et al., 2007). Por outro lado, os metais arsênico, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio, são classificados como micro-contaminantes ambientais, tóxicos, ou ainda como não essenciais, pois não são necessários ao organismo em nenhuma quantidade. O cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel são nomeados de elementos essenciais e simultaneamente microcontaminantes, pois são necessários ao organismo, porém em níveis ultratraço, na ordem de micrograma-nanograma, entretanto se estes níveis forem ultrapassados estes metais podem se tornar potencialmente tóxicos. Já metais como mercúrio, chumbo, arsênico, entre outros, não são necessários aos organismos, sendo classificados como tóxicos (OGA et a., 2008).

Os metais tóxicos podem ser altamente prejudiciais a saúde dos animais mesmo em concentrações reduzidas e os metais essenciais também podem produzir efeitos tóxicos quando em excesso (CELIK; OEHLENSCHLAGER, 2007). No entanto, ressalta-se que a faixa de concentração que preenche os requisitos biológicos necessários dos metais essenciais e a faixa de concentração na qual estes metais possuem efeito tóxico, são bem próximas (LIMA; PEDROZO, 2001a).

A literatura relata a presença de diversos minerais no mel de abelhas, os principais estão expostos no quadro 1 e, conforme é possível observar, estes elementos estão presentes em pequenas quantidades, entretanto são essenciais ao bom funcionamento do organismo humano.

**Quadro 1.** Teor dos principais minerais encontrados no mel

<b>Minerais</b>	<b>Média em 100g de MEL</b>
Cálcio	4,4 – 9,20 mg
Cobre	0,0003 – 0,10 mg
Ferro	0,06 – 1,5 mg
Magnésio	1,2 – 3,5 mg
Manganês	0,02 – 0,4 mg
Fósforo	1,9 – 6,38 mg
Potássio	13,2 – 16,8 mg
Sódio	0,0 – 7,60 mg

Fonte: WIESE (2000)

### 2.7.1 Bromo

O bromo não é encontrado em estado elementar na natureza, mas existe em abundância na forma de sais de bromo na água do mar e dela é obtido a reação com cloro (FRANCO,1999).

Este metal é bastante nocivo tanto no estado líquido como no gasoso. Como líquido ataca a pele provocando fortes irritações ou mesmo necroses. A exposição a vapores de bromo causa uma dolorosa irritação dos olhos bem como a inflamação do sistema respiratório. A concentração máxima permitida, numa exposição de oito horas, é de apenas  $1\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . As fábricas que produzam ou utilizem bromo devem ter cuidados especiais de segurança e uma boa ventilação (CDCC-USP, 2009).

Este elemento é encontrado em níveis traço em humanos. É considerado um elemento químico essencial, entretanto ainda não se conhece exatamente as funções que realiza. Muitos compostos de bromo têm uma ação fisiológica importante e, devido a esta característica, vem sendo utilizado como sedativos, anestésicos ou anti-sépticos (FRANCO,1999).

O bromo molecular é empregado na fabricação de uma ampla variedade de compostos de bromo, usados na indústria e na agricultura. Tradicionalmente, a maior aplicação do bromo tem sido para a produção de 1,2-dibromoetano, que é usado como aditivo em gasolina, que tem como antidetonante o tetraetil de chumbo (INFOPÉDIA, 2009).

O bromo é empregado na fabricação de produtos de pulverização, agentes não inflamáveis, produtos para a purificação de águas, corantes, brometos empregados em fotografia (brometo de prata,  $\text{AgBr}$ ), desinfetantes, inseticidas e outros (ibid).

### 2.7.2 Cobre

O cobre é um dos poucos metais que ocorrem na natureza em estado puro. Na antiguidade era considerado precioso, embora de menor valor que o ouro e a prata. A simplicidade de seu tratamento metalúrgico permitiu uma produção elevada, sendo utilizado antes do quarto milênio anterior à era cristã. Desde então, sofreu progressivas desvalorizações, até que a telefonia e a eletricidade restabelecessem seu consumo, no início do século XX (FRANCO, 1999).

O cobre é amplamente distribuído na natureza no estado elementar, como sulfetos, arsenitos, fios condutores, galvanoplastia, utensílios, tubulações, inseticidas, algicidas, conservantes de madeiras, baterias, pigmentos, entre outros (GUNTHER, 1998).

É um metal traço essencial para diversas funções orgânicas, sendo utilizado como co-fator de diversas enzimas celulares (LIMA; PEDROZO, 2001a). Por outro lado, o excesso deste elemento pode desenvolver doenças e toxicidade (CHAN et al., 1998). A ingestão diária recomendada pela legislação brasileira para adultos é de 900µg (BRASIL, 2005). Para adultos saudáveis e não ocupacionalmente expostos ao cobre, a principal via de introdução do cobre é oral. A intoxicação crônica em humanos não é freqüente em seres humanos e está geralmente associada a casos de ingestão acidentais (LIMA; PEDROZO, 2001a).

Os relatos de intoxicações crônicas em humanos estão relacionados com o curso da intoxicação aguda pelo sulfato de cobre, após ingestão com fins suicidas. A água é uma importante fonte de exposição a este metal, principalmente em residências na qual as tubulações são feitas com cobre. As concentrações de cobre em alimentos em geral, variam de 0,2 a 44 µg.g<sup>-1</sup> de peso seco (LIMA; PEDROZO, 2001a).

### 2.7.3 Cromo

O cromo é encontrado na natureza em diversas combinações com outras substâncias e pode existir sob diferentes formas de oxidação, apresentando-se na forma de íons com valência +2, +3 ou +6 (MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006). O cromo trivalente (Cr<sup>3+</sup>) é o mais estável, sendo a forma mais importante para

manutenção da saúde humana, essencial para o metabolismo. A transformação do cromo inorgânico numa forma biologicamente ativa é indispensável para suas funções biológicas. A forma hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) é potencialmente tóxica, pois é carcinogênica e mutagênica (PAUSTENBACH et al., 2003). Sendo assim, a presença de altas concentrações da forma hexavalente no ambiente, principalmente de fontes antrópicas, é nociva à saúde (MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006).

Atualmente, o cromo como metal é muito utilizado para revestimento, devido a sua notável resistência a corrosão e ao elevado poder protetor de suas camadas, sendo amplamente empregado em ligas metálicas ácido-resistentes, tintas anti-corrosivas, em operações de cromagem (ácido crômico) e na impregnação de madeira (OGA et al., 2008).

Como metal essencial, o cromo potencializa a ação da insulina e assim, influencia no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Assim como para outros metais essenciais, os limites normais e tóxicos de cromo, ainda não são muito bem definidos para a maioria dos seres vivos, estes níveis têm se mostrado bastante variados para diferentes espécies (PROCHNOW et al., 2005).

Com relação à absorção, sabe-se que cerca de 0,5 a 2% do cromo ingerido é absorvido pelo trato gastrointestinal. A forma hexavalente é a forma de cromo de maior importância biológica, podendo ser absorvida por ingestão, além de inalação e contato (FRANCO, 1999). Muniz e Oliveira-Filho, em 2006, demonstram que doses acima de  $10 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de cromo hexavalente na dieta afetam o trato gastrointestinal, os rins e o sistema hematológico.

Os efeitos tóxicos do cromo trivalente foram relatados somente pela administração parenteral. Na intoxicação aguda por via oral, que geralmente é acidental, ocorrem vômitos e diarreias, com hemorragias no trato gastrointestinal provocadas pela ação cáustica do cromo. A intoxicação crônica tem grande importância ocupacional, estando relacionada ao contato e a inalação, produzindo sintomas como dermatites, conjuntivite e alterações no sistema respiratório incluindo câncer pulmonar (LARINI, 1997). Há evidências da ação tóxica do cromo hexavalente causando danos ao material genético, podendo levar a má formação fetal, problemas reprodutivos e câncer (SILVA, 2003).

#### 2.7.4 Ferro

O ferro é o metal mais abundante na crosta terrestre, com depósito de minérios distribuídos por todos os continentes. É amplamente utilizado industrialmente, por atividades como a metalurgia, siderurgia (fabricação de ligas metálicas, sendo o aço a mais importante liga de ferro), fabricação de ímãs, tintas, pigmentos e soldagem de metais. Este elemento é liberado para o ambiente por fontes naturais, mas as atividades antropogênicas de origem industrial são as principais responsáveis pela contaminação dos ecossistemas. O desempenho do ferro no meio ambiente, assim como a disponibilidade do mesmo para os animais, são determinadas por suas características físico-químicas e pelo estado de oxidação  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ , sendo este último, insolúvel em água (LIMA; PEDROZO, 2001a).

Este metal é encontrado em praticamente todos os seres vivos e cumpre numerosas, variadas e essenciais funções no organismo, como co-fator nas reações de transferências e conservação de energia, além de participar de vários outros processos, tais como o transporte de oxigênio e síntese de biomoléculas como a hemoglobina (SIQUEIRA et al., 2006). Entretanto, o excesso, assim como a deficiência de ferro pode levar a alterações fisiológicas (FRANCO, 1999). A disposição do ferro é regulada por um mecanismo complexo para manter a homeostase, e geralmente de 2 a 15% da dose do metal ingerida é absorvida pelo trato gastrointestinal (LIMA; PEDROZO, 2001b). Segundo indicação do Ministério da Saúde, a ingestão diária de ferro recomendadas para adultos é de 14mg (BRASIL, 2005).

#### 2.7.5 Manganês

A origem do manganês vem do latim *magnes* (ímã), devido às propriedades magnéticas do óxido, um dos principais minérios. Compostos de manganês como o dióxido são usados desde a pré-história. Acredita-se que aços produzidos por algumas civilizações em tempos remotos eram mais duros devido à presença natural de manganês no minério de ferro.

É um elemento metálico de transição, sendo que aproximadamente 90% do manganês extraído dos minérios no mundo são empregados em ligas utilizadas na fabricação de aço (MARTINS; LIMA, 2001). Entre outras aplicações industriais

destacam-se a fabricação de fósforos de segurança, pilhas secas, ligas não ferrosas, esmalte porcelanizado, fertilizantes, fungicidas, catalizadores, vidros, tintas, cerâmicas, materiais elétricos, produtos farmacêuticos, entre outros (OGA et al., 2008). Entretanto, o descarte indiscriminado de líquidos ou resíduos sólidos contendo manganês pode contribuir para contaminação do ar, do solo e da água (MARTINS; LIMA, 2001).

As cadeias alimentares não parecem ser importantes na acumulação do manganês. Existem diversas variações nas concentrações presentes nos alimentos e podem ser originadas por inúmeros fatores, tais como o nível e disponibilidade do metal no solo e na água, uso de substâncias químicas na agricultura que contaminam o ambiente (WHO, 1981).

O manganês é essencial para muitas funções biológicas, estando associado à formação de tecido conjuntivo e ósseo, auxiliando no crescimento, reprodução e metabolismo de carboidratos e lipídeos. A concentração de manganês no organismo humano tende a ser alta em tecidos ricos em mitocôndrias. Apesar de essencial, quando em níveis elevados pode causar intoxicação (FRANCO, 1999). A exposição tóxica ao manganês por via oral é menos comum, sendo a exposição ocupacional pela inalação de partículas deste metal as mais significativas (MARTINS; LIMA, 2001; OGA et al., 2008). Pela via oral, a toxicidade do manganês é limitada pela baixa absorção gastrointestinal e pela rápida eliminação. A maioria dos alimentos contém manganês em concentrações abaixo de  $5\text{mg.Kg}^{-1}$  (MARTINS; LIMA, 2001). Contudo, a exposição prolongada produz lesões nervosas, com sintomas de neurotoxicidade crônicas, com sintomas de tremores e dificuldade nos movimentos, que se assemelham ao parkinsonismo (FRANCO, 1999; OGA et al., 2008).

#### **2.7.6 Níquel**

O níquel é um metal muito usado sob a forma pura, para fazer a proteção de peças metálicas, pois oferece grande resistência à oxidação. Suas principais aplicações são em ligas ferrosas e não-ferrosas para consumo no setor industrial, em material militar, em moedas, em transporte (aeronaves), em aplicações voltadas para a construção civil e em diversos tipos de aços especiais, altamente resistentes à oxidação, como os aços inoxidáveis, bem como em ligas para o fabrico de ímãs, em ligas elétricas, magnéticas e de expansão, ligas de alta permeabilidade, ligas de

cobre-níquel, tipo níquel-45, e em outras ligas não ferrosas (SILVA, 2001). A niquelagem de peças é feita por indústrias de galvanoplastia, usando banhos de sais de níquel, sendo amplamente usado para fabricação de baterias (Ni-Cd), para confecção de produtos de petróleo, para composição de pigmentos e como catalisadores (DUARTE; PASQUAL, 2000).

Este metal é o 24º em abundância na crosta terrestre (OLIVEIRA, 2003), e o Brasil ocupa a 10ª colocação como produtor mundial de concentrado de níquel.

Em pequenas quantidades, o níquel é classificado como um elemento essencial ao desenvolvimento. Seu teor de absorção intestinal é de 10% (FRANCO, 1999). É encontrado em quantidades mensuráveis em vegetais, enquanto que quantidades desprezíveis foram detectadas em alimentos de origem animal de áreas não contaminadas (ALI et al., 1987). A exposição ocupacional tóxica por inalação é a via mais comum, através da inalação de partículas deste metal, seguido de exposição dérmica. Quando intoxicado, o indivíduo apresenta sinais característicos como a toxicidade pulmonar e gastrointestinal; o que pode gerar também sinais como hipertermia, tosse, tontura, mal-estar generalizado, vômito, náuseas, pulso rápido, colapso, além de alergias, quando por contato e alterações respiratórias, quando por inalação (BARCELOUX, 1999).

### **2.7.7 Selênio**

O selênio é encontrado bem distribuído na crosta terrestre. Está presente na maioria das rochas e solos em concentrações entre 0,1 e 2,0 mg.Kg<sup>-1</sup>. Raramente é encontrado em estado nativo, obtendo-se principalmente como subproduto da refinação do cobre. É utilizado na indústria eletrônica, de cerâmica, de aço, de vidros, de tintas e vernizes, como antioxidante de óleos e lubrificantes, como participantes de inseticidas, fungicidas e repelentes (EVANGELISTA, 1994).

Este metal é considerado como essencial para a maioria dos animais, porém em concentrações elevadas é considerado tóxico (CHATTERJEE; BHARRACHARYA, 2001). Dentre os elementos essenciais, o selênio é considerado o mais tóxico, uma vez que a diferença existente entre a dose essencial e a tóxica é muito pequena (CHAPMAN, 1999). As recomendações de consumo diário são de 34µg por dia para adultos (BRASIL, 2005). Entretanto, cuidados devem ser tomados na ingestão contínua, pois acredita-se que a ingestão prolongada de mais de 3mg

por dia seja suficiente para provocar sintomas de envenenamento (COULTATE,2004). Nos seres humanos, em excesso, exerce ação tóxica ocasionando fadiga muscular, colapso vascular, unhas fracas, queda de cabelos, dermatites, alteração do esmalte dos dentes, mucosa gástrica de coloração vermelho-tijolo, vômitos e lesões nervosas (FRANCO, 1999).

Como metal essencial, exerce diversas funções como antioxidantes e estudos vêm sugerindo que pode exercer uma função protetora contra a ação tóxica de metais traço, como o mercúrio e cádmio (SEIXAS; KERING, 2007).

As crescentes atividades antropogênicas têm aumentado a liberação e o emprego de selênio de suas fontes naturais (rochas e solos), tornando-o disponível principalmente para o meio ambiente aquático e, conseqüentemente, para o homem (ibid).

### **2.7.8 Zinco**

O zinco é o 25º elemento mais abundante na crosta terrestre, ocorrendo em minerais nas formas de sulfetos e carbonatos de zinco, de onde são extraídos, tais como a esfalerita e blenda (sulfetos), smithsonita (carbonato), hemimorfita (silicato) e franklinita (óxido). A principal forma de uso industrial do zinco é na galvanização de produtos de ferro (Fe), proporcionando uma cobertura resistente à corrosão (DUARTE; PASQUAL, 2000).

Este metal desempenha várias funções bioquímicas no organismo, sendo um elemento mineral necessário ao organismo em quantidades muito pequenas, tal como o ferro e outros minerais. Entretanto, é o microelemento intracelular mais abundante encontrado em todos os tecidos corpóreos, porém 85% do seu total estão concentrados nos músculos e ossos (KING et al., 2000). As ostras são boas fontes de zinco, sendo mesmo a melhor entre os alimentos de origem animal. Os frutos secos, leguminosas, gérmen de trigo ou sésamo igualam ou superam as carnes e queijos curados em volume nutricional de zinco.

Atua como componente de inúmeras enzimas, participando da divisão celular, expressão genética, processos fisiológicos como crescimento e desenvolvimento, transcrição genética, morte celular, age como estabilizador de estruturas, membranas e componentes celulares, e participa da função imune (MAFRA;

COZZOLINO, 2004). Porém, o fato de ser essencial, não o isenta de determinados sais de zinco possam prejudicar a vida e levar um indivíduo a morte (HEIN, 2003).

A ingestão diária recomendada para adultos é da ordem de 15mg (FRANCO, 1999). Os casos de intoxicação podem ocorrer, seja por ingestão de alimentos, por bebidas contaminadas, aspersão de poeiras e fumaças com altos teores de zinco ou contato da pele com zinco e seus sais. Doses excessivas podem causar problemas pulmonares, febre, calafrios, gastroenterites, sonolência, náuseas, desidratação e descoordenação muscular. Por outro lado, em casos de carência, poderá existir um atraso no crescimento, fraco crescimento dos testículos ou ovários e má cicatrização de feridas. Durante a gravidez e lactação, ou em casos de consumo excessivo de fibras, aumentam as necessidades de zinco (ROCHA; PEREIRA; PÁDUA, 1985).

## 2.8 PROCEDIMENTOS ANÁLITICOS UTILIZADOS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM MEL

A literatura descreve a determinação de elementos traço em mel de abelhas procedente de vários países, utilizando técnicas e métodos diversos (GOLOB; PLESTENJAK, 1999; CONTI, 2000; TERRAB et al., 2004; FERNÁNDEZ-TORRES, 2005). A composição de metais de uma determinada amostra de mel depende, em grande parte, da composição do néctar e pólen da qual se origina. Com isto, é possível a determinação da origem botânica e, possivelmente, da origem geográfica (PARAMÁS et al., 2000). Desta forma, o conteúdo elementar do mel tem sido foco de estudo, sendo determinado por diversos autores mundialmente distribuídos, que utilizam métodos distintos com a mesma finalidade, dentre os quais se destacam, a Espectrometria de absorção atômica em chama, método recentemente utilizado por Lachman et al. (2007) para caracterizar os minerais Al, B, Ca, Cu, Mg, Mn, Ni, Zn, em amostras de méis da República Checa. Esta técnica foi também empregada por Yarsan et al. (2007) para determinar Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em amostras de mel turco, devido a grande poluição local proveniente do fluxo intenso de carros; a espectrometria de absorção atômica eletrotérmica, foi eleita por Hernández et al. (2005) para determinar os componentes minerais (Fe, Cu, Zn, K, Na, Mg, Ca, Sr, Li e Rb) de mel das Ilhas Canárias; a espectroscopia no infravermelho por reflexão difusa (DRIFTS), utilizado por Bertelli et al. (2007) foi utilizada para classificar méis

italianos; a espectroscopia de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES), foi utilizada por Nalda et al. (2003) e Terrab et al.(2004) para caracterizar méis espanhóis de diferentes regiões, sendo possível determinar os minerais K, Na, Ca, Mg, P e S. Utilizando a mesma técnica, Ioannidou et al. (2005) determinaram os metais Pb, Cd, Cu, Cr, Co, Ni, Mn e Zn, em amostras de mel grego. A espectrometria com atomização eletrotérmica utilizando o peróxido de hidrogênio como um modificador de matriz, foi pesquisado por Vias et al. (1997), para determinação direta de determinados minerais no mel, e ainda a Cromatografia iônica que foi utilizada para a determinação de alguns metais traço e de transição (BULDINI et al., 2001).

