

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO  
FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS  
SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ

Autora: Rejane Stubs Parpinelli  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril-2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO  
FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS  
SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ

Autora: Rejane Stubs Parpinelli  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo  
Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Josiane Sereia

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril-2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

P257q Parpinelli, Rejane Stubs  
Qualidade microbiológica e caracterização físico-química de amostras de mel de abelhas sem ferrão de seis regiões do estado do Paraná / . -- Maringá, 2016.  
81 f. : il. ,color., figs. , tabs.

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2016.

1. Produção animal. 2. Abelhas sem ferrão - Qualidade de mel. 3. Análise microbiológica. 4. Análise físico-química. I. Parpinelli, Rejane Stubs, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 22. ED.638.1  
JLM000187



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

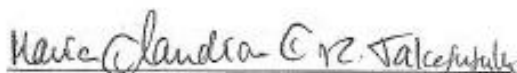
**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO  
FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE  
ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES  
DO ESTADO DO PARANÁ**

Autora: Rejane Stubs Parpinelli

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

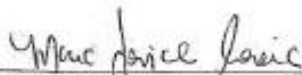
APROVADA em 25 de abril de 2016.



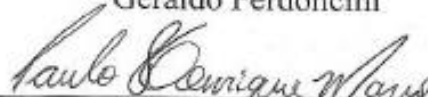
Profª Drª Maria Cláudia Colla  
Ruvolo Takasusuki




Profª Drª Márcia Regina Ferreira  
Geraldo Perdoncini



Profª Drª Maria Josiane Sereia



Prof. Dr. Paulo Henrique Março

  
Prof. Dr. Vagner de Alencar  
Arnaud de Toledo  
(Orientador)

A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original

*Albert Einstein*

Aos meus pais, **Jair Parpinelli e Doralice Stubs Parpinelli** (*in memorian*).

À minha querida mãe avó **Malvina Zanatta Stubs** e meu querido pai avô  
**Carlos Stubs** (*in memorian*)

Aos meus queridos irmãos, amigos e familiares, pela motivação em todos os momentos deste estudo.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Com toda a certeza, estes parágrafos descritos não irão contemplar todas as pessoas que de alguma maneira torceram para que esta etapa da minha jornada se concretizasse de forma concisa. Desde já, peço desculpas àquelas pessoas que não estarão aqui descritas, mas com certeza estão presentes de alguma maneira em cada fase desta longa e prazerosa caminhada.

Inicialmente, agradeço a Deus e seus anjos de luz por terem me iluminado nesta caminhada de grande aprendizado, tanto profissional quanto pessoal.

Ao meu orientador, professor Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, pela dedicação, orientação e amizade que nestes anos só se concretizaram ainda mais e, principalmente, pela preocupação para com seus orientados, o que comigo não foi diferente.

À minha coorientadora, professora Dr.<sup>a</sup> Maria Josiane Sereia, pela ampla dedicação em todas as fases de análises desta tese, pela paciência e, principalmente, o comprometimento de obtermos resultados firmes e concisos, a amizade que se formou e se transformou em um afeto muito especial.

Em agradecimento aos meus mestres, refiro-me também ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela oportunidade que me foi concedida, bem como à Universidade Tecnológica Federal

do Paraná – *Campus* de Campo Mourão (UTFPR-CM), por fornecer estrutura física, reagentes e meios cedidos, que sem os quais não seria possível a realização deste projeto. Agradeço também o auxílio em momentos de dificuldade para a realização das análises, professores da UTFPR-CM, em especial aos professores da engenharia de alimentos e da engenharia ambiental, por terem compartilhado conhecimento e cedido espaço e equipamentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos, que me possibilitou a realização deste projeto.

O reconhecimento a todos da minha família, pois sem eles seria impossível batalhar para vencer mais este desafio em minha vida.

À produtora Célia Dresh, que foi a única que com muito carinho doou amostras de mel para a realização deste projeto, acreditando em nosso comprometimento.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram para chegar até aqui, pelo incentivo e dias de muitas lágrimas, cito: Lucilene de Mattos Almeida, Kaliane Nascimento de Oliveira, Camila Thiara Gomes Carvalho, Erica Gomes de Lima, Heber Luiz Pereira, Sandra Leiko Narimatsu, Rosane Sakuma, Ana Carolina Forti Cezário, Dhecy Piovesan, Kelly Cristina Parpinelli, Andréia Favarin, Jéssica Natália Zironi da Silva, Elizabete Satsuki Sekine, Odinete Murari, Maria Marta Loddi, Djanety Araujo, Fernando Antônio Anjo, Juliana Martins, Carina Theodoro Nogueira, Jorge Luiz Ortega Filho e Lizeth Zanatta.