No Brasil, as pesquisas relacionadas ao tema são escassas, com destaque para as pesquisa de Santos et al. (2008) em amostras de mel produzidas em três diferentes regiões climáticas do Sudoeste da Bahia, Brasil (semi-árido, Mata Atlântica e Zona de Transição Climática), no qual os metais foram determinados por espectrometria de absorção atômica; e para o estudo de Sodr e et al. (2007) em m eis provenientes do estado do Piau i, no qual a técnica utilizada foi a fluorescência de raio-X com reflexão total (TXRF). Este método foi adotado anteriormente por Golob et al. (2005), que estudaram os elementos traços presentes em m eis eslovenos. Segundo os autores, o método utilizado mostrou-se adequado, principalmente devido   simplicidade de execu o e a possibilidade de realiza o de uma técnica multielementar de fácil determina o. Posteriormente, dando continuidade a este estudo, Necemer et al. (2009) publicaram um trabalho sobre a origem botânica de vários tipos de mel produzido na Eslov nia, com base nas análises de teor de minerais, utilizando a técnica supracitada.

A análise por Fluorescência de Raios-X (X Ray Fluorescence – XRF)   um método quali-quantitativo baseado na medida das intensidades (número de raios X detectados por unidade de tempo) dos raios X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra, quando devidamente excitada (NASCIMENTO FILHO, 1999). Os raios X emitidos por tubos de raios X, ou gama, por uma fonte radioativa, podendo ser utilizados na excita o dos elementos, os quais, por sua vez, emitirão linhas espectrais com energias características e cujas intensidades estão relacionadas com sua concentra o na amostra (MORAES, 2004).

A Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (Total Reflection X-Ray Fluorescence -TXRF)   uma metodologia analítica utilizada para medidas na qual há

necessidade de melhores níveis de detecção. Nesta técnica, a incidência efetuada em um ângulo que permite níveis de detecção da ordem de partes por bilhão (ppb) ou nanograma. Este método vem sendo utilizado para determinação de elementos traço em diversas áreas da ciência e da tecnologia (SIMABUCO, 2000), principalmente, por possuir características importantes como: detecção simultânea de vários elementos, baixo limite de detecção, pouco tempo de medição e utilização de diminutas quantidades de amostra, da ordem de  $\mu\text{L}$  em amostras líquidas (MISTRA; SINGH MUDHER, 2002). Entretanto, a extração dos metais é ainda uma das etapas mais críticas durante a análise do mel. Basicamente, a extração deve ser feita de tal maneira que os elementos devem ser separados da matriz sem que haja perda, contaminação ou alteração e com o mínimo de interferência. Isto pode ser alcançado através de diferentes métodos, podendo-se destacar a extração ácida, após calcinação, procedimento este mais comumente utilizado para extrair metais das amostras de mel (LILL et al., 1999). Segundo Khuder et al. (2009), este método oferece diversas vantagens, sendo a principal uma melhorar a sensibilidade do método de Fluorescência de Raio-X. Conforme salientado pelos autores, o método de redução a cinzas se mostrou bem adequado para a determinação dos elementos, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb e Sr em uma escala relativamente ampla de concentrações e com limites de determinação variando de  $3,4\text{mg.g}^{-1}$  para  $0,007\text{g.g}^{-1}$ . Outras melhorias provenientes do método supracitado foram obtidas utilizando a excitação dos elementos com o número atômico de 19 a 25 por raios X, no qual, os limites de determinação foram maiores do que  $0,225\text{mg.g}^{-1}$  (ibid).

## 2.9 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE ELEMENTOS TRAÇO EM ALIMENTOS

No Brasil, o Decreto Nº 55.871, de 26 de março de 1965 do Ministério da Saúde (MS), estabelece a concentração máxima permitida para contaminantes inorgânicos em alimentos (BRASIL, 1965). Considerando a necessidade de atualização, algumas resoluções foram instituídas após esta data com intuito de alterar determinados pontos do Decreto original, tais como a Portaria nº11, de 15/05/87 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária – MS, que determina o limite máximo de tolerância de Cromo no produto a ser consumido que não representa risco a saúde (BRASIL, 1987); e a Portaria nº685 de 27/08/98 que institui os

princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos (BRASIL, 1998). Estas atualizações vêm ao encontro da necessidade de constante aprimoramento das ações de controle sanitário na área de alimentos visando à proteção a saúde da população, sendo indispensável o estabelecimento de regulamentos técnicos sobre contaminantes em alimentos, com intuito de minimizar os riscos à saúde humana.

Mais recentemente, em decorrência dos fatos ocorridos no mundo em relação à presença de remanescentes residuais nos alimentos, do uso de pesticidas e drogas veterinárias, ou por acidentes envolvendo contaminantes ambientais, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), editou o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal, disposto na Instrução Normativa nº42, de 20 de dezembro de 1999 (BRASIL, 1999). Entretanto, este Regulamento vem passando por alterações técnicas complementares para melhor se adequar as reais necessidades de garantir o bem-estar do consumidor, com isto foi aprovado os Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado, para o exercício de 2009, na forma dos Anexos à Instrução Normativa nº14, de maio de 2009. Consta, neste documento, o anexo IV, que consiste no Programa de Controle de Resíduos e Contaminantes em Mel (BRASIL, 2009).

A concentração máxima permitida de metais em méis de abelhas pelas Legislações supracitadas estão expostas no quadro 2.

**Quadro 2.** Concentração máxima permitida pela Legislação Brasileira para alguns metais em mel.

ELEMENTOS	CONCENTRAÇÃO MÁXIMA PERMITIDA ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )			
	Dec. 55871/65	Port. 11/87	Port. 685/98	IN 14/09
Arsênio (As)	1,0	ND	1,0	0,5
Cádmio (Cd)	1,0	ND	ND	0,5
Chumbo (Pb)	0,8	ND	ND	0,5
Cobre (Cu)	30,0	ND	10,0	ND
Cromo (Cr)	0,1	0,1	ND	ND
Mercúrio (Hg)	0,01	ND	ND	0,5
Níquel (Ni)	5,0	ND	ND	ND
Selênio (Se)	0,05	ND	ND	ND
Zinco (Zn)	50	ND	ND	ND

Dec. 55871/65 - Decreto nº55871/65 (BRASIL, 1965)

Port. 11/87 - Portaria nº11/87 (BRASIL, 1987)

Port. 685/98 - Portaria nº685/98 (BRASIL, 1998)

IN 14/09 - Instrução Normativa nº14/09 (BRASIL, 2009)

ND = Não definido pela Legislação

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 METODOLOGIA**

##### **3.1.1 Amostras**

Durante o período de maio de 2008 a junho de 2009, foram obtidas 160 amostras de méis, coletadas diretamente de quatro apiários distintos localizados no estado do Rio de Janeiro (Nova Friburgo – região sul; Nova Friburgo – região norte; Teresópolis e Barra Mansa). A obtenção das amostras foi dividida da seguinte forma: dez amostras de mel, por coleta, nos quatro diferentes apiários (Figura 3), obtidas nas quatro estações do ano.



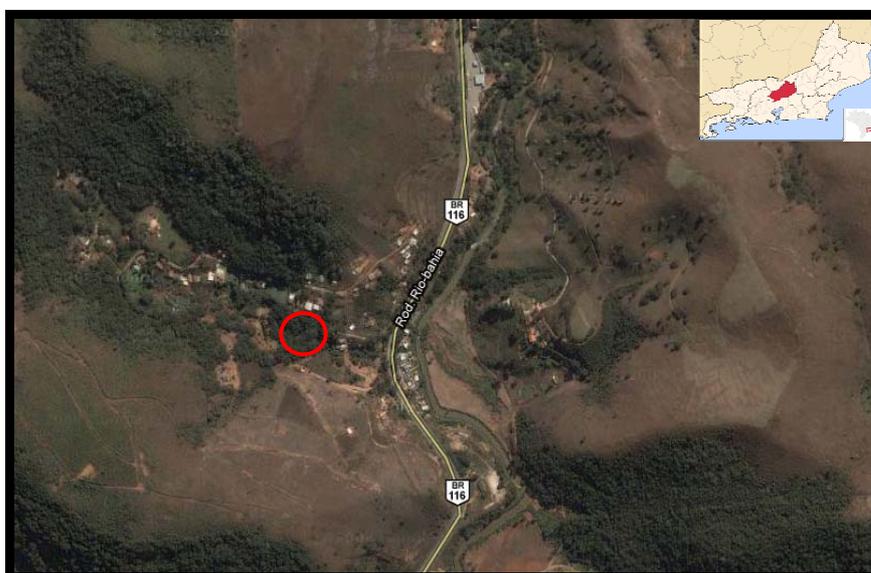
**Figura 3.** Colméias onde foram coletadas as amostras de Barra Mansa/RJ.

Os méis coletados foram beneficiados em estabelecimentos locais e as amostras foram imediatamente acondicionadas em potes assépticos de 300mL, devidamente identificados e encaminhadas para o Laboratório de Controle Físico Químico de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF), para o preparo das amostras.

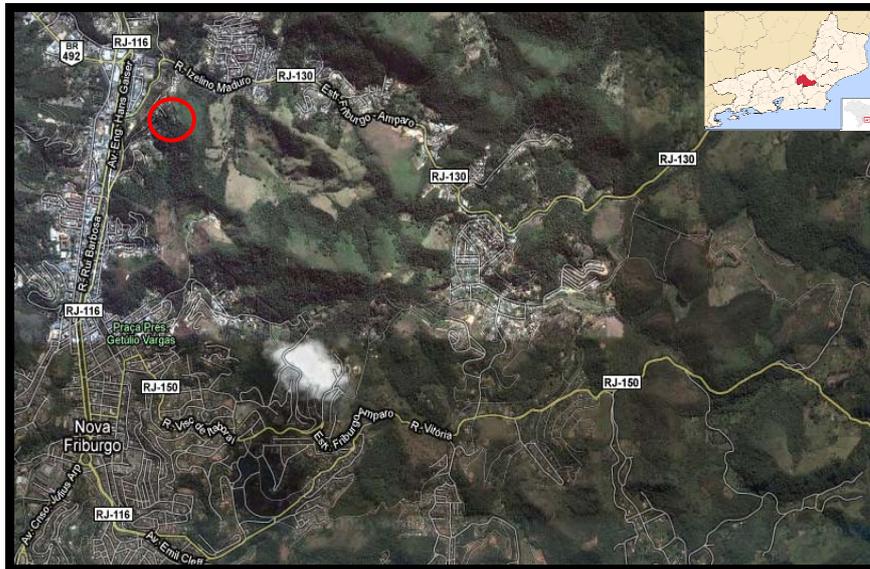
Durante a permanência na UFF, todas as amostras foram acondicionadas e estocadas em um recipiente plástico protegido da luz solar e mantidos em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

### 3.1.2 Localização das áreas de coleta da amostras

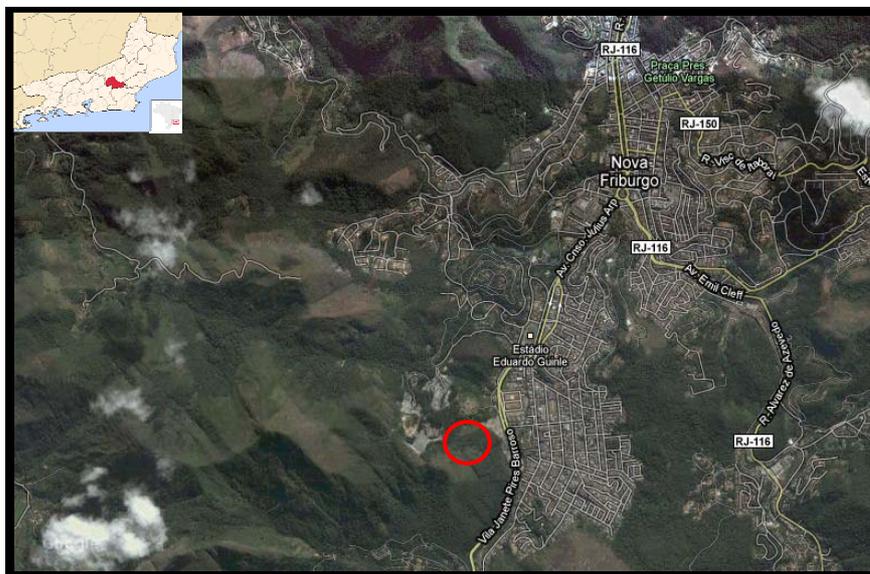
As amostras de mel foram coletadas em quatro locais no estado do Rio de Janeiro, mais precisamente nos municípios de Teresópolis, Nova Friburgo (Região – Norte), Nova Friburgo (Região – Sul) e Barra Mansa, devidamente especificados nas figuras 4, 5, 6 e 7, respectivamente.



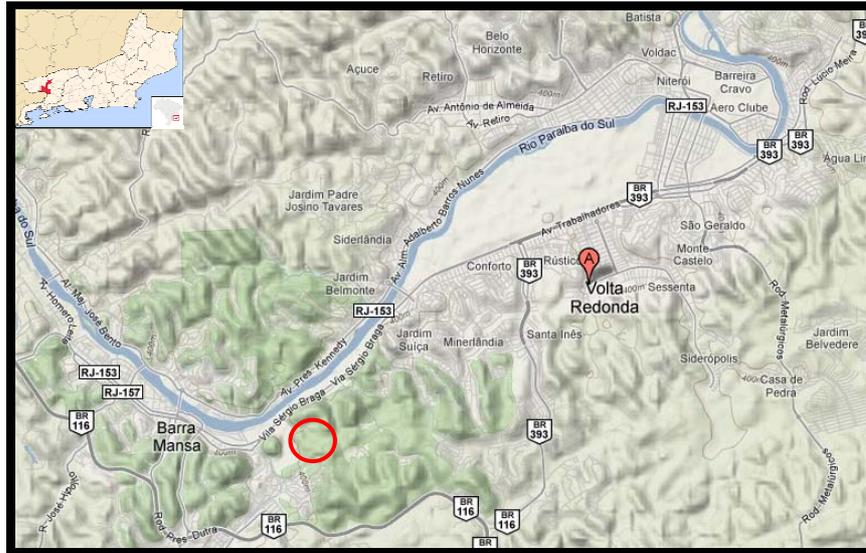
**Figura 4.** Teresópolis/RJ. ○ Local de coleta das amostras.  
Fonte: Google Earth (2009), com modificações.



**Figura 5.** Nova Friburgo/RJ (Região Norte). ○ Local de coleta das amostras.  
Fonte: Google Earth (2009), com modificações.



**Figura 6.** Nova Friburgo/RJ (Região Sul). ○ Local de coleta das amostras.  
Fonte: Google Earth (2009), com modificações.



**Figura 7.** Barra Mansa/RJ. A letra A demonstra a localização da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN). ◯ Local de coleta das amostras.  
Fonte: Google (2009), com modificações.

### 3.1.3 Reagentes analíticos

- a) Ácido Nítrico P.A. (MERCK®);
- b) Ácido Clorídrico P.A. (MERCK®);
- c) Solução padrão multielementar (QUIMLAB®);
- d) Éter etílico P. A. (MERCK®);
- e) Resorcina
- f) Solução de azul de metileno a 1%
- g) Solução de Fehling A (sulfato de cobre)
- h) Solução de Fehling B (tartarato duplo de sódio e potássio e hidróxido de sódio)
- i) Hidróxido de sódio (MERCK®);
- j) Ácido Tânico PA (QM).

### 3.1.4 Análises físico-químicas

As amostras de mel encaminhadas para o Laboratório de Controle Físico-Químico de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF) foram submetidas a análises físico-químicas com a finalidade de atestar a qualidade das amostras. Para tal, foram utilizadas as técnicas de análise

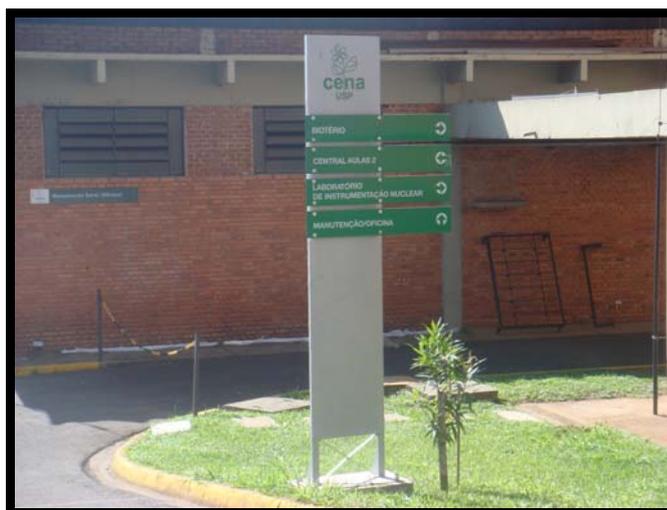
sensorial, determinação de pH, determinação do resíduo mineral fixo, insolúveis, glicídios redutores e não redutores, prova de Lund, análise da acidez e Teste de Fiehe, descritas no manual de Normas analíticas do LANARA, Brasília – Distrito Federal (BRASIL, 1981).

### 3.1.5 Preparo das Vidrarias

Toda vidraria utilizada nas análises dos metais foi previamente lavada com água destilada e imersa em solução de ácido nítrico a 10% por 48 horas. Após este período, foram rinsadas água ultra purificada (Milli-Q), e colocadas em estufa a 80°C para secagem.

### 3.1.6 Fluorescência de Raio-X por reflexão total (TXRF)

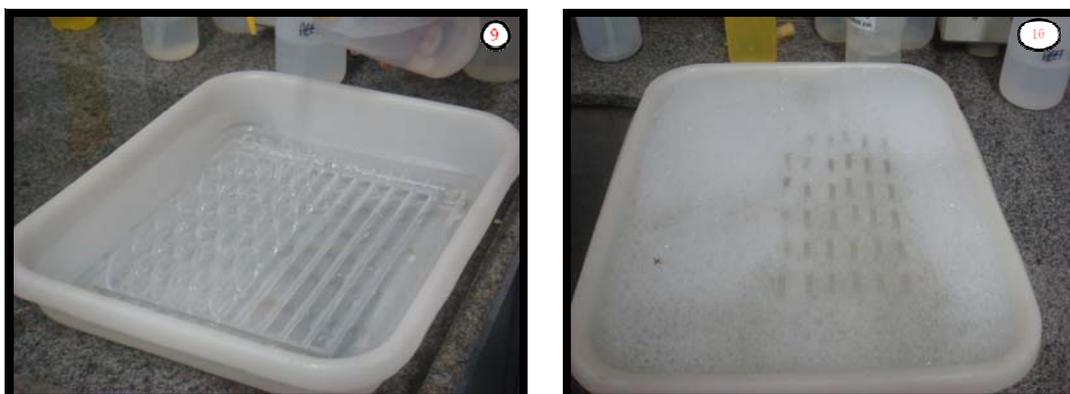
As análises dos metais foram realizadas de acordo com a técnica de TXRF, desempenhada no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), localizado em Piracicaba, São Paulo, Brasil (Figura 8).



**Figura 8.** Entrada do Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), localizado em Piracicaba, São Paulo, Brasil.

### 3.1.6.1 Limpeza dos discos refletores de Quartzo

Os refletores foram imersos em água com detergente neutro por um período de 30 minutos (Figura 9 e 10), mantidos durante este período, em posição vertical com auxílio de uma base acrílica confeccionada no LIN. Em seguida, com a ajuda de uma esponja macia foram retiradas as impurezas. Após esta etapa, os refletores foram rinsados com água corrente, seguidos de quatro enxágües com água deionizada. Os refletores permaneceram imersos em solução de ácido nítrico a 10% por 12 horas, sendo retirados e lavados quatro vezes consecutivas com água ultra purificada (Milli-Q) e secos em estufa a 60°C.



**Figuras 9 e 10.** Refletores posicionados verticalmente em base acrílica, imersos em água; refletores imersos em água com detergente neutro.

### 3.1.6.2 Preparo das amostras para análise por TXRF

As amostras foram preparadas no Laboratório de Controle Físico-Químico de Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFF. Primeiramente, transferiu-se 2g de mel para cadinhos de porcelana, sendo em seguida submetidas a um aquecimento progressivo, com aumento de 50°C a cada 20 minutos até atingir a temperatura de 550°C. As amostras foram mantidas no forno mufla até que alcançasse cinzas brancas, período aproximado de 6 horas (Figura 11). Ao término do processo, os cadinhos foram transferidos para o dessecador com intuito de esfriar os recipientes.

Em seguida, foram adicionados 5mL de ácido clorídrico (50% v/v) ao resíduo, sendo todo o conteúdo, posteriormente, transferido para um balão volumétrico de 25mL, no qual o conteúdo foi completado até o limite, com água ultra purificada pelo sistema de Milli-Q, fornecido pela Millipore Corporation (Figura 12).



**Figuras 11 e 12.** Cadinhos de porcelana dentro do forno mufla; balões volumétrico com resíduos das amostras e ácido clorídrico.

Após a digestão, 500 $\mu$ L foram transferidos para microtubos plásticos, tipo “ependorfs”, no qual se adicionou 50 $\mu$ L de uma solução contendo uma concentração de 102,5 $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> do elemento gálio (Ga). O Ga foi adicionado baseado no método do padrão interno de referência (KLOCKENKÄMPER; VON BOHLEN, 2001).

Ao término do preparo das amostras, os “ependorfs” foram devidamente identificados, separados e devidamente acondicionados em uma placa de polietileno e colocados em um recipiente plástico, para serem encaminhadas para o Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), localizado em Piracicaba, São Paulo.

Para facilitar o trabalho de preparo das amostras, foi elaborado um protocolo contendo as etapas supracitadas (Figura 13).



**Figura 13.** Protocolo de preparo das amostras de mel para análise por TXRF

### 3.1.6.3 Análise quantitativa por TXRF

Como a técnica de TXRF exige uma alíquota muito pequena da amostra, esta pode ser considerada um filme fino em um curto espaço de tempo, assim pode-se desprezar os efeitos de absorção da radiação, devido à alta intensidade dos raios X que excitam a amostra, com isto, não é necessária a correção do efeito matriz, pois este efeito não acontece.

Na análise por TXRF a quantificação da concentração elementar é comumente desempenhada pelo método da adição do padrão interno de referência (KLOCKENKÄMPER; VON BOHLEN, 2001). Este método baseia-se na adição de um elemento que não está presente nas amostras, que no caso do presente estudo o elemento eleito foi o Gálio (Ga). Desta forma, a concentração dos elementos contidos nas amostras pode ser determinada através de uma simples relação entre

a intensidade da radiação fluorescente emitida por um determinado elemento e a sensibilidade do sistema, melhor descrita pela equação 1.

$$I_i = s_i \times C_i \quad (1)$$

Onde:  $I_i$  representa a intensidade de fluorescência do elemento;  $C_i$  corresponde a concentração ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) do elemento na amostra e  $s_i$  é a sensibilidade para este elemento.

A amostra depositada no suporte refletor, que está presente na forma de um filme fino, não possui uma geometria regular e, portanto, não é possível garantir a homogeneidade da geometria do sistema, uma vez que as intensidades dos raios X dependerá da disposição da amostra em relação ao feixe.

Este efeito de geometria pode ser corrigido com o cálculo da intensidade relativa ( $I_{r,i}$ ) para cada elemento em relação ao padrão interno, com concentração conhecida, adicionado em cada amostra (equação 2).

$$I_i / I_{Ga} = S_{Ga} \cdot C_{Ga} \text{ ou } I_i / I_{Ga} \cdot C_{Ga} = s_i / S_{Ga} \cdot C_i \text{ onde: } I_{r,i} = I_i / I_{Ga} \cdot C_{Ga} \text{ e } S_{r,i} = s_i / S_{Ga} \quad (2)$$

Onde:  $I_{Ga}$  e  $C_{Ga}$  representam a intensidade fluorescente (cps) e a concentração ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) do padrão interno na amostra;  $S_{Ga}$  a sensibilidades para o padrão interno (cps .  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ),  $I_{r,i}$  a intensidade relativa para o elemento  $i$  e  $S_{r,i}$  a sensibilidade relativa para o elemento  $i$  (adimensional).

Substituindo os dados da equação 1 pelos obtidos na equação 2 obtêm-se a equação 3, utilizada na análise quantitativa por TXRF.

$$I_{r,i} = S_{r,i} \cdot C_i \quad (3)$$

#### 3.1.6.4 Preparo do branco

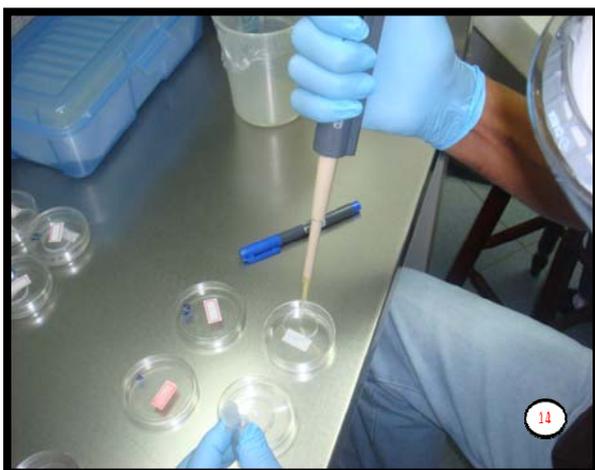
Visando corrigir efeitos referentes a possíveis contaminações, foram preparados também extratos de controle. O extrato controle foi preparado de maneira equivalente às amostras das análises, entretanto foi adicionado apenas

reagente sem amostra. Com isto, foi possível assegurar a qualidade dos reagentes utilizados na dissolução da amostra.

### 3.1.6.5 Instrumentação

As medidas foram realizadas na linha de Fluorescência de Raio X (XRF) do Laboratório de Instrumentação Nuclear do CENA (Piracicaba, São Paulo).

Inicialmente, realizou-se a homogeneização dos “ependorfs”, em gabinete de segurança, retirou-se uma pequena alíquota de 10 $\mu$ L que foi pipetada no centro de um disco refletor de quartzo (Figura 14), livre de impurezas e quimicamente inerte. Esta alíquota foi seca em estufa a 50°C (Figura 15), produzindo uma fina película sobre a superfície do refletor, com cerca de 10mm de diâmetro.



**Figuras 14 e 15.** Alíquota de 10 $\mu$ L sendo pipetada no centro de um disco refletor de quartzo; Amostras secando dentro da estufa a 50°C.

Posteriormente, a amostra foi posicionada horizontalmente no equipamento com módulo de reflexão total fabricado pela “Atominstitut der Österreichischen Universitäten”, composto de unidade colimadora, seletora de energia “cut-off” de Duran, nas dimensões 50 x 20 x 7mm, e um suporte para refletor de 215mm, acoplado a um tubo de raios X de Mo, com filtro de Zr, fabricado pela Philips, modelo PW 1316/92 (Figura 16), utilizando um gerador de alta tensão (marca Philips, modelo PW1830) operado em 30 kV e 40 mA.



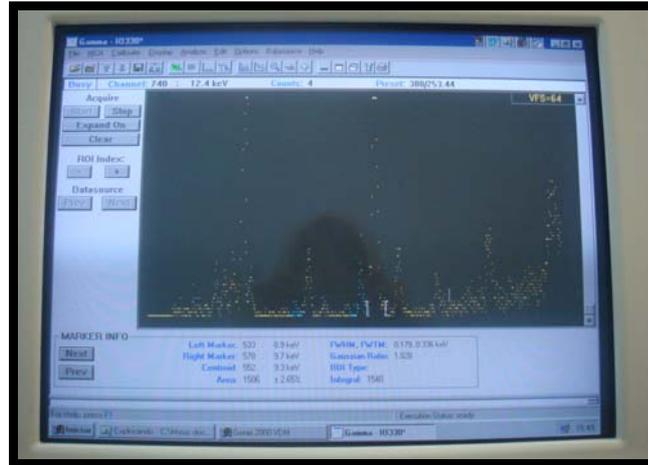
**Figura 16.** Inserção do disco refletor no suporte; detalhe do equipamento com módulo de reflexão total.

A detecção dos raios X foi realizada por um detector semiconductor Si (Li) da marca Canberra (Figura 17), modelo SL 30165, conectado a um pré-amplificador e um analisador de pulso multicanal acoplado a um computador.



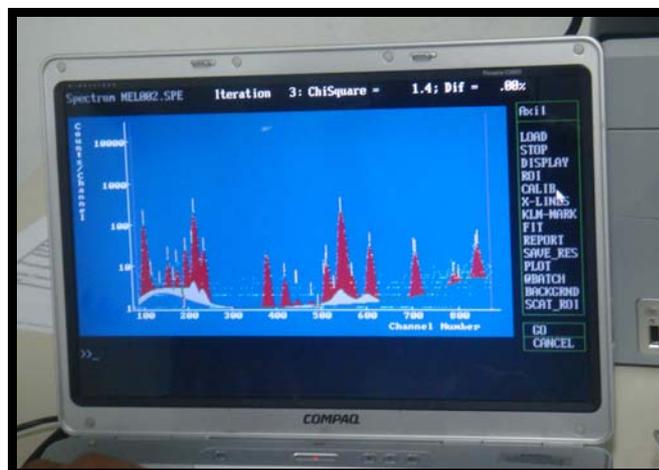
**Figura 17.** Detector de Raios X semiconductor de Si (Li) da marca Canberra.

O tempo de excitação das amostras e dos padrões foi de 300 segundos e os espectros de Raios X característicos obtidos foram gravados por um sistema Genie-Camberra (Figura 18).



**Figura 18.** Gravação dos espectros de Raios X característicos pelo sistema Genie-Camberra.

Em seguida, os espectros foram analisados através de um “software” intitulado de Sistema de Análise Quantitativa de Raio-X (Quantitative X-Ray Analysis System – QXAS), distribuído pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIAE) (Figura 19). Desta forma, foi possível obter as intensidades dos raios-X para cada elemento, associado a uma incerteza, com o propósito de corrigir o “background” espectral.



**Figura 19.** Espectros sendo analisados no “software” - Sistema de Análise Quantitativa de Raio-X (Quantitative X-Ray Analysis System – QXAS)

As amostras de cada estação das quatro diferentes estações do ano foram divididos dois a dois, sendo agrupados de acordo com a colméia em que foram coletadas. Após esta etapa foi retirada a média das repetições, perfazendo um total de 80 medições.

### 3.1.6.6 Sensibilidade Relativa

Para calcular a sensibilidade relativa do equipamento, foram realizadas medidas tomando como base nas soluções padrão monoelementar (QUIMLAB<sup>®</sup>) preparadas em oito diferentes concentrações (Figura 20), adicionando-se apenas o Ga como padrão interno.



**Figura 20.** Soluções padrão monoelementar.

### 3.1.6.7 Validação das análises por TXRF

A acurácia das medições foi atribuída à determinação da concentração elementar em uma amostra de fígado bovino certificada pelo National Institute for Science and Technology (NIST), designada SRM-1577b “Bovine liver”. A amostra foi preparada seguindo o mesmo protocolo utilizado para preparo das amostras de mel.

### 3.1.6.8 LIMITE DE DETECÇÃO DO TXRF

O limite de detecção (LD) representa a menor quantidade que pode ser discriminada estatisticamente em relação ao “background” de uma medida.

Este valor é obtido através da equação (4).

$$LD = 3 \sqrt{\frac{I_i(BG)}{t} \frac{C_{Ga}}{I_{Ga} S_i}}$$

(4)

Onde:  $I_i$  (BG) é a intensidade do “background” por unidade de tempo (fótons/s);  $I_{Ga}$  é a intensidade da radiação fluorescente, relativa ao padrão interno (fótons/s), gálio (Ga);  $C_{Ga}$  a concentração do padrão interno;  $S_i$  a sensibilidade relativa (adimensional) para o elemento  $i$  e,  $t$  o tempo de medida.

Em geral, o LD é determinado para alguns elementos e, posteriormente, através da curva do limite de detecção, no qual determina-se o limite de detecção para os elementos de interesse. O LD em TXRF é da ordem de  $ng.g^{-1}$ .

Entretanto, o LD não pôde ser determinado para o presente estudo, pois a intensidade do “background” foi ínfima, o que impossibilitou determinar este valor.

### 3.2 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O tratamento estatístico dos resultados foi realizado através de um delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 4 x 4 (quatro estações e quatro regiões), para verificar as diferenças estatísticas significativas entre as concentrações dos metais nos diferentes tratamentos. Os resultados foram comparados utilizando uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%. Para uma análise mais completa foi aplicado o Teste de comparação entre as médias (“Tukey’s Studentized Range”), para verificar as diferenças estatísticas significativas entre as concentrações médias dos metais nas diferentes estações e regiões.

Para facilitar a visualização o entendimento dos resultados foi realizado uma análise descritiva simples, apresentando os resultados das médias  $\pm$  desvio padrão, valores mínimos e máximos.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAS (“Statistical Analysis System”) (SAS Institute, 1999).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico serão expostos os resultados obtidos através da técnica de TXRF aplicada a amostras de méis coletadas em quatro locais distintos do estado Rio de Janeiro, nas quatro diferentes estações do ano, a fim de verificar o efeito da sazonalidade nos metais presentes nos méis, além de averiguar a distribuição dos metais nas diferentes regiões, traçando um comparativo entre as mesmas.

### 4.1 CÁLCULO DA SENSIBILIDADE DO SISTEMA

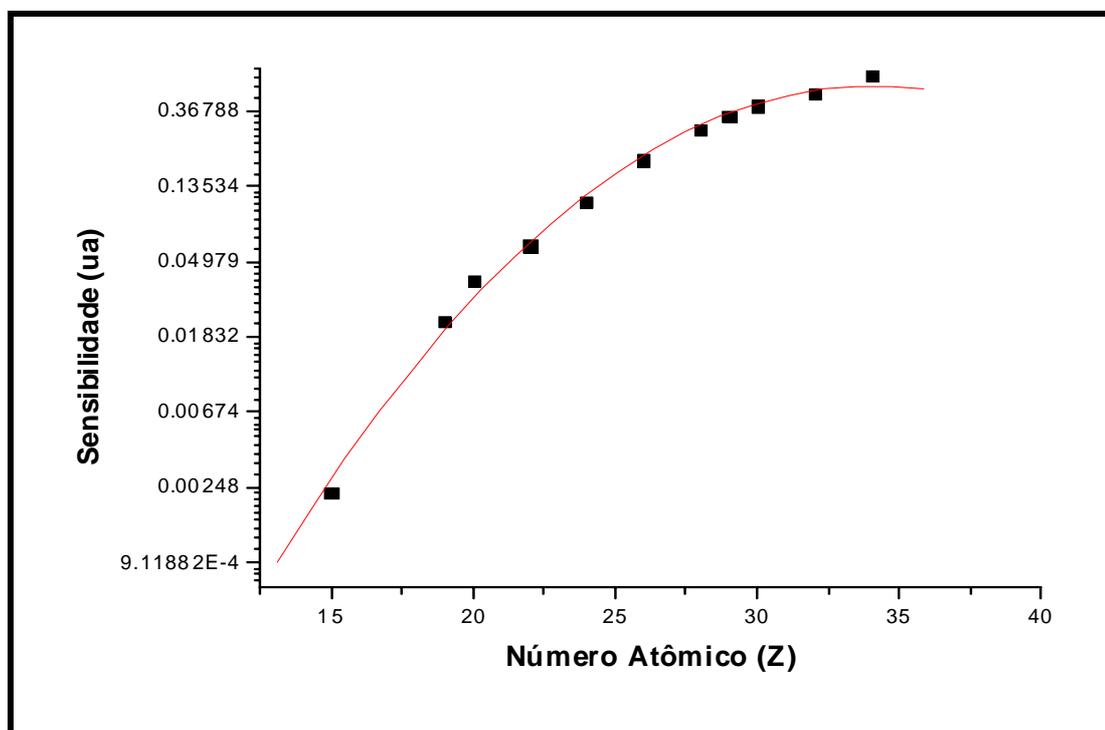
Para a determinação da sensibilidade relativa ( $S_{r,i}$ ) foram utilizadas soluções monoelementares para a linha K nos experimentos realizados com a técnica TXRF.

A curva de calibração foi determinada através da medida de oito soluções padrões monoelementares, contendo elementos com as mesmas concentrações conhecidas. A tabela 1 mostra os elementos e suas respectivas concentrações utilizados na determinação da curva de calibração para série K, através da técnica TXRF do LIN – Piracicaba (SP).

**Tabela 1.** Concentração final ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) dos elementos utilizados na solução padrão para a determinação da curva de sensibilidade para os elementos da linha K do sistema de TXRF do LIN – Piracicaba (SP).

ELEMENTO	Concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ )							
	1K	2K	3K	4K	5K	6K	7K	8K
K	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Ca	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Cr	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Mn	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Fe	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Co	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Ni	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Cu	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Zn	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Ga	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63
Sr	0,9	1,81	2,72	4,54	6,36	7,27	9,09	13,63

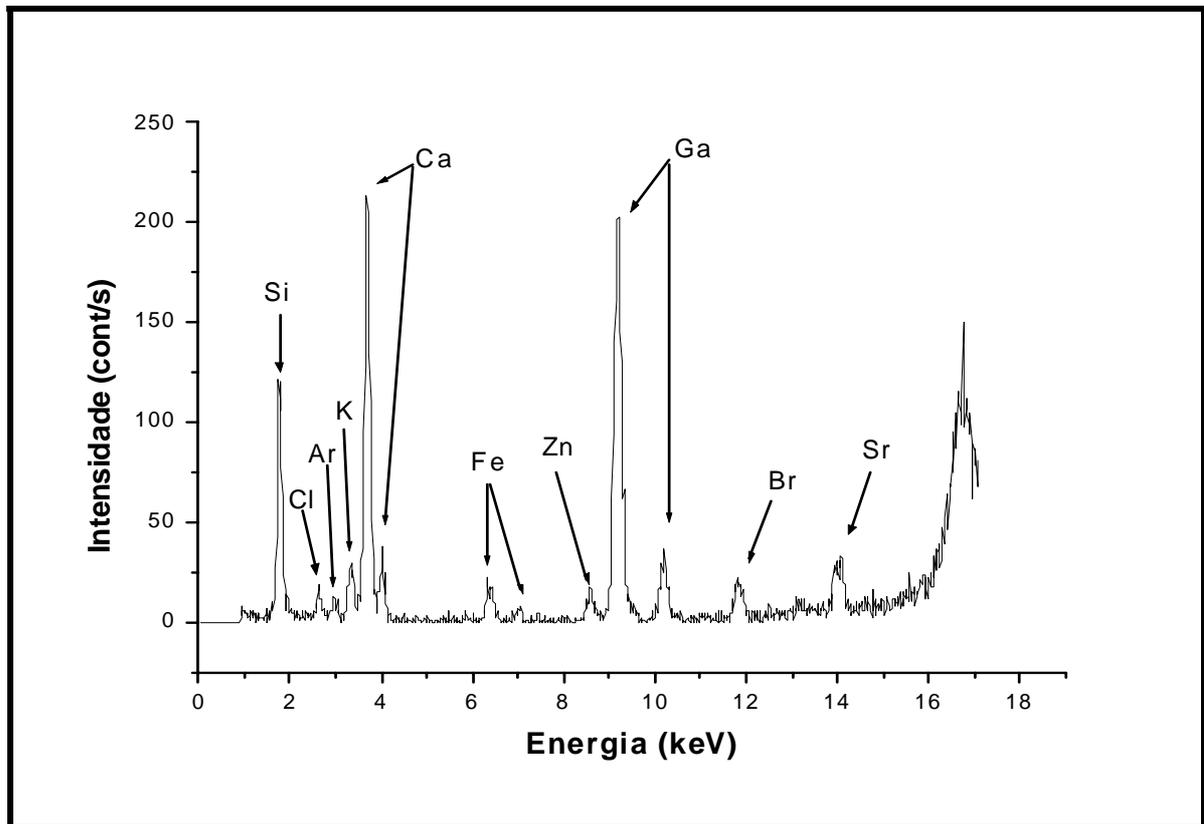
Para melhor visualização será mostrado na seqüência a Figura 21 referente a curva de calibração para os elementos da linha K do sistema TXRF do LIN – Piracicaba (SP), desenvolvido a partir da equação de sensibilidade relativa do sistema ( $Y = -17.38918 + 0.98311 X - 0.01444 X^2$ ).