## BIOGRAFIA

REJANE STUBS PARPINELLI, filha de Jair Parpinelli e Doralice Stubs Parpinelli (*in memorian*), nasceu em Marialva - PR, no dia 24 de junho de 1985.

Em março de 2009, concluiu a graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá – UEM. Neste mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado – Área de Concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, obtendo o título de Mestre em Zootecnia em março de 2011.

Em agosto de 2011, ministrou aulas no colégio agrícola Instituto Cristão – IC para o curso de Técnico Agrícola em Castro, em que exerceu a função para alunos do ensino médio até julho de 2013.

Em fevereiro de 2012, foi aprovada em teste seletivo para professor temporário na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em que exerceu a função de professor do curso de Zootecnia e Agronomia até julho de 2013.

Em março de 2013, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível Doutorado – Área de Concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, e submeteu-se à defesa para obtenção do título de Doutora em Zootecnia em abril de 2016.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I – INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Abelhas sem ferrão e as Angiospermas.....	1
1.2 A importância da polinização.....	2
1.3 A meliponicultura e sua distribuição.....	3
1.4 Características das abelhas sem ferrão.....	4
1.5 Histórico do mel.....	6
1.6 Definição e classificação do mel.....	7
1.7 O mel de meliponíneos.....	8
1.8 Os microrganismos presentes no mel.....	9
1.9 Propriedades físico-químicas do mel.....	12
1.9.1 Umidade.....	12
1.9.2 pH.....	12
1.9.3 Acidez.....	13
1.9.4 Índice de formol.....	14
1.9.5 Cinzas.....	14
1.9.6 Cor.....	14
1.9.7 Condutividade elétrica.....	15
1.9.8 Hidroximetilfurfural – HMF.....	15
1.9.9 Proteína.....	16

1.9.10 Açúcares.....	17
1.9.11 Viscosidade.....	18
1.9.12 Diastase.....	18
1.9.13 Atividade de água – Aw.....	19
1.10 Análise de Componentes Principais – ACP.....	20
Referências.....	21
II – OBJETIVOS GERAIS.....	31
III – COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ.....	32
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	34
Resultados e Discussão.....	37
Conclusão.....	43
Referências.....	44
IV – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ.....	52
RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	52
Introdução.....	54
Material e Métodos.....	55
Resultados e Discussão.....	59
Conclusão.....	72
Referências.....	73

## LISTA DE TABELAS

### III – COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ

- Tabela 1. Número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem de fungos, *Salmonella* spp., umidade e atividade de água de amostras de mel agrupadas por espécies de meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná..... 48
- Tabela 2. Proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros microbiológicos para o mel de meliponíneos..... 49

### IV – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ

- Tabela 1. Características físico-químicas (umidade, pH, acidez total, índice de formol, cinzas, condutividade elétrica, hidroximetilfurfural, proteína, açúcares redutores, açúcares redutores totais, sacarose, viscosidade, atividade diastásica, atividade de água e cor), determinadas para amostras de mel de meliponíneos (*Apidae: Meliponinae*) provenientes de seis regiões do Estado do Paraná, Brasil..... 76
- Tabela 2. Valores sugeridos para a padronização dos parâmetros físicos e químicos de mel de meliponíneos..... 78
- Tabela 3. Proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros físico-químicos de mel de meliponíneos..... 78

## LISTA DE FIGURAS

### **I – INTRODUÇÃO GERAL**

Figura 1. Distribuição geográfica dos meliponíneos nos continentes..... 4

### **III – COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ**

Figura 1. Distribuição espacial das localidades das amostras de mel produzidas por meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná..... 50

Figura 2. Primeira contra segunda componente da análise de componentes principais das análises microbiológicas do mel avaliado..... 51

### **IV – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE SEIS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ**

Figura 1. Distribuição espacial das localidades das amostras de mel produzidas por meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná..... 79

Figura 2. Distribuição percentual das cores determinadas para amostras de mel de meliponíneos provenientes das seis regiões do Estado do Paraná..... 80

Figura 3. Primeira contra segunda componente da análise de componentes principais das respostas das análises físico-químicas do mel avaliado..... 81