**Figura 21.** Curva de calibração para os elementos da linha K do sistema TXRF do LIN–Piracicaba (SP).

## 4.2 ANÁLISE DAS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES ELEMENTARES

A seguir, será exposto um espectro típico de Fluorescência de Raio X obtido com a análise de uma amostras de mel através da técnica TXRF (Figura 22).



**Figura 22.** Espectro típico de mel obtido pelo sistema TXRF do LIN – Piracicaba (SP).

A presença do elemento silício (Si) que apareceu no espectro de Fluorescência de Raio X é devido a composição do refletor de quartzo utilizado no experimento. O elemento argônio esteve presente devido ao ar atmosférico; o elemento cloro (Cl) aparece no espectro em decorrência do tratamento prévio das amostras com ácido clorídrico utilizado durante o processo de digestão do mel e, o elemento Gálio, é o padrão interno utilizado.

### 4.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA

A tabela 2 mostra os resultados encontrados na análise das amostras de referência para o sistema TXRF. Foram realizadas três repetições (n=3). Comparando os valores obtidos utilizando a técnica de TXRF com os valores de referência foi possível observar que houve variação entre 5,7% (Zn) a 20,0% (Mn); mostrando que existe uma boa reprodutibilidade dos resultados.

**Tabela 2.** Valores de concentração calculados e certificados do material de referência fígado bovino (SRM-1577b “Bovine liver”) para TXRF.

Elemento	Concentração certificada ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )	Concentração calculada ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )	Diferença (%)
25 (Mn)	10,5	8,4	-20,0
26 (Fe)	184	215,6	17,2
29 (Cu)	160	177,8	11,2
30 (Zn)	127	134,2	5,7

### 4.4 RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Todas as amostras obtidas durante o presente estudo estavam dentro dos padrões físico-químicos estabelecidos pela Legislação Brasileira (Tabela 3) (BRASIL, 2000). Sendo assim, pôde-se atestar a qualidade das amostras estudadas.

### 4.5 OBTENÇÃO DOS RESULTADOS NAS AMOSTRAS DE MEL

Os resultados obtidos nas amostras estudadas estão dispostos nas tabelas 4, 5, 6, 7 e 8. Através de uma análise descritiva simples, apresentando as médias  $\pm$  desvio padrão, valores máximo e mínimo dos elementos traço nas quatro regiões e nas quatro estações do ano. Considerando cada uma das variáveis (estação e região) foram feitas comparações utilizando análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%.













#### 4.6 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DE TERESÓPOLIS – RJ COLETADOS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

Os resultados apresentados na tabela 4 demonstram as médias, desvios padrões, os valores máximos e mínimos de todos os elementos estudados nas quatro estações do ano.

Os elementos K e Ca foram os mais abundantes encontrados nesta região, com intervalo de concentração variando de 226,16  $\mu\text{g.g}^{-1}$  a 698,83  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e 161,01  $\mu\text{g.g}^{-1}$  a 567,19  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente. Para estes metais, os níveis de concentrações encontrados estão em conformidade com os valores relatados na literatura para méis brasileiros (MARCHINI et al., 2005, SODRÉ et al., 2007, SANTOS et al., 2008). Em estudo semelhante com méis do Piauí, Santos et al. (2008) relataram que o K e o Ca apresentaram os maiores níveis, com intervalo de concentrações 113,75  $\mu\text{g.g}^{-1}$  a 1.993,0  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e 21,87  $\mu\text{g.g}^{-1}$  a 840,40  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente.

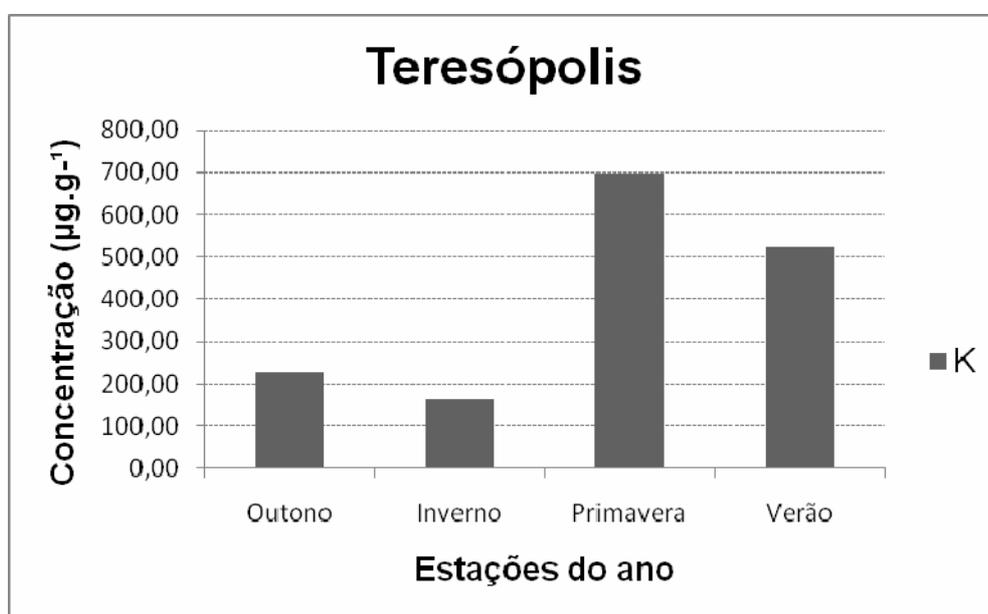
Alguns pesquisadores relataram que o K e Ca são os elementos de maior quantidade no mel (RASHED; SOLTAN, 2004, HERNÁNDEZ et al., 2005, STANKOVSKA et al., 2008), estando de acordo com presente estudo, entretanto, este valor é ainda mais expressivo em méis estrangeiros, tal como o relatado por Necemer et al. (2009), que registraram uma variação de 255 a 3.520  $\mu\text{g.g}^{-1}$  para o K, em méis eslovenos coletados no ano de 2006.

Verificou-se uma correlação estatisticamente significativa entre as médias do elemento K, com um nível de significância de 5%, nas diferentes estações do ano (Tabela 4), apresentando um aumento expressivo na primavera de 2008, com concentração média de 698,83  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (Figura 23).

O elemento cálcio também se comportou de maneira semelhante ao K, com a maior média registrada no verão de 2009, apresentando uma concentração média de 567,19  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , por outro lado, a menor média registrada foi de 161,01  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , na primavera (Figura 24). Ambos os fatos podem ser decorrente das alterações climáticas ocorridas na região. No mês de outubro, período da coleta do mel na primavera, foi registrado um índice pluviométrico superior a 180mm (Figura 25), e durante o verão de 2009, este índice foi um pouco menor, variando de 90 a 220mm,

com média de 164mm, na mesma região (SIMERJ, 2008) e, a temperatura média neste mês, oscilou de 22°C a 27°C (Figura 26).

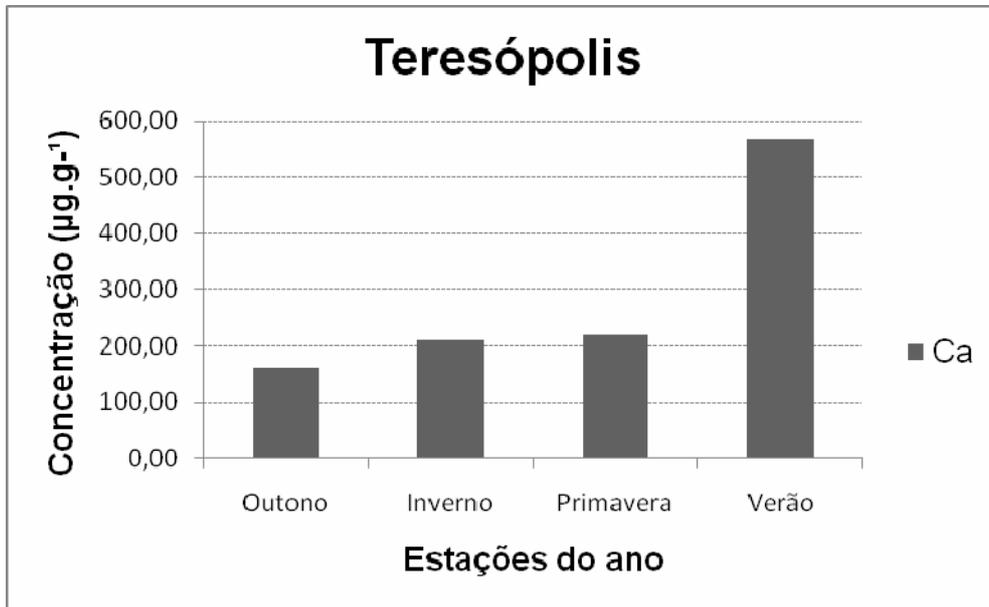
Sob condições climáticas adversas, uma planta pode florescer antes ou após o seu período normal, ou ainda emitir poucas flores, e esta, muitas vezes, é a razão pela qual, países produtores de mel, apresentam flutuações consideráveis no volume de mel produzido de um ano para o outro, como também ocorre com a produção agrícola em geral (FAO, 1986). Desta forma, alterações climáticas podem interferir nos níveis de metais encontrados no mel, pois alguns metais estão diretamente ligados a origem botânica do mel.



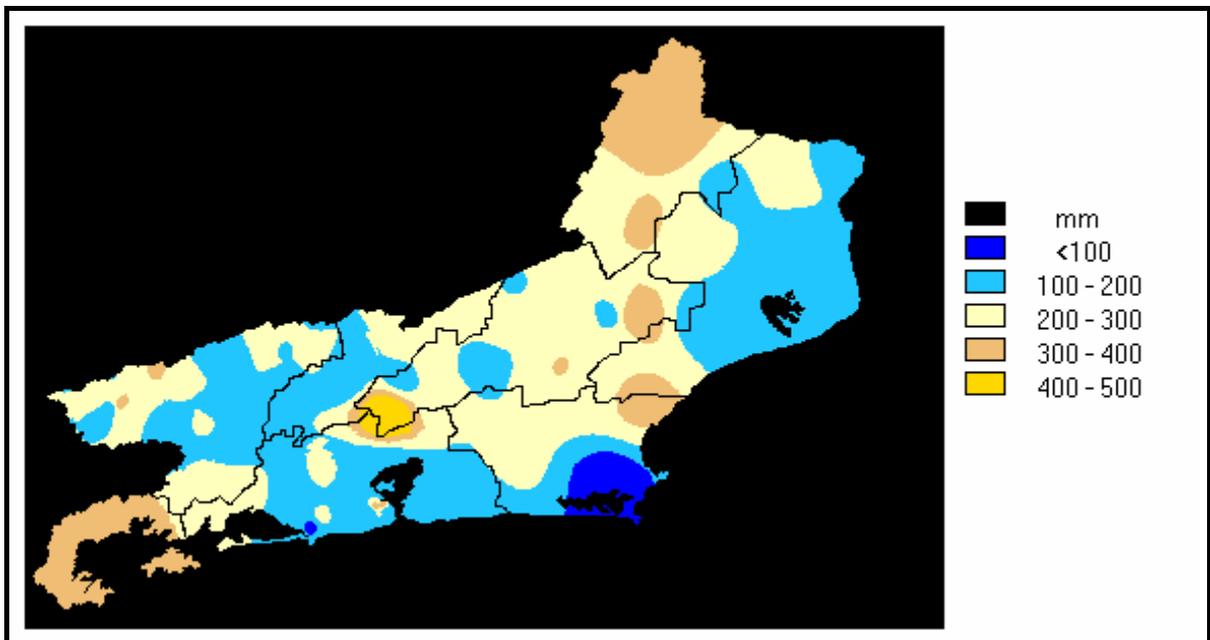
**Figura 23.** Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.

Os valores de cálcio encontrados no presente estudo diferem das concentrações registradas por outros autores que estudaram méis brasileiros (MARCHINI et al., 2005, SODRÉ et al., 2007, SANTOS et al., 2008). Em estudo realizado por Sodr e et al. (2007), a concentra o máxima registrada para este metal foi de 76,76  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , bem inferior aos valores médios encontrados na região de Teresópolis nas diferentes esta es. Este fato pode ser explicado, possivelmente, pelas diferenças climáticas entre as regiões e as características distintas dos solos estudados. As concentra es encontradas para o Ca neste estudo são mais

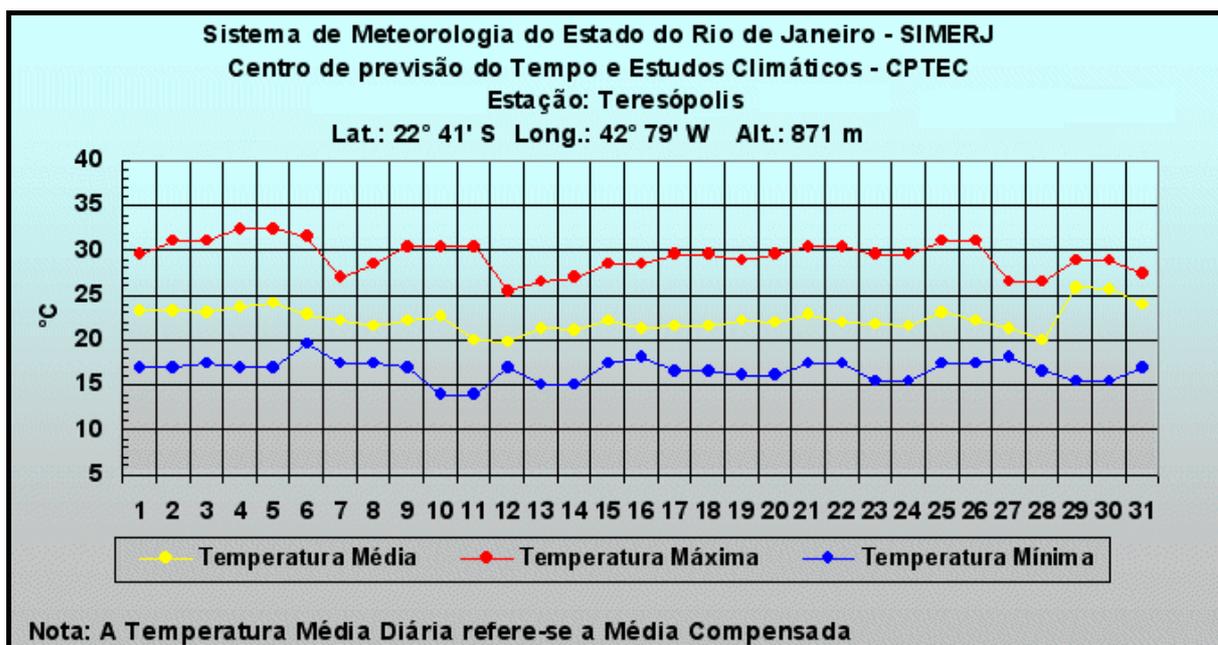
próximos dos valores encontrados em méis espanhóis pesquisados por Terrab et al. (2004).



**Figura 24.** Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.



**Figura 25.** Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de outubro de 2008. (Fontes: INMET e SIMERJ, 2008).



**Figura 26.** Temperaturas médias, máxima e mínima registradas no município de Teresópolis (RJ), durante o mês de fevereiro de 2009. Fonte: SIMERJ, 2009.

Os elementos Cr, Mn, Fe, Cu, Zn e Se são metais essenciais para a nutrição humana, porém quando presentes nos alimentos em níveis elevados podem ocasionar problemas à saúde (DEMIREZEN; URUC, 2006). No caso do Cr, quando em sua forma hexavalente é carcinogênico. Esta forma ocorre devido à poluição antrópica. Contudo, por ser essencial, é recomendada uma ingestão diária de 50 a 200  $\mu\text{g}$  (RDA, 1989).

Neste estudo, na região de Teresópolis, o limite máximo de Cr permitido pela legislação foi ultrapassado em algumas amostras coletadas no outono, apresentando um valor máximo de  $0,42 \mu\text{g.g}^{-1}$  e uma concentração média de  $0,14 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Este perfil foi também verificado na coleta realizada na primavera, na qual o valor máximo encontrado foi  $0,20 \mu\text{g.g}^{-1}$  e a concentração média foi  $0,11 \mu\text{g.g}^{-1}$ , ultrapassando desta forma a CMP.

As normas brasileiras estabelecem para o Cr uma Concentração Máxima Permitida (CMP) para consumo humano de  $0,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ , para qualquer alimento (BRASIL, 1965; BRASIL, 1987). Entretanto este valor foi excedido em diversas pesquisas, podendo-se ressaltar os resultados de Özcan et al. (2006), que encontraram valores médios de  $3,12 \mu\text{g.g}^{-1}$ , e os índices obtidos por Nalda et al. (2005) em méis espanhóis, no qual a concentração máxima registrada foi de  $1,50 \mu\text{g.g}^{-1}$ , para este metal.

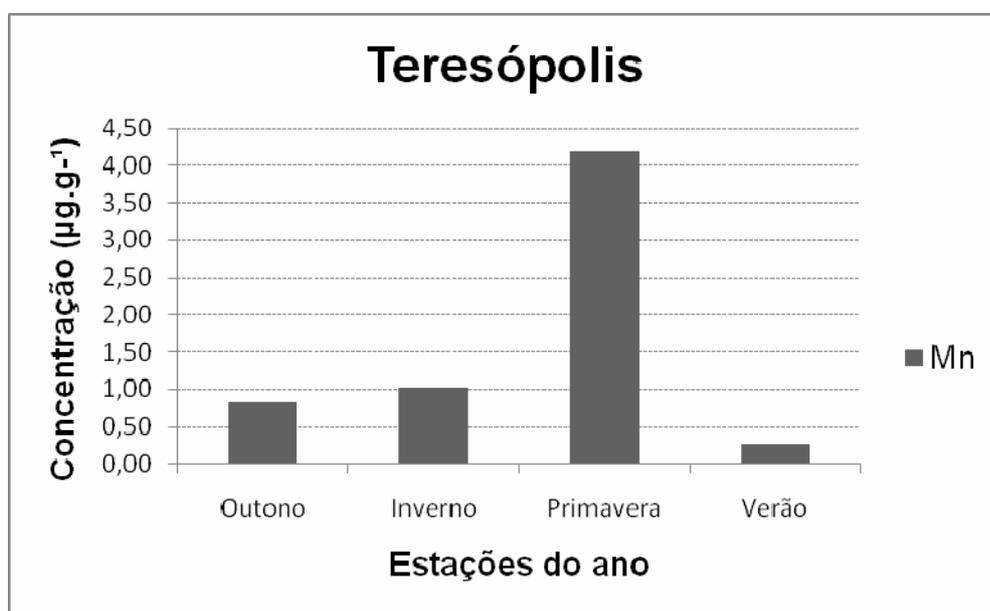
Em méis brasileiros, Sodré et al. (2007) também observaram valores de Cr acima da CMP em méis do Piauí, no qual o valor máximo encontrado foi  $0,32 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Devido ao valor da CMP do Cr ser muito restritivo [grifo do autor], este vem sendo ultrapassado em quase todos os estudos.

Em relação ao elemento manganês (Mn), nas amostras relativas a primavera de 2008, foi encontrado uma concentração média de  $4,19 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Figura 27), valor superior as médias registradas, anteriormente, no outono e inverno, no qual os valores médios registrados foram,  $0,83 \mu\text{g.g}^{-1}$  e  $1,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente.

O manganês (Mn) é extraído dos minérios e possui algumas aplicações industriais, dentre as quais se destaca a fabricação de fertilizantes (OGA et al., 2008). O aumento deste metal na primavera pode sugerir uma maior aplicação de fertilizantes na região durante este período.

Para o Mn, não há referência de CMP na legislação brasileira. Por ser um metal essencial, a dose diária recomendada é de 2 a 3mg por dia, para um adulto (BRASIL, 2005).



**Figura 27.** Comparação entre as médias das concentrações de Mn encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.

Lachman et al. (2007) pesquisaram méis Tcheco e relataram valores de Mn próximos aos obtidos neste estudo, variando de  $1,16 \mu\text{g.g}^{-1}$  a  $4,92 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Resultados

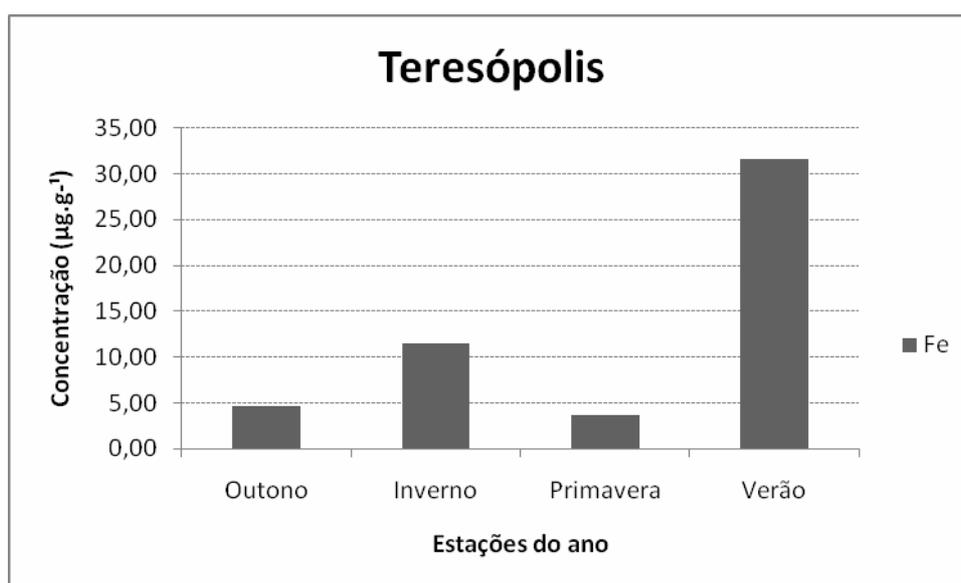
bem superiores foram registrados por Tuzen et al. (2007) em méis da Turquia, com valores médios de  $48,4 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Alguns dos elementos traço podem estar presentes devido a contaminantes encontrados nos equipamentos utilizados para beneficiar e envasar os méis, e também ser proveniente de recipientes de aço inoxidável, que são utilizados no processo de industrialização. Alimentos ácidos como o mel, quando em contato com uma superfície de aço inoxidável durante a coleta, processamento ou embalagem, pode ser contaminado por metais e apresentar altos níveis de Fe, Ni, Cu e Cr (PARAMÁS et al., 2000).

O elemento níquel esteve presente somente no outono e em quantidade irrisória, apresentando valores médios de  $0,01 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Tabela 4). Este valor é bem menor do que o obtido por Yarsan et al. (2007), que relataram valores médios variando de  $0,24$  a  $16,3 \mu\text{g.g}^{-1}$  para méis de diferentes regiões da Turquia.

Para o Ni a legislação brasileira estabelece a CMP de  $5 \mu\text{g.g}^{-1}$  para alimentos em geral (BRASIL, 1965) e não existe informações sobre o máximo de Ni aceitável especificamente para o mel.

Os níveis médios de Fe variaram de  $3,68$  a  $31,62 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Figura 28), valores semelhantes ao encontrado por Santos et al. (2008), que registraram uma concentração média de  $3,98 \mu\text{g.g}^{-1}$  em méis da Mata Atlântica do sudoeste da Bahia e  $21,99 \mu\text{g.g}^{-1}$  em méis do Semi-árido da Bahia.



**Figura 28.** Comparação entre as médias das concentrações de Fe encontradas nas amostras de méis coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.

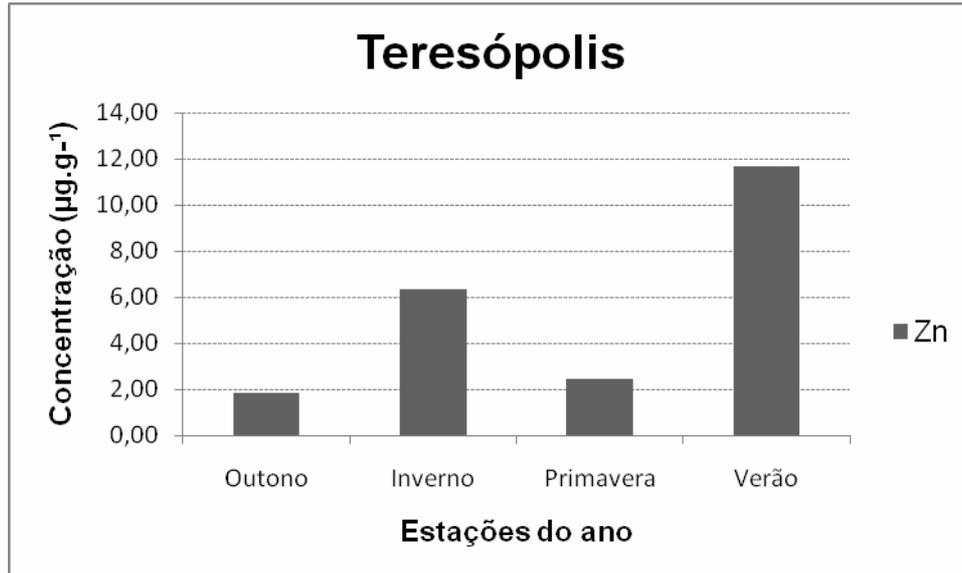
Rashed e Soltan (2004) relataram altos valores de Fe em méis de laranjeiras coletado no Egito, com valores médios de  $80 \mu\text{g.g}^{-1}$ , entretanto este resultado é atípico, sendo mais relatado por pesquisadores, valores próximos aos encontrados nesta pesquisa.

Todavia, não há referência de CMP para este metal na legislação brasileira em alimentos, o que dificulta a interpretação dos resultados. A “Food and Agriculture Organization” (FAO) fixou limite para ingestão de alguns metais traço baseando-se no peso corporal, dentre eles Fe, Cu e Zn. Para um adulto de 60Kg a dose diária tolerável é de 48mg, de Cu é de 3mg e 60mg para o Zn (FAO, 1999).

As concentrações médias de Cu variaram de  $6,31 \mu\text{g.g}^{-1}$  a  $17,72 \mu\text{g.g}^{-1}$  e não apresentaram uma correlação estatisticamente significativa, com um nível de significância de 5%, nas diferentes estações do ano (Tabela 4). Estes resultados foram inferiores a  $30 \mu\text{g.g}^{-1}$  que é a CMP para o consumo humano estabelecida pelo Decreto Nº 55.871 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1965). Entretanto, alguns valores foram superiores ao instituído pela Portaria nº685 de 27/08/98, que estabelece como limite máximo de tolerância para este contaminante o valor de  $10 \mu\text{g.g}^{-1}$  (BRASIL, 1998).

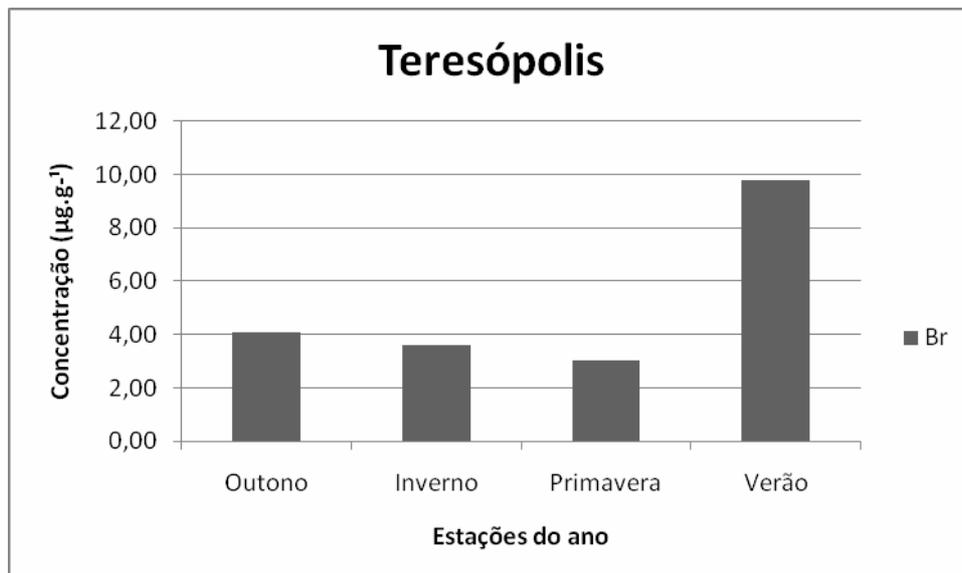
Fredes e Montenegro (2006) pesquisaram metais em méis chilenos e utilizaram um processo de digestão semelhante ao utilizado neste estudo, com isto, observaram valores de Cu ainda maiores, no qual a média relatada foi  $0,91 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

A contaminação por Zn pode ocorrer através de equipamentos em aço galvanizado (PARAMÁS et al., 2000). Os valores médios de Zn encontrados nos méis de Teresópolis variaram de  $1,85 \mu\text{g.g}^{-1}$  no outono, a  $11,64 \mu\text{g.g}^{-1}$  no verão (Figura 29). A CMP para Zn estabelecida pela legislação brasileira é de  $50 \mu\text{g.g}^{-1}$  (BRASIL, 1965). Porém, no Brasil não existe orientações sobre níveis aceitáveis de Zn, especialmente para méis.

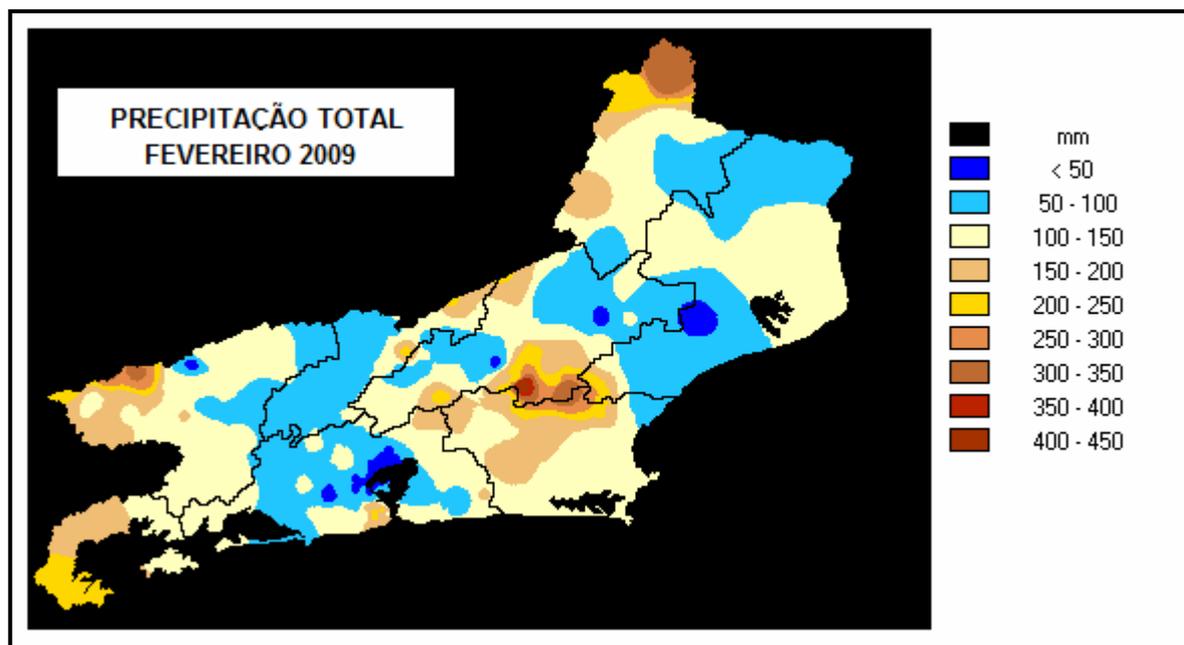


**Figura 29.** Comparação entre as médias das concentrações de Zn encontradas nas amostras de meís coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.

O elemento bromo se comportou de maneira semelhante no outono, inverno e primavera, tendo um aumento significativo apenas no verão de 2009 (Figura 30). Entretanto, o índice pluviométrico registrado na região durante o mês de fevereiro, foi aproximadamente 160mm, estando abaixo do previsto para este período (Figura 31).



**Figura 30.** Comparação entre as médias das concentrações de Br encontradas nas amostras de meís coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.



**Figura 31.** Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de fevereiro 2009. (Fontes: INMET e SIMERJ, 2008)

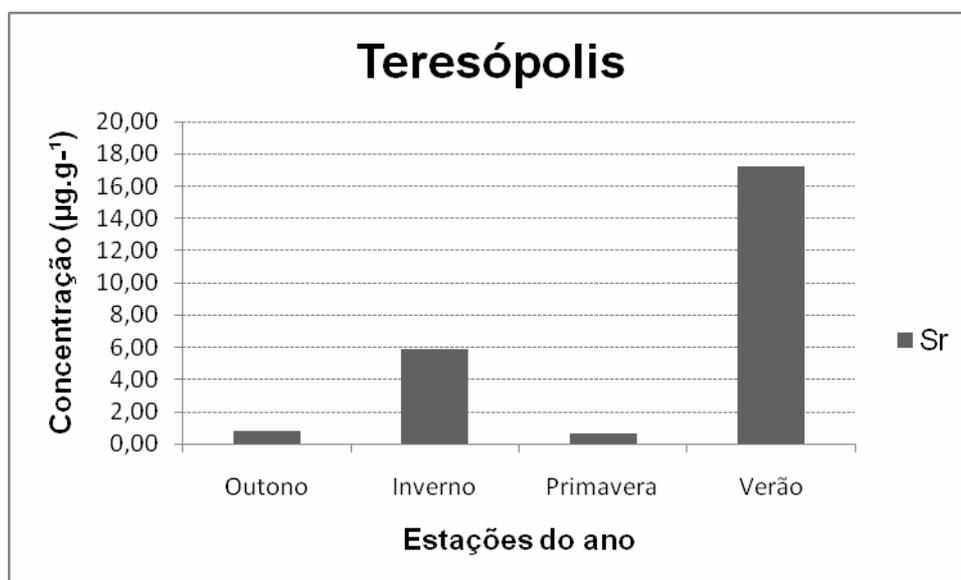
O bromo molecular é empregado na fabricação de uma ampla variedade de compostos de bromo, usados na indústria e na agricultura (INFOPÉDIA, 2009). Esta afirmação provavelmente explica as concentrações médias encontradas na região, uma vez que o município de Teresópolis é responsável pela produção da maior parte dos hortigranjeiros consumidos no estado (TERESÓPOLIS, 2008).

O aumento do Br no verão de 2009 pode estar relacionado com a diminuição do índice pluviométrico, visto que esta situação contribui para uma menor perda dos metais por lixiviação, aumentando desta forma, a concentração de alguns elementos que são provenientes de intensa atividade antrópica.

Comparando-se os resultados encontrados para o Br no presente estudo, é possível observar uma semelhança com os obtidos por Enrich et al. (2007) em méis de 14 locais diferentes da argentina, contudo divergem dos resultados relatados por Sodr e et al. (2007), que não detectaram bromo em nenhuma das amostras coletadas no Piauí (Brasil).

As concentrações médias de Sr foram bem mais elevadas no verão, apresentado o valor de  $17,26 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Figura 32). Os valores evidenciados foram bastante superiores aos encontrados por Hern andez et al. (2005), que registraram valores médios de  $0,39 \mu\text{g.g}^{-1}$ , assim como as concentrações médias de  $0,41 \mu\text{g.g}^{-1}$  obtidas por Terrab et al. (2005). No Brasil, o teor máximo encontrado em méis do

Piauí foi  $0,53 \mu\text{g.g}^{-1}$  (SODRÉ et al., 2007). Sendo assim, as altas concentrações encontradas no presente estudo podem sugerir uma proximidade do local de criação das abelhas com terrenos rochosos, influenciando desta maneira, os níveis deste metal nas amostras.



**Figura 32.** Comparação entre as médias das concentrações de Sr encontradas nas amostras de mel coletados na região de Teresópolis – RJ, nas quatro estações do ano.

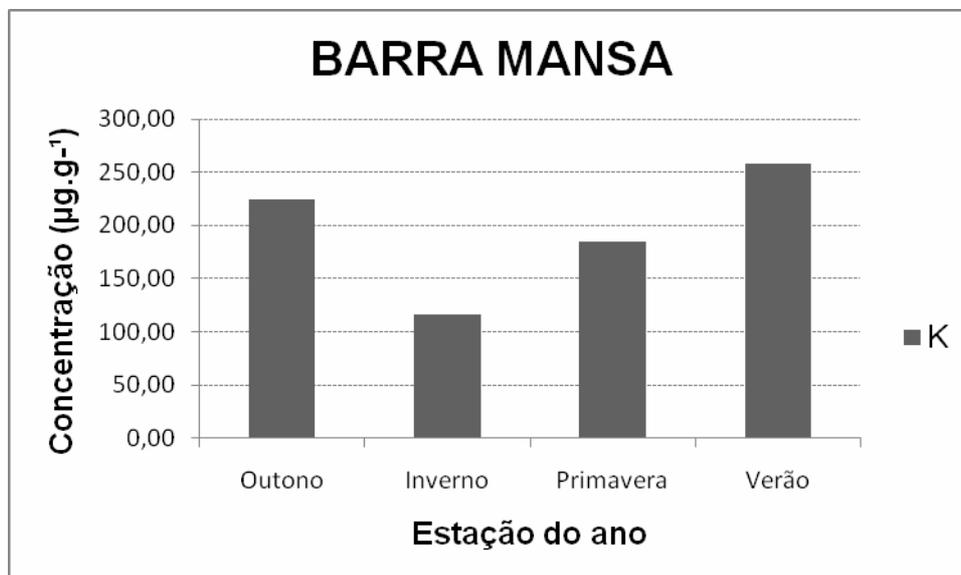
#### 4.7 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DE BARRA MANSA – RJ COLETADOS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

Os resultados apresentados na tabela 5 demonstram as médias, desvios padrões, os valores máximos e mínimos de todos os elementos estudados nas quatro estações do ano.