## RESUMO

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica e a caracterização físico-química de 26 amostras de mel de meliponíneos de seis regiões do Estado do Paraná: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) e *Melipona bicolor schencki* (n=01), com o intuito de contribuir com padrões de identidade e qualidade, fornecendo informações para elaboração de uma Normativa para o mel produzido por abelhas sem ferrão em nível estadual e/ou nacional. Foram realizadas contagens de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, contagem de fungos e detecção de *Salmonella* spp, de acordo com métodos descritos pelas normas internacionais da APHA - comissão técnica APHA em métodos microbiológicos para alimentos. Para o grupo coliformes a 35°C, 15,38% das amostras de mel analisadas apresentaram valores  $> 3\text{NMP.g}^{-1}$ , e em 7,69% delas foi observado resultado positivo para coliformes a 45°C, sendo todas amostras de *Tetragonisca angustula*. O resultado elevado para coliformes a 35°C pode indicar uma falha quanto às boas práticas de manipulação em relação às amostras avaliadas e também podem estar relacionadas naturalmente às abelhas, pois estas bactérias estão presentes fluentemente no ambiente e durante o forrageamento as abelhas podem trazer consigo estas bactérias para a colônia. Os resultados das amostras positivas para coliformes a 45°C indicaram contaminação pós-processamento do produto, uma vez que estas bactérias necessitam de atividade de água maior que 0,91 para seu crescimento, fornecendo com maior segurança informações sobre as condições higiênicas do produto. Para as amostras analisadas o maior valor para atividade de água foi 0,85; sendo um valor insuficiente para o desenvolvimento de patógenos enterais, o que não exclui a sua sobrevivência no meio. Para contagem de fungos,

100,00% das amostras analisadas apresentaram valores dentro dos limites desejáveis pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelhas social sem ferrão, gênero *Melipona*, da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB). Nas amostras analisadas não foi observada a presença de *Salmonella* spp. Para características físico-químicas, a maioria das amostras avaliadas apresentou-se dentro do limite máximo e mínimo sugerido em outros estudos de diferentes autores. Para umidade, 92,31% das amostras se enquadraram dentro do limite proposto, pH 100,00%, acidez 84,62%, índice de formol 61,54%, cinzas 100,00%, cor 100,00%. A condutividade elétrica apresentou valores inferiores aos citados por outros autores, hidroximetilfurfural 88,46%, proteína 100,00%, açúcares redutores 100,00%, açúcares redutores totais 100,00% e sacarose 100,00%. A viscosidade apresentou valores superiores, atividade diastásica 100,00% apresentando valores abaixo do limite mínimo sugerido e atividade de água apresentou valores superiores. Para atividade diastásica recomenda-se que esta análise seja revista como indicador de qualidade. Pela análise de componentes principais foi possível observar a similaridade de algumas amostras correlacionadas com as variáveis analisadas, espécie produtora e região, mostrando o quanto estes fatores influenciaram na qualidade final do produto. A caracterização dos parâmetros físico-químicos e a verificação da qualidade microbiológica das amostras de mel produzidas pelas abelhas sem ferrão poderão contribuir para estabelecer normativas de padrões de qualidade do mel das espécies analisadas.

## MICROBIOLOGICAL QUALITY AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF HONEY SAMPLES OF STINGLESS BEES FROM SIX REGIONS OF PARANÁ STATE

### ABSTRACT

The study aimed to evaluate the microbiological quality and physicochemical characterization of 26 honey samples of stingless bee from six regions of the State of Paraná: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) and *Melipona bicolor schencki* (n=01), to contribute to the identity and quality standards, providing information for the preparation of rules relating to honey produced by stingless bees at the state level and national. Coliform counts were performed at 35°C and 45°C coliforms, fungi counting and detection of *Salmonella* spp, according to methods described by the international standards APHA - (APHA technical committee on microbiological methods for foods). For coliform 35°C, 15.38% of honey samples analyzed had values > 3NMP.g-1, and of which 7.69% was observed positive for coliforms at 45°C, and all samples of *Tetragonisca angustula*. The high result for coliforms at 35°C may indicate a failure on good handling practices in respect of samples evaluated and may also be naturally related to the bees, because these bacteria are present fluently in the environment and during foraging bees can bring these bacteria to the colony. The results of positive sample for coliforms at 45°C indicated the product post-processing contamination, since these bacteria need water activity greater than 0.91 for their growth, providing more safety information about the hygienic conditions of the product. For analyzed samples, the most value for water activity was 0.85 and insufficient value to the development of enteral pathogens, which does not preclude their survival in the environment. For fungi count, 100.00% of the samples presented values within the desired limits by Regulation Identity Technical and Honey Quality of social stingless bees, *Melipona*