Analisando a figura 33 é possível observar que o potássio se comportou de maneira equivalente nas quatro estações do ano. Os valores variaram de  $116,5 \mu\text{g.g}^{-1}$  a  $257,4 \mu\text{g.g}^{-1}$  e não apresentaram uma correlação estatisticamente significativa, com um nível de significância de 5%, nas diferentes estações (Tabela 5).

Sendo assim, esta congruência pode estar relacionada à origem botânica de todas as amostras coletadas, pois a região possui uma área de florada apícola homogênea durante o ano todo. Esta situação acarretou uma redução das coletas de mel para comercialização sem, contudo, prejudicar a obtenção das amostras utilizadas para o estudo. Durante alguns períodos dos anos de 2008 e 2009 a

quantidade de mel registrada nas colméias era muito abaixo do esperado, sendo suficiente apenas para alimentação das abelhas, não podendo ser comercializados.



**Figura 33.** Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano.

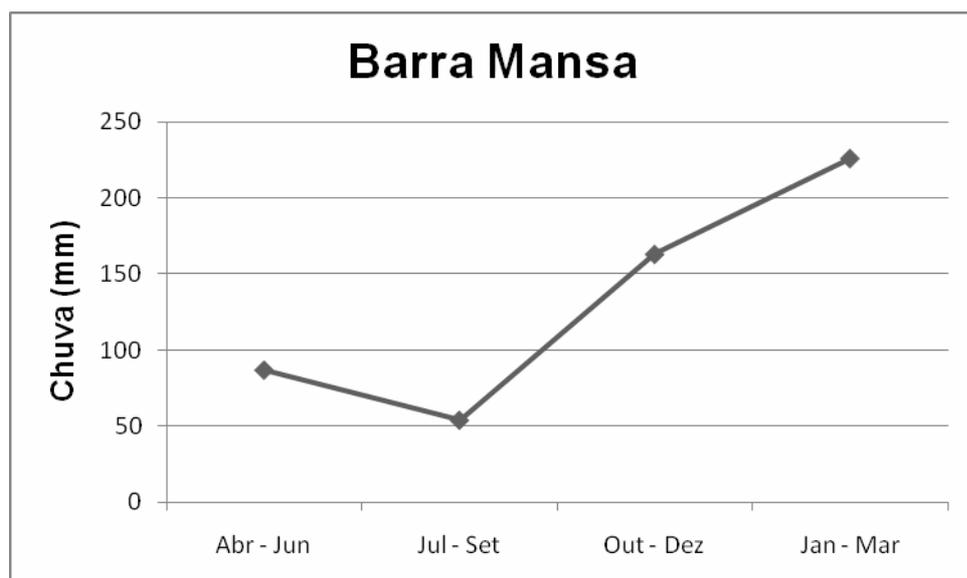
Por outro lado, o cálcio se comportou de maneira atípica e apresentou um aumento expressivo no inverno (Figura 34). Considerando os resultados obtidos e os dados da literatura, este aumento pode ser decorrente de uma contaminação antrópica do mel, pois em muitas situações se utiliza o cálcio na forma CaO hidratada, que dá origem a cal hidratada, cuja suspensão em água é muito usada como uma tinta branca de baixo custo para pintar a caixa onde são depositadas as colméias, paredes e meio-fio de ruas.

Outro tipo de contaminação que pode ter gerado o aumento mencionado, é a utilização de óxido de cálcio ou cal virgem. Segundo Coelho (1973), a calagem corrige as condições indesejáveis de um solo ácido. O óxido de cálcio tem outras aplicações comerciais, entretanto ainda é utilizado de forma indiscriminada na agricultura como corretivo de solo. Geralmente, é vendido no comércio sob a forma de um pó fino, obtido a partir da calcinação do calcário, sendo muito cáustico.



**Figura 34.** Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de meéis coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano.

Os valores médios de Cr no outono, inverno e primavera não ultrapassaram a CMP. Apenas no verão de 2009 este nível foi superado, com concentração média de  $0,31 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Este aumento pode ser explicado devido ao índice pluviométrico de 243mm registrado na região de Barra Mansa durante o mês de março de 2009 (Figura 35).

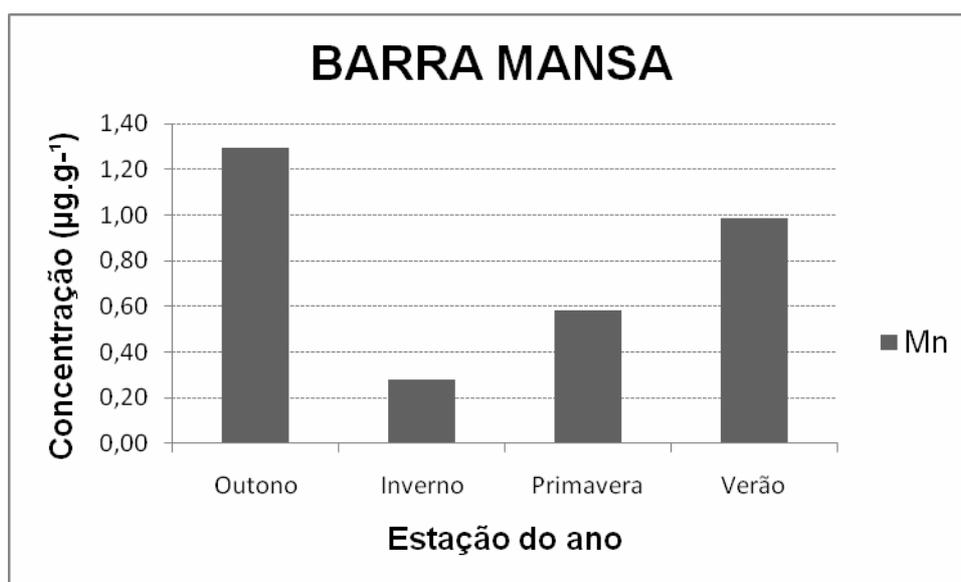


**Figura 35.** Índice pluviométrico registrado na região de Barra Mansa – RJ, nos meses de abril 2008 a março de 2009. (Fontes: INMET e SIMERJ, 2008-2009).

As concentrações de Ti ficaram abaixo do limite de detecção, sugerindo assim, a não contaminação por este metal da região estudada. Este resultado difere dos obtidos por Sodré et al. (2007), que relataram a presença deste metal em amostras de mel do Piauí, com valor médio de  $0,11 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Os elementos essenciais Fe e Mn estiveram presentes nas amostras de forma homogênea, durante todo o período pesquisado, entretanto em quantidades reduzidas (Tabela 5).

O Mn apresentou uma variação de  $0,28$  a  $1,30 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Figura 36) resultados estes semelhantes aos observados por Stankovska et al. (2008), que relataram uma variação de  $0,79$  a  $2,81 \mu\text{g.g}^{-1}$  para méis de origem floral mista de diferentes regiões da República da Macedônia. Assim como os resultados publicados por Golob et al. (2005) para o mel esloveno, no qual as concentrações variaram de  $0,6$  a  $9,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Ambos os autores consideram as áreas estudadas como livre de contaminações.



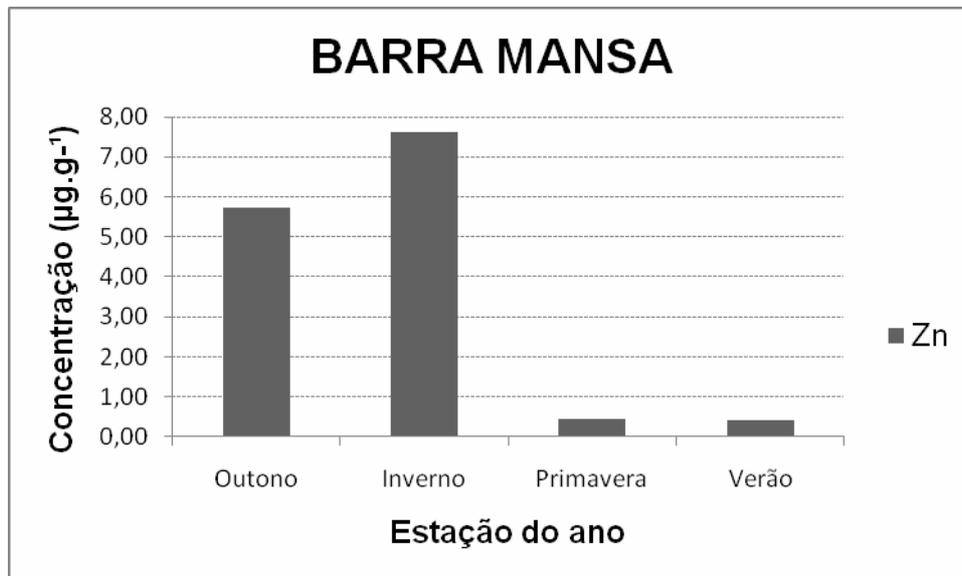
**Figura 36.** Comparação entre as médias das concentrações de Mn encontradas nas amostras de méis coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano.

Desta forma, pode-se sugerir que a contaminação do mel por Mn não deve representar riscos de ordem toxicológica para a população consumidora de mel da região estudada de Barra Mansa.

Em todas as amostras analisadas nas diferentes estações do ano, o Ni esteve presente em apenas uma, e em quantidade bem reduzida ( $0,01 \mu\text{g.g}^{-1}$ ), não indicando a contaminação dos méis por este metal.

O elemento Se foi observado em poucas amostras coletadas no inverno e, a maior concentração registrada, foi  $0,09 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Contudo este elemento tem recebido escassa atenção nas pesquisas em méis. Pode-se destacar os resultados encontrados por Tuzen et al. (2007), que obtiveram uma média de  $0,02 \mu\text{g.g}^{-1}$  em amostras de mel da Turquia. Em estudos brasileiros, não foi registrada a presença deste metal em méis coletados no Piauí (SODRÉ et al., 2007).

O Zn foi observado em maior quantidade nas amostras coletadas no outono e inverno, com concentrações médias de  $5,73$  a  $7,60 \mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente (Figura 37). É mais provável que esta contaminação seja proveniente da utilização de equipamentos de aço galvanizado, do que advindas das alterações climáticas que ocorreram na região.



**Figura 37.** Comparação entre as médias das concentrações de Zn encontradas nas amostras de méis coletados na região de Barra Mansa – RJ, nas quatro estações do ano.

#### 4.8 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DO MUNICÍPIO DE NOVA FRIBURGO – RJ, AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO SUL, NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

Os resultados apresentados na tabela 6 demonstram as médias, desvios padrões, os valores máximos e mínimos de todos os elementos estudados na região sul de Nova Friburgo.

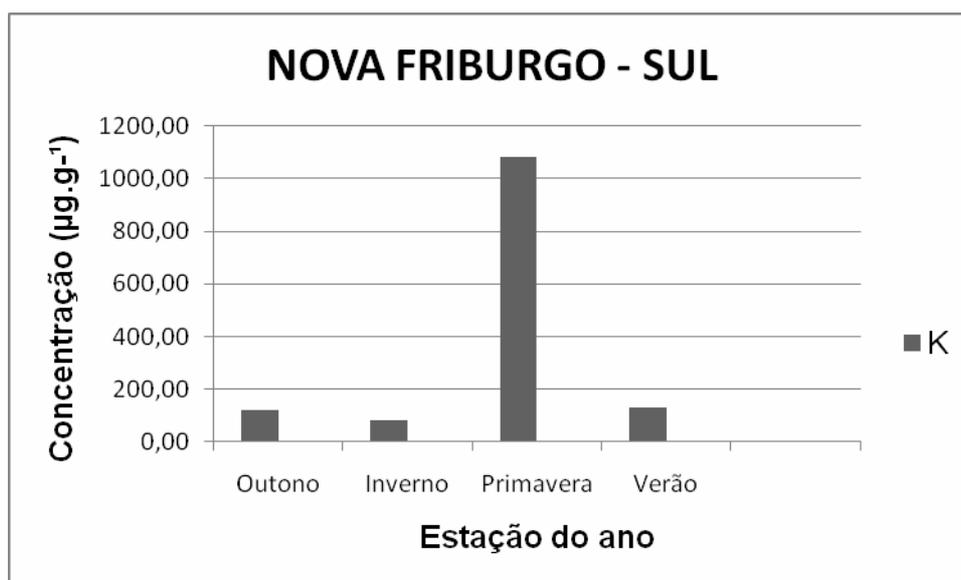
Comparando as concentrações médias de K durante as quatro estações estudadas, foi possível verificar um aumento desproporcional durante a primavera (Figura 38).

Nenhuma espécie de planta apícola floresce ao longo de todos os meses do ano, geralmente se estendendo apenas por períodos de um a três meses. As plantas que florescem na primavera e verão, provavelmente são induzidas a este processo pela presença de dias longos; já as plantas que florescem no outono apresentam como característica a ocorrência de dias mais curtos (BIDWELL, 1974). O fotoperíodo deve influenciar o início do período de florescimento das plantas apícolas discutidas neste trabalho, pois a maioria das espécies é nativa do Estado, onde possivelmente co-evoluíram com as características de fotoperíodo e períodos de flutuação da temperatura. Em relação a este último fator ecológico, possivelmente a temperatura pode também ser um fator importante para desencadear o florescimento destas plantas no Estado.

Este fato pode sugerir uma possível explicação para o aumento de potássio na primavera. Durante o mês de setembro, a temperatura média da região esteve entre 4°C a 21°C, o que dificultou a floração da vegetação. O índice pluviométrico, neste período foi de 198mm, o que gerou uma escassez de alimento para as abelhas. Sendo assim, os apicultores direcionaram a produção para vegetações de sustentação, mais resistentes, isto pode ter gerado este aumento significativo de K na coleta realizada durante o início do mês de outubro de 2008 (primavera), devido à alteração da origem botânica do mel.

Golob et al. (2005) pesquisaram méis da mesma região da Eslovênia, e observaram que apesar de pertencerem a mesma região, possuíam uma quantidade de K muito diferente. Os autores atribuíram esta variação a origem botânica dos méis, chegando a conclusão de que os méis de castanheira possuíam um quantidade muito maior de K.

Em um estudo mais recente, Silva et al. (2009) pesquisaram méis da Província de Luso em Portugal e registraram uma concentração de K que variou de 117,5 a 2590,6  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Estes fatos corroboram com a afirmativa de que esta variação de K nas diferentes estações do ano é decorrente das diferentes origens botânicas dos méis.



**Figura 38.** Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região sul de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano.

O elemento Ti só foi evidenciado nas amostras coletadas no verão, com uma concentração média de 0,03  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Existe uma escassez de dados referente à presença deste mineral no mel. Não foram encontrados, na literatura pesquisada, dados referentes ao nível de Ti em méis nacionais, nem naqueles produzidos fora do Brasil.

Com relação ao elemento Ni, este esteve restrito as amostras coletadas no outono e no inverno e em quantidade bastante reduzida, com concentrações médias variando de 0,01 de 0,03  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Estes resultados foram bem inferiores a legislação brasileira que estabelece a CMP de 5  $\mu\text{g.g}^{-1}$  para alimentos em geral (BRASIL, 1965).

Os baixos teores de Ti e Ni sugerem que o local estudado não apresenta uma contaminação ambiental gerada pela presença destes metais.

O Cr só ultrapassou a CMP para consumo humano (0,10  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) nas amostras coletadas no outono, no qual foi registrado uma concentração média de 0,11  $\mu\text{g.g}^{-1}$

(BRASIL, 1965). Este valor é semelhante ao obtido por Terrab et al. (2005), que registraram uma média de  $0,10 \mu\text{g.g}^{-1}$  para méis de abacate provenientes da Espanha.

As concentrações de manganês variaram de 0,33 a  $0,46 \mu\text{g.g}^{-1}$ , resultado bem inferior ao encontrado por Fredes e Montenegro (2006) em méis chilenos. Neste estudo, os autores relataram um concentração média de  $3,13 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Os resultados obtidos para o Cu nas quatro estações, não apresentaram uma correlação estatisticamente significativa, com um nível de significância de 5%. As concentrações médias variaram de 2,44 a  $12,09 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Estes resultados foram inferiores a  $30 \mu\text{g.g}^{-1}$  que é a CMP para o consumo humano estabelecida pelo Decreto Nº 55.871 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1965). Entretanto, alguns valores foram superiores ao instituído pela Portaria nº685 de 27/08/98, que estabelece como limite máximo de tolerância para este contaminante o valor de  $10 \mu\text{g.g}^{-1}$  (BRASIL, 1998).

Os valores médios de Zn encontrados nos méis de Nova Friburgo (região sul) variaram de  $0,41 \mu\text{g.g}^{-1}$  no verão de 2009 a  $5,25 \mu\text{g.g}^{-1}$  no inverno de 2008. A CMP para Zn estabelecida pela legislação brasileira é de  $50 \mu\text{g.g}^{-1}$  (BRASIL, 1965). Porém, no Brasil não existe orientações sobre níveis aceitáveis de Zn, especialmente para méis. A contaminação por Zn pode ocorrer através de equipamentos em aço galvanizado, muito utilizados para centrifugar os quadros de mel (PARAMÁS et al., 2000).

Diversos autores relatam uma concentração média de Zn bem próxima ao encontrado neste estudo. Yarsan et al. (2007) relataram um valor médio de  $6,24 \mu\text{g.g}^{-1}$  em sete amostras de méis de uma região da Turquia, e em méis de Israel, Dag et al. (2006) que verificaram valores que variaram de 0,8 a  $11,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

#### 4.9 DISTRIBUIÇÃO DOS METAIS NOS MÉIS DO MUNICÍPIO DE NOVA FRIBURGO – RJ, AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO NORTE, NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

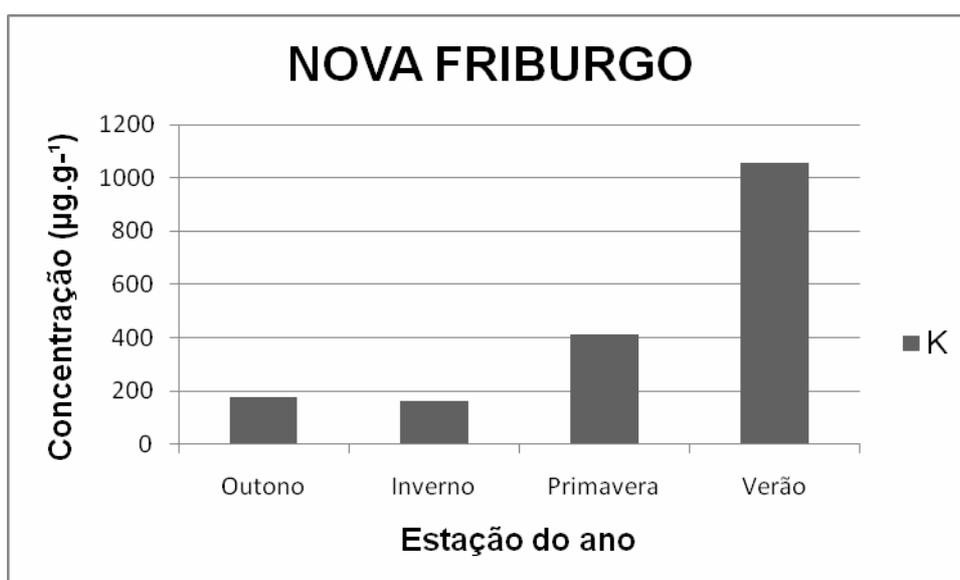
Os resultados apresentados na tabela 7 demonstram as médias, desvios padrões, os valores máximos e mínimos de todos os elementos estudados na região norte de Nova Friburgo.

Os elementos K e Ca se comportaram de maneira esperada durante as estações do ano (Figuras 39 e 40, respectivamente).

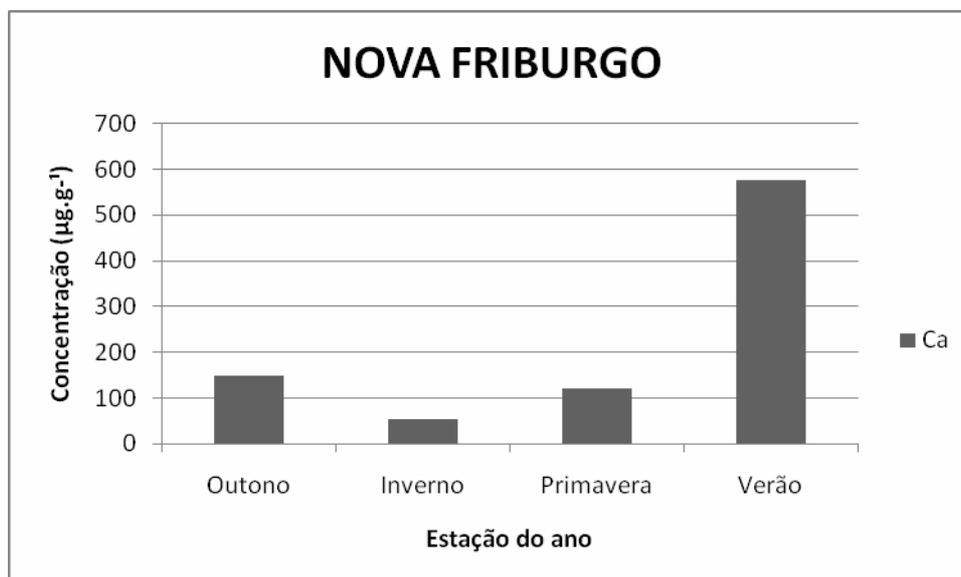
A existência de uma floração maciça (floradas de produção) em determinadas épocas garante a produção de mel, enquanto florações esparsas (floradas de sustentação) e contínuas durante o ano apesar de não permitirem a estocagem de mel, são importantes uma vez que garantem a manutenção das famílias de abelhas neste período. Grandes áreas de monoculturas e de floradas apícolas homogêneas favorecem a apicultura migratória e o agrupamento de um maior número de colméias nos apiários. Já, as áreas de floradas apícolas variadas durante o ano, como o caso da região de Nova Friburgo, favorecem a apicultura fixa e o agrupamento de um número menor de colméias, porém podem proporcionar diversas colheitas durante o ano. Contudo, a intensidade e o período de florescimento dependem dos fatores climáticos de cada região (ITAGIBA, 1997).

Desta forma, esperava-se um aumento significativo da concentração de K e Ca na primavera e no verão (Figuras 39 e 40), devido ao aumento considerável de mel nas colméias, fato explicado pela crescente disponibilidade de alimento no fim da primavera de 2008 e início do verão de 2009.

A maior disponibilidade de méis nas colméias na primavera pode ser explicada pelo fato de que a coleta das amostras da região de Friburgo (região norte) foi realizada no início do mês de Novembro, nesta data o período de excesso de chuvas já havia passado, e as colméias já estavam restabelecidas.



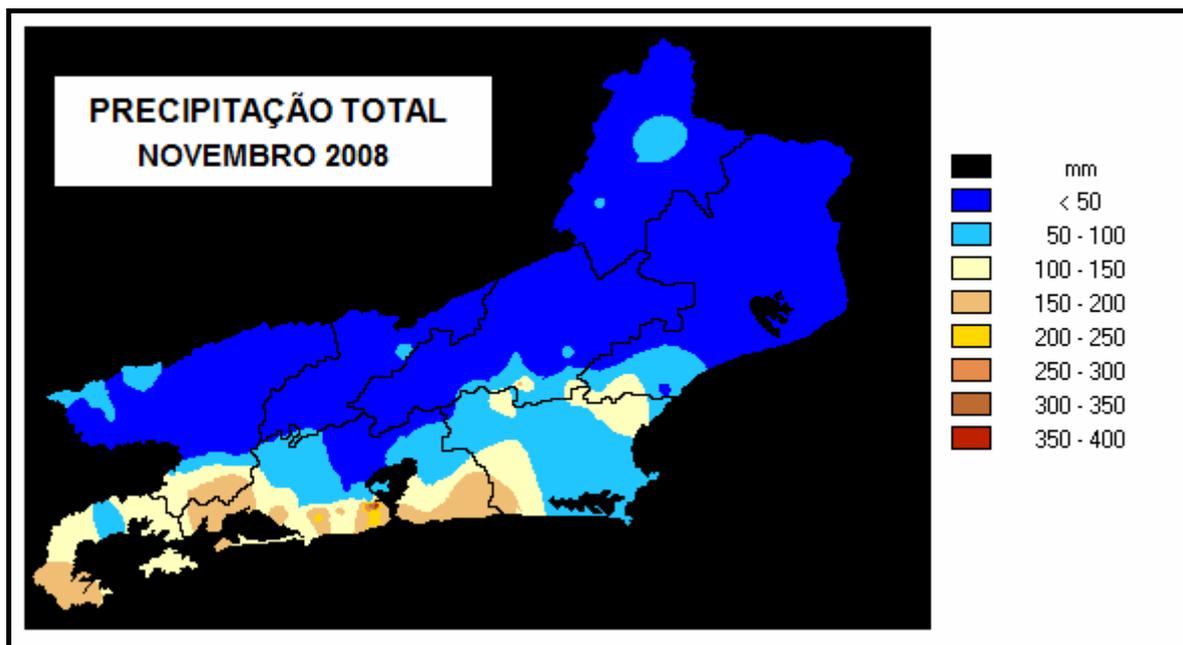
**Figura 39.** Comparação entre as médias das concentrações de K encontradas nas amostras de méis coletados na região norte de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano.



**Figura 40.** Comparação entre as médias das concentrações de Ca encontradas nas amostras de méis coletados na região norte de Nova Friburgo – RJ, nas quatro estações do ano.

González-Miret et al. (2005) estudaram 77 amostras de méis de diversas origens botânicas, a fim de verificar a correlação entre cor e a composição mineral dos méis. Nesta pesquisa, os autores quantificaram 18 elementos traço para cada amostra de mel. Os resultados obtidos demonstraram uma correlação significativa entre os méis de cor escura e os metais S, Ca, Fe, As, Pb e Cd. Por outro lado, os méis de cor clara mostraram uma menor correlação com o conteúdo mineral do mel. Vale ressaltar que os autores relataram uma variação no teor de Ca de 47,51 a 102,46  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , para os diversos tipos de méis estudados. Para o K a variação foi de 325,87 a 1130,18  $\mu\text{g.g}^{-1}$ .

Nesta pesquisa, na região norte de Nova Friburgo, o limite máximo de Cr permitido pela legislação foi ultrapassado em algumas amostras coletadas no inverno e verão, apresentando um valor máximo de 0,19  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e 0,27  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente. Entretanto, as concentrações médias nas quatro estações não excederam este limite.



**Figura 41.** Índice pluviométrico registrado no estado do Rio de Janeiro no mês de novembro 2008. (Fontes: INMET e SIMERJ, 2008)

Os elementos Ni, Cu, Br, Se e Sr, foram detectados nas amostras coletadas nesta região, contudo em quantidades diminutas. As maiores concentrações médias foram registradas durante o verão de 2009, o que possivelmente pode estar relacionado com o aumento da oferta de alimento para as abelhas, assim como, pelos índices pluviométricos registrados durante os meses de janeiro a março, que variaram de 153mm a 236mm (Figura 41), estando abaixo do esperado para este período. O alto índice pluviométrico anual (2240mm) registrado na região e a remoção da cobertura vegetal natural podem ter gerado uma perda dos metais por lixiviação, diminuído desta forma, a concentração de alguns elementos, durante as outras estações estudadas.

O Zn esteve presente em todas as estações do ano, com concentrações médias variando de 0,89 a 5,82  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Assim como foi explicado anteriormente, a contaminação por este metal pode ser decorrente a utilização de equipamentos de aço galvanizado no processamento das amostras.

#### 4.10 COMPRAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE METAIS NAS REGIÕES DE TERESÓPOLIS, NOVA FRIBURGO E BARRA MANSA

Os resultados apresentados na tabela 8 demonstram as médias, desvios padrões, os valores máximos e mínimos de todos os elementos estudados nas regiões de Teresópolis, Nova Friburgo (região sul), Nova Friburgo (região norte) e Barra Mansa.

Comparando as concentrações médias de K e Ca nas regiões supracitadas, evidenciou-se que os metais se comportaram de maneira similar nas regiões de Teresópolis e Nova Friburgo (região sul), diferindo estatisticamente apenas nas regiões de Nova Friburgo (região norte) e Barra Mansa. Este resultado era esperado devido às diferentes origens botânicas dos méis, característico de cada local.

De acordo com Itagiba (1997), a secreção de néctar no Brasil provém principalmente de plantas nativas, cultivadas e de essências florestais. A intensidade e o período de florescimento dependem dos fatores climáticos de cada região, e a secreção de néctar e liberação de pólen também podem variar de uma região para outra. Por isso, uma planta pode ser considerada de grande valor apícola, sendo muito visitada pelas abelhas em uma região, e em outra região esta mesma planta pode não apresentar expressão apícola.

Os metais Ti, Cr, Ni, Cu, Zn, Se e Sr, se apresentaram de maneira homogênea nas quatro regiões estudadas, não diferindo estatisticamente com um nível de significância de 5%. Estes dados caracterizam o baixo nível de contaminação das regiões estudadas.

Com relação ao manganês, este apresentou uma correlação estatisticamente significativa entre as médias do elemento, com um nível de significância de 5%, nas quatro estações estudadas. Na região de Teresópolis foram registradas as maiores concentrações, fato este possivelmente justificado, por ser um município voltado principalmente para a produção agrícola, fazendo parte do cinturão verde do Rio de Janeiro. Para tal, são utilizadas substâncias químicas na agricultura, visando uma maior produção de hortifrutigranjeiros, o que pode gerar um aumento significativo do metal Mn nas amostras estudadas.

Apesar de estar presente, não foram registradas grandes concentrações de Mn nas amostras, não devendo representar riscos a saúde do consumidor.

O Bromo foi observado nas quatro regiões estudadas, contudo o menor índice registrado foi na região de Barra Mansa. Uma das explicações para esta observação pode ser a diferença das principais atividades desempenhadas nos municípios. Teresópolis e Nova Friburgo, são municípios que possuem uma tradição agrícola, diferindo de Barra Mansa, que possui um parque industrial forte e diversificado.

O bromo molecular é empregado na fabricação de uma ampla variedade de compostos de bromo, usados na indústria e na agricultura (INFOPÉDIA, 2009). Entretanto, observando os resultados obtidos na região de Barra Mansa foi possível verificar que as amostras da região são livres de contaminações que possam levar a um risco a saúde de consumidor. Esta situação demonstra que apesar da proximidade com um grande parque industrial de Barra Mansa, o local de coleta sugere ausência de contaminação, quando usado o mel como bioindicador.

Por outro lado, a região de Teresópolis e Nova Friburgo que possuem uma tradição agrícola, apresentaram uma concentração maior de determinados contaminantes, como o Bromo.

Atualmente o desenvolvimento da apicultura está cada vez mais dependente das culturas agrícolas e florestais, nas quais, em alguns casos, são utilizados contaminantes químicos de maneira inadequada (EUROPEAN COMMUNITY, 2000). Esta situação é decorrente da produção de mel oriundo de floradas silvestres estar se tornando cada vez mais escassa no Brasil e no mundo (RISSATO, 2006).

## 5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Os resultados obtidos com a realização deste trabalho levaram a uma série de considerações importantes, quanto à técnica empregada, as diferenças sazonais ocorridas em função da quantidade de metais presentes nas amostras e quanto aos futuros trabalhos que poderão ser desenvolvidos a partir deste estudo.

A técnica de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total mostrou-se eficiente na determinação das concentrações multielementares em amostras de méis. O método utilizado apresenta vantagens fundamentais para obtenção de resultados fidedignos, tais como a manipulação mínima das amostras, que é uma grande vantagem quando se trata de rastreamento de elementos traço.

O método de incineração das amostras juntamente com TXRF mostrou-se de simples execução e, principalmente, rápido e eficaz, pois tem requisitos mínimos de reagentes, e podem ser usados para detectar possíveis poluentes presentes nas amostras, mesmo que em pequenas quantidades.

A metodologia analítica utilizada pode ser largamente explorada com diferentes objetivos, tais como no controle de qualidade dos méis, através da avaliação do perfil dos metais, verificando se estes podem gerar um risco para consumo humano, ou ainda para averiguar o potencial do mel como bioindicador de possível contaminação regional.

Os resultados obtidos evidenciaram uma correlação positiva entre os metais K, Ca, Mn, Fe, Zn, Br e Sr e a estação do ano, pois se comportaram de maneiras distintas nas diferentes estações do ano, mesmo sendo provenientes da mesma região e estando sujeitos aos mesmos tipos de influências do meio. Este fato revela

uma provável Influência climática, assim como a composição do solo e da vegetação local, juntamente com a possível contaminação do material pós-colheita.

A possível contaminação por metais traço durante a colheita, processamento e envase não foi estudada, entretanto alguns elementos foram suspeitos de estarem vinculados a contaminação dos méis.

Sendo assim, sugere-se novas pesquisas com objetivo de determinar a origem dos contaminantes nos méis. Para tal seria necessária a coleta de novas amostras de méis, juntamente com o solo e água da região.

Poucas amostras estudadas foram completamente isentas de contaminantes. Sendo que alguns destes contaminantes ultrapassaram os limites permitidos pela legislação vigente. Esta última afirmação foi realidade, mesmo que em uma pequena parcela das amostras, o que demonstra a boa qualidade dos méis analisados. Entretanto, o mel tem sido considerado, ao longo dos anos, um dos alimentos menos contaminados, talvez este fato esteja relacionado com as escassas pesquisas sobre o tema.

As concentrações dos metais analisados nos méis não devem representar, em curto prazo, riscos a saúde do consumidor destes produtos, salvo episódios extremos para alguns metais, devido ao consumo diário e excessivo de méis de uma mesma região contaminada.

Contudo, a presença de alguns metais indicou que o mel pode ser útil para avaliar a presença de contaminantes ambientais, podendo assim, ser considerado um bioindicador de contaminação ambiental, capaz de ser utilizado para monitorar uma determinada região, assim como para prevenir futuros problemas devido à emissão de metais no ambiente.

Foi possível concluir também que as amostras provenientes do município de Barra Mansa apresentaram os menores índices de contaminantes. Sendo assim, apesar da proximidade com a maior usina siderúrgica da América Latina, a região não apresenta uma contaminação ambiental significativa.

O conteúdo mineral no mel mostrou-se eficaz para verificar o possível grau de poluição ambiental, como também demonstrou ser um potencial indicador da origem geográfica dos méis.

A partir dos resultados obtidos, sugere-se um estudo mais aprofundado dos elementos K, Ca, Ti, Mn, Br, e Sr para posterior inclusão dos mesmos na legislação

brasileira, uma vez que estes metais exercem grande influência na qualidade do produto.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEMEL. Associação Brasileira de Exportadores de Mel, 2006. Disponível em: <<http://www.abemel.com.br>>. Acesso em: 29 de out. de 2009.

ALI, S. A.; GROTI, A.; RISCALA, C. M. O níquel e suas ações sobre o organismo humano. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 62, n.2, p.85-96, 1987.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C., DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis-RJ. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas: v.19, n.1, p.3-7, 1999.

BARCELOUX, D. G. Nickel. *Clinical Toxicology*, v.37, n.2, p. 239-258, 1999.

BARTH, O. M. Análise Polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. *Mensagem Doce* nº. 81. Maio 2005. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/>> Acesso em: 23 ago. 2009.

BASTOS, E. M. A. F.; MAGALHÃES, M. S. Indicação de pontos críticos de controle na cadeia apícola. *Mensagem Doce*, n.99, nov. 2008.

BERTELLI, D.; PLESSI, M.; SABATINI, A.G.; LOLLI, M.; GRILLENZONI, F. Classification of Italian honeys by mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy (DRIFTS). *Food Chemistry*, v. 101, n. 4, p.1565-1570, 2007.

BIDWELL, R. G. S. Plant physiology. Macmillan Publishing Co., Inc. New York. 643p, 1974.

BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. *Apidologie*, v. 37, p.1–18, 2006.

BOGDANOV, S.; IMDORF, A; CHARRIERE, J.; FLURI, P.; KILCHENMANN, V. The contaminants of the bee colony. *Swiss Bee Research Centre*. Bern, Switzerland, 2003.12 p.

BRANCO, S. M. *Passeio por Dentro da Terra*. São Paulo: Moderna, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente as normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº691, de 13 de março de 1962. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 09 abr. 1965.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. Métodos Físicos e Químicos. Brasília, DF: 1981.

\_\_\_\_\_. Portaria nº11, de 15 de maio de 1987. Determina o limite máximo de tolerância de Cromo no produto a ser consumido que não representa risco a saúde. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 20 mai. 1987.

\_\_\_\_\_. Portaria nº685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento Técnico: “Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos” e seu anexo: “Limites máximos de tolerâncias para contaminantes inorgânicos”. Área de atuação MERCOSUL. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 27 ago. 1998.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº42 de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 22 dez. 1999.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº11 de 20 de outubro de 2000. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Mel*. Brasília, DF, 20 out. 2000.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº269, de 22 de outubro de 2005. Regulamento Técnico Sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 22 set. 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº14 de 25 de maio de 2009. Aprova os Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado para o exercício de 2009 e seu anexo: “Programa de Controle de Resíduos e Contaminantes em Mel – PNCRC/2009”. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 28 maio 2009.

BULDINI, P. L.; CAVALLI, S.; MEVOLI, A.; JAWAHAR, L. S. Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey. *Food Chemistry*, v.73, p.487–495, 2001.

CAMPOS, G. et al. Substâncias voláteis em mel floral e mel de melato. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.20, n.1, p.18-22, abr. 2000.

CARVALHO, C.; ALVES, R. M. de O.; SOUZA, B. A. *Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos*. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, p. 42, 2003.

CBA – CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE APICULTURA. Brasil Apícola. Estatística de produção e comercialização. Disponível em: <<http://www.brasilapicola.com.br/brasil-apicola>>. Acesso em: 15 nov. 2009.

CDCC-USP. Centro de Divulgação Científica e Cultural – Universidade de São Paulo. Disponível em <<http://www.cdcc.sc.usp.br/elementos/>>. Acesso em: 3 jul. 2009.

CELIK, U.; OEHLENSCHLAGER, J. High contents of cadmium, lead, zinc and copper in popular fisher products sold in Turkish supermarkets. *Food Control*, v.18, p.258-261, 2007.

CELLI, G.; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, v. 56, n. 1, p.137-139, 2003.

CHAN, S.; GERSON, B.; SUBRAMANIAM, S. The role of copper, molybdenum, selenium and zinc in nutrition and health. *Clinics in Laboratory Medicine*, v. 18, n.4, p. 678-685, 1998.

CHAPMAN, P. M. Selenium – A potential time bomb or just another contaminant? *Human and Ecological Risk Assessment*, v. 5, n.6, p. 1123-1138, 1999.

CHATTERJEE, A; BHARRACHARYA, B. Temporal and organspecific variability of selenium in marine organisms from the eastern coast of India. *Advances in Environmental Research*, v. 5, p. 167-174, 2001

CODEX STANDARD FOR HONEY. Revised codex standard for honey. Codex stan 12 - 1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001). Disponível em: <<http://www.ipfsaph.org/id/codexCodexstan12>>. Acesso em: 20 setembro de 2009.

COELHO, F. S. *Fertilidade do solo*. 2. Ed. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 384p, 1973.

CONTI, M. E. Lazio region (central Italy) honeys: A survey of mineral content and typical quality parameters. *Food Control*, v.11, p.459–463, 2000.

CONTI, M. E., BOTRÈ, F. Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.69, p. 267–282, 2001.

COSTA, L. S. M. ALBUQUERQUE M. L. S.; TRUGO L. C.; QUINTEIRO L. M. C.; BARTH O. M.; RIBEIRO M.; DE MARIA C. A. B. Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. *Food Chemistry*, v.65, p.347-352, 1999.

COULTATE, P. *Alimentos e química de seus componentes*. 3.ed. Porto Alegre: Aarmed, 2004. 368p.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. *Apicultura: manejo e produtos*, 2 ed. Jaboticabal, FUNEP, 191p, 2002.

CRANE, Eva. *O livro do mel*. São Paulo: Nobel, 1979.

CRANE, Eva. *O livro do mel*. São Paulo: Nobel, 1983.

DAG, A., AFIK, O.; YESELSON, Y.; SCHAFFER, A.; SHAFIR, S. Physical, chemical and palynological characterization of avocado (*Persea americana* Mill.) honey in Israel. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 41, p. 387–394, 2006.

DEMIREZEN, D.; URUC, K. Comparative study of trace elements in certain fish, meat and meat products. *Meat Science*, v.74, n.2, p.255-260, 2006.

DESER. Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais. Secretaria da Agricultura Familiar. *Monitoramento da Conjuntura de Mercado das Principais Cadeias Produtivas Brasileiras – Estudo Exploratório 04*. p.13; Abr. 2005. 16 p.

DUARTE, R. S.; PASQUAL, A. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. *Energia na Agricultura*, v. 15, n.1, p.46-58, 2000.

EMBRAPA MEIO-NORTE: Sistema de Produção, 3 ISSN 1678-8818 Versão Eletrônica. Jul.2003

ENRICH, C.; BOEYKENS, S.; CARACCIOLO, N.; CUSTO, G.; VÁZQUEZ, C. Honey characterization by total reflection x-ray fluorescence: evaluation of environmental quality and risk for the human health. *X-Ray Spectrometry*, v. 36, p.215–220, 2007.

EUROPEAN COMMUNITY; Brussels (2000) EC Council Directive 90/642/EEC of November 27, 2000, *Official Journal of European Communities*, L350, 0071, 2000.

EVANGELISTA, J. *Alimentos um estudo abrangente. Nutrição, utilização de alimentos especiais e irradiações coadjuvantes*. São Paulo:Atheneu, 1994. p. 287-307.

FAO. Food and Agricultural Organization. Compilation of Limits for hazardous substances in fish and fishery products. 1983. Disponível em <<http://193.191.134.12/afriblib/user/show/user/show/4708>>. Acesso em: 1dez. 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization. Tropical and sub-tropical apiculture. Roma: 1986. 283p. (FAO Agricultural Services Bulletin, 68).

FERNÁNDEZ-TORRES, R.; PÉREZ-BERNAL, J. L.; BELLO-LÓPEZ, M. A.; CALLEJÓN-MOCHÓN, M.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, J. C.; GUIRAÚM-PÉREZ, A. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta*, v.65, p.686–691, 2005.

FRANCO, G. *Tabela de Composição Química dos Alimentos*. 9. Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 307p.

FREDES, C.; MONTENEGRO, G. Contenidos de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abejas en Chile. *Revista Ciencia e Investigación Agraria*, v.33, n.1, p. 57-66, 2006.

- GOLOB, T.; DOBERSEK, U.; KUMP, P.; NECEMER, M. Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 91, n.4, p.593-600, 2005.
- GOLOB, T.; PLESTENJAK, A.; DOBERSEK U.; KUMP, P.; NECEMER, M. Quality of Slovene honey. *Food technology and Biotechnology*, v.37, n.3, 195–201. 1999.
- GONÇALVES, J. E. L. As empresas são grandes coleções de processos. In: RAE - Revista de Administração de Empresas, v. 40, n.1, p.6-9, jan./mar. 2000.
- GONÇALVES, L. S. Perspectivas da exploração da apicultura com abelhas africanizadas no contexto apícola mundial. In: XIII-CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Florianópolis, 2000.
- GONDIM, A. O salto do mel: Em 50 anos de abelhas africanizadas, o Brasil passou da 27ª para a 5ª posição no ranking mundial de exportação de mel. Estima-se que 350 mil pessoas participem da cadeia produtiva. *Revista SEBRAE Agronegócios*, n. 3, p.10-11, 2006.
- GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; TERRAB, A.; HERNANZ, D.; FERNÁNDEZ-RECAMALES, M. A.; HEREDIA, F. J. Multivariate Correlation between Color and Mineral Composition of Honeys and by Their Botanical Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p. 2574-2580, 2005.
- GOOGLE EARTH. Nova Friburgo,RJ. Disponível em: <<http://www.googleearth.com>>. Acesso em: 10 abr. 2009.
- \_\_\_\_\_. Teresópolis,RJ. Disponível em: <<http://www.googleearth.com>>. Acesso em: 10 abr. 2009.
- GOOGLE. Barra Mansa,RJ. Disponível em: < <http://www.googlemaps.com>>. Acesso em: 10 abr. 2009.
- GUNTHER, W. M. R. Contaminação ambiental por disposição inadequada de resíduos industriais contendo metais pesados: estudo de caso. São Paulo, 1998. 129 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- HEIN, M. S. Cooper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxity: a case report. *South Dakota Journal of Medicine*, v. 56, n.4, p143-147, 2003.
- HERNANDEZ, O. M.; FRAGA, J. M. G.; JIMENEZ, A. I.; JIMENEZ, F.; ARIAS, J. J. Characterization of honey from the Canary Islands: Determination of the mineral content by atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v.93, p.449–458, 2005.
- INFOPÉDIA. *Bromo* [Em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2009. Disponível na <URL: [http://www.infopedia.pt/\\$bromo](http://www.infopedia.pt/$bromo)>.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Análise das capitais (RJ). 2008.

IOANNIDOU, M. D.; ZACHARIADIS, G. A.; ANTHEMIDIS, A. N.; STRATIS, J. A. Direct determination of toxic trace metals in honey and sugars using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Talanta*, v.65, p.92–97, 2005.

ITAGIBA, de M. da G. O. R. Noções básicas sobre a criação de abelhas. Nobel. São Paulo. 104-5, 1997.

KHUDER, A.; AHMAD, M.; HASAN, R.; SAOUR, G. Improvement of X-ray fluorescence sensitivity by dry ashing method for elemental analysis of bee honey. *Microchemical Journal*, In Press, Corrected Proof, Available online, 11 Nov. 2009.

KING, J. C.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE, L. Zinc homeostasis in humans. *Journal of Nutrition*, v. 130, n. 5, p.1360-1366, 2000. Suplemento.

KLOCKENKÄMPER, R; VON BOHLEN, A. Total-reflection X-ray fluorescence moving towards nanoanalysis: a survey. *Spectrochimica Acta*, Part B, v.56, p.2005-2018, 2001.

LACHMAN, J. D.; KOLIHOVÁ, D.; MIHOLOVÁ, J.; KOŠATA, D.; TITERA, K Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, v.101, n.3, p.973-979, 2007.

LAJOLO, F.M. As deficiências da composição de alimentos no Brasil. *In:Anais, Simpósio das Instituições Brasileiras de Alimentação e Nutrição*. p. 2-5, 1995.

LARINI, L. Toxicologia. 3 ed. São Paulo: Manole, 1997. 300p.

LEAL, V. M.; SILVA, M. H.; JESUS, N. M. Aspecto físico-químico do mel de abelhas comercializado no município de Salvador- Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.1, n.1, p.14-18, 2001.

LEGLER, S. Inspeção e controle de qualidade do mel. 2000. 34p. Disponível em: <[http://www.sebraern.com.br/apicultura/inspeção\\_mel.doc](http://www.sebraern.com.br/apicultura/inspeção_mel.doc)>. Acesso em: set. 2009.

LILL, J.O.; HARJU, L.; SAARELA, K.E.; LINDROOS, A.; HESELIUS, S. J. Increased sensitivity in thick-target particle induced X-ray emission analyses using dry ashing for preconcentration, *Analytica Chimica Acta*, v.378, p. 273–278, 1999.

LIMA, I. V.; PEDROZO, M. F. M. *Ecotoxicologia do cobre e seus compostos*. Salvador: Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001a. 128p. 2v. (Séries Caderno de Referências Ambientais). Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas>>. Acesso em: 11 set. 2009.

MACEDO, E. ACIAP Barra Mansa comemora 75 anos. *A voz da cidade*, Rio de Janeiro, 30 setembro 2008.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do Zinco na nutrição humana: recentes observações. *Revista de Nutrição*, Campinas-SP, v.17, n.1, p.79-87, 2004.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis*

*mellifera* L. no Estado de São Paulo. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.25, n.1, p.8-17, mar. 2005.

MARCHINI, L.; SOUZA, B. A. Características físico-químicas de amostras de méis da abelha uruçú (*Melipona scutellaris*). In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, BA, 1998.

MARTINS, I; LIMA, I. V. Ecotoxicologia do manganês e seus compostos. Salvador: Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001. 121p. 7v. (Séries Caderno de Referências Ambientais). Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas>>. Acesso em: 15 set. 2009.

MASSON, B. *Cadernos de Vida Natural: o mel*. São Paulo: Global editora e distribuidora LTDA, 1984.

MISTRA, N.L.; SINGH MUDHER, K.D. Total reflection X-ray fluorescence: a technique for trace element analysis in materials. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, v.45, p. 65–74, 2002.

MORAES, L. M. B. *Utilização de duas variantes da Fluorescência de Raios X (EDXRF e TXRF) na determinação de chumbo em águas e sedimentos*. Piracicaba, 2004. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear da Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MUNIZ, D. H. F.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos deletérios sobre a saúde e meio ambiente. *Universitas: Ciências da Saúde*, v.4, n. ½, p.83-100, 2006.

NALDA, M. J.; YAGÜE, J. L.; CALVA, J. C.; GÓMEZ, M. T. Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.382, p.311–319, 2005.

NALDA, V.; SARKAR, B. C.; SHARMA, H. K.; BAWA, A. S. Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.16, p.613–619, 2003.

NASCIMETO FILHO, V. F.; POBLETE, V. H.; PARREIRA, P. S.; MATSUMOTO, E.S.; SIMABUCO, M.E.; ESPINOZA, P.; NAVARRO, A. A. Limits of detection of a total reflection x-ray fluorescence system with double reflection module. *Biological Trace Element Research*, v.71, p.423-430, 1999.

NECEMER, M.; KOSIR, I. J.; KUMP, P.; KROPF, U.; JAMNIK, M.; BERTONCELJ, J.; OGRINC, N.; GOLOB, T. Application of Total Reflection X-ray Spectrometry in Combination with Chemometric Methods for Determination of the Botanical Origin of Slovenian Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.57, p. 4409–4414, 2009.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. *Fundamentos de toxicologia*. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 690p.

OLIVEIRA, J. P. Níquel. In: AZEVEDO, A.; CHASIN, A. A. M. *Metais: gerenciamento da toxicidade*, São Paulo: Atheneu, 2003. 554p. p. 127-142.

- ÖZCAN, M.; ARSLAN, D., CEYLAN, D. A. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*, v.99, p. 24–29, 2006.
- PARAMÁS, A. M. G.; BÁREZ, J. A. G.; GARCIA-VILLANOVA, R. J.; PÁLA, R. T. ALBAJAR, R. A.; SÁNCHEZ, J. S. Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p.157-165, 2000.
- PAUSTENBACH, D.; FINLEY, B; MOWAT, F; KERGER, B. Human Health Risk and Exposure Assessment of Chromium (VI) in Tap Water. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v.66, n.16 – 19, p.1295 – 1339, set. 2003.
- PMBM - PREFEITURA MUNICIPAL DE BARRA MANSA. A Cidade de Barra Mansa, RJ. Aspectos Geográficos. Disponível em <[http://www.prefeituradebarramansa.com.br/pmbm/web/page/aspectos\\_geograficos.asp](http://www.prefeituradebarramansa.com.br/pmbm/web/page/aspectos_geograficos.asp)>. Acesso em: 4 jul. 2009.
- PMNF - PREFEITURA MUNICIPAL DE NOVA FRIBURGO. Cidade de Nova Friburgo, RJ. Dados Gerais. Disponível em: <<http://www.pmnf.org.br>>. Acesso em: 17 out. 2009.
- PORRINI, C.; SABATINI, A. G; GIROTTI, S.; GHINI, S.; MEDRZYCKI, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L.; GATTAVECCHIA, E.; CELLI, G. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *Apiacta*, v38, p.63–70, 2003.
- PROCHNOW, E. A.; PROCHNOW, T. R.; CAMARGO, L.R. Chromiun circulation between biotic and abiotic compartments with sign of bioindication in a non-changed peatland locaded in Guaíba, RS, Brazil. *Acta Scientiae*, v. 7, n.2, p.41-49, jul./dez. 2005.
- QXAS. Quantitative X ray Analysis System. Software package for International Atomic Energy Agency. Vienna.
- RASHED, M. N., SOLTAN, M. E. Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 17, p.725–735, 2004.
- RDA. Recommended dietary allowance. 10.ed. Washington, D. C.: National Academic Press, 1989. 302p.
- RISSATO, S. R.; GALHIANE, M. S.; KNOLL, F. R. N.; ANDRADE, R. M. B. DE & ALMEIDA, M. V. Método multirresíduo para monitoramento de contaminação ambiental de pesticidas na região de Bauru (SP) usando mel como biondicador. *Química Nova*, v. 29, n.5, p.950-955, 2006.
- ROCHA, A.A.; PEREIRA, D.N.; PADUA, H.B. Produtos de pesca e contaminates químicos na água da represa Billings, São Paulo (Brasil). *Revista Saúde Pública*, v.19, n.3, p.401-410, 1985.
- ROSSI, N. F.; MARTINELLI, L.; LACERDA, T. H. M.; CAMARGO, P. B.; VICTÓRIA, R. L. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a

composição isotópica de carbono. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas: v. 19, n. 2, p. 1-16, 1999.

SANTOS, J. S.; SANTOS, N. S.; SANTOS, N. L. P.; SANTOS, S. N.; LACERDA, J. J. J. Honey classification from semi-arid, Atlantic and transitional forest zones in Bahia, Brazil. *Journal Brazilian Chemistry Society*, v. 19, n. 3, p.502-508, 2008.

SAS Institute. SAS® User's Guide: SAS Institute Inc. Cary, 1999. CR-ROM.

SEBRAE. Serviço de Apoio as Micro e Pequenas Empresas. Informações de Mercado sobre Mel e Derivados da Colméia. Sumário Executivo. Série Mercado, 2006. Disponível em <<http://www.apis.sebrae.com.br/>>. Acesso em 14 jan. 2008.

SEBRAE/CE. Serviço de Apoio as Micro e Pequenas Empresas do Estado do Ceará: *Projeto Apis, apicultura integrada e sustentável*, Jan. 2005.

SECEX. SECRETARIA DE COMÉRCIO EXTERIOR. Comércio exterior. Indicadores e estatísticas. Disponível em <<http://www2.desenvolvimento.gov.br/sitio/secex/depPlaDesComExterior/indEstatisticas/balComercial.php>> Acesso em 12 de jun. 2009.

SEIXAS, T. G; KERING, H. A. O selênio no meio ambiente. *Oecologia Braziliensis*, Guanabara/RJ. *Química Nova*, v.30, n.3. p. 554-559, 2007.

SERRANO, R. B.; VILLANUEVA, M. T. O.; MARQUINA, A. D. La miel - Edulcorante natural por excelência. *Alimentaria*, n. 253, p.25-35, 1994.

SILVA, C. S. Cromo. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. *Metais: gerenciamento da Toxicidade*. São Paulo: Atheneu, 2003. 554p, cap.2, p. 35-65.

SILVA, L. R.; VIDEIRA, R.; MONTEIRO, A. P.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, v.93, p.73-77, 2009.

SIMABUCO, S. M. *Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF)*. 2000. 114f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

SIMERJ. Sistema de Meteorologia do Estado do Rio de Janeiro. Boletim meteorológico. Jan – nov, 2008.

SIMERJ. Sistema de Meteorologia do Estado do Rio de Janeiro. Boletim meteorológico. Jan – maio, 2009.

SIQUEIRA, E. M. A.; ALMEIDA, S. G.; ARRUDA, A. Papel adverso do ferro no organismo. *Comunicação em Ciência da Saúde*, v.17, n.3, p.229-236, 2006.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ZUCCHI, O. L. A. D., NASCIMENTO FILHO, V. F.; OTSUK, I. P.; MORETI, A. C. C. C. Determination Of Chemical Elements In Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Honey Samples From The State Of Piau, Brazil. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p.920-924, 2007.

SOUZA, B.A.; MARCHINI, L.C.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R.M.O. Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae:Meliponini) da região Nordeste do Brasil: Características físico-químicas. *Química Nova*, v.32, n.2, p.303-308, 2009.

SOUZA, D. C. Adequando a Apicultura brasileira para o Mercado Internacional. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 2006. Aracajú: Confederação Brasileira de Apicultura, 2006. 16º Congresso Brasileiro de Apicultura. CD-ROM.

STANKOVSKA, E.; STAFILOV, T.; ŠAJN, R. Monitoring of trace elements in honey from the Republic of Macedonia by atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.142, p.117–126, 2008.

TERESÓPOLIS. Prefeitura da cidade de Teresópolis, RJ. A cidade. Dados econômicos e sociais. Disponível em: <<http://www.teresopolis.rj.gov.br>>. Acesso em: 19 out. 2009.

TERRAB, A.; RECAMALES, A. F.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Contribution to the study of avocado honeys by their mineral contents using inductively coupled plasma. *Food Chemistry*, v.92, p.305–309, 2005.

TERRAB, A.; RECAMALES, A. F.; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. J. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of minerals in thyme honeys and their contribution to geographical discrimination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, p.3441–3445, 2004.

TUZEN, M.; SILICI, S.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, v.103, p.325–330, 2007.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M., MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. *Food Chemistry*, v.104, n.2, p.835-840, 2007.

VIAS, P.; LOPEZ-GARCIA, I.; LANZÓN, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Direct Determination of Lead, Cadmium, Zinc, and Copper in Honey by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry using Hydrogen Peroxide as a Matrix Modifier. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, v.45, n.10, p.3952-3956, 1997.

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

VIEIRA, A.; RESENDE, R. Rede Apis – elos integrados para uma apicultura sustentável. *Revista Sebrae Agronegócio*, n.3, p. 6-7, 2006.

WHO. World Health Organization. Environmental Health Criteria 17: Manganese. Geneva: WHO, 1981.

WIESE, H. *Novo manual de apicultura*. Guaíba: Agropecuária, 1995. 292p.

YARSAN, E.; KARACAL, F.; IBRAHIM, I.; DIKMEN, B.; KOKSAL, A.; DAS, Y.  
Contents of Some Metals in Honeys from Different Regions in Turkey. *Bulletin of  
Environmental Contamination and Toxicology*, v. 79, n.3, p. 255-258, 2007.