genus, the State Agency of Bahia Agricultural Defense (ADAB). In the samples the presence of *Salmonella spp.* was not observed. For physical and chemical characteristics, most of the samples were within the maximum and minimum suggested in other studies by different authors. For moisture 92.31% of the samples did not fit within the proposed limit, pH 100.00%, 84.62% acidity, formol index 61.54%, ash 100.00% and 100.00% color. Electrical conductivity presented lower than those cited by other authors, hydroxymethylfurfural 88.46%, protein 100.00%, reducing sugars 100.00%, total reducing sugars 100.00% and sucrose 100.00%. Viscosity presented higher values, diastase activity 100.00%, with values below the suggested minimum limit, and water activity presented higher values. For diastase activity is recommended that this analysis must be reviewed as a quality indicator. By principal component analysis it was possible to observe the similarity of some samples correlated with the analyzed variables, producing species and region, how these factors influenced the final product quality. The characterization of physicochemical parameters and checking the microbiological quality of honey samples produced by stingless bees may help to establish a normative for honey quality standards of the analyzed species.

## I – INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Abelhas sem ferrão e as Angiospermas

Geologicamente e biogeograficamente, existem relatos e evidências de que a origem das abelhas se deu em meados do Cretáceo médio, há pelo menos 120 milhões de anos. Esta afirmativa foi relatada pela descoberta de um fóssil cretáceo de uma abelha meliponínia em Nova Jersey - EUA, o que corrobora a existência de fósseis de flores que demonstraram descrições exclusivamente associadas com a polinização efetuada por abelhas no início do período Terciário (Roubik, 1989).

Segundo Nogueira Neto (1997), a relação evolutiva vegetal/inseto ocorreu entre 25 e 40 milhões de anos atrás. Este autor relatou que fósseis de abelhas *Plebeia sp* e *Proplebeia* foram achados na atual República Dominicana, no Caribe e de abelhas *Trigona* na Sicília, todas conservadas em âmbar (Poinar Jr, 1994).

As abelhas são descendentes das vespas *Sphecidae*, que possuíam o hábito de se alimentar de outros artrópodos, como por exemplo, aranhas e insetos. No decorrer do processo evolutivo, as abelhas deixaram de se alimentar de artrópodos para nutrirem-se de néctar e pólen das flores (Michener, 2007).

Acredita-se que as abelhas e as angiospermas coevoluíram em um processo que beneficiou ambos os grupos (Del-Claro & Torezan-Silingardi, 2012). As flores dessas plantas juntamente com seus arranjos florais com formas, cores e odores iniciaram lentas e gradativas mudanças evolutivas, que contribuíram para atrair os insetos polinizadores, em especial as abelhas, que buscavam recursos alimentares (Borg-Karlson, Unelius, Valterova & Nilsson, 1996).

## 1.2 A importância da polinização

Dentre os polinizadores efetivos para a reprodução da maior parte das Angiospermas, as abelhas se destacam (Roubik, 1989), e dentre as espécies de abelhas acredita-se que os meliponíneos ou abelhas sem ferrão são as principais responsáveis pela polinização de muitas espécies arbóreas nativas do Brasil (Kerr, 1997), correspondendo por 40 a 90%, enquanto que outros animais como morcegos, aves, borboletas e alguns mamíferos desempenham o papel de polinizador restante (Kerr, Carvalho & Nascimento, 1996).

As abelhas possuem uma função ambiental relevante, pois dentre todos os polinizadores elas ocupam posição de destaque, pois dependem das visitas às flores para a obtenção de pólen e de néctar, sua principal fonte de alimento. Sendo assim, as abelhas precisam visitar grandes quantidades de flores para atenderem suas necessidades nutricionais individuais, das crias e da colônia. A maioria dos outros polinizadores visitam as flores somente para satisfazer suas necessidades imediatas (Corbet, Williams & Osborne, 1991; Free, 1993).

Para os cultivos agrícolas, o valor dos serviços de polinização prestados pelos insetos foi estimado em aproximadamente US\$ 184 bilhões ao ano globalmente (Gallai, Salles, Settele & Vaissiere, 2009). Esses serviços também são essenciais para a propagação de numerosas espécies de plantas silvestres (Ollerton, Winfree & Tarrant, 2011), muitas das quais contribuem indiretamente para o bem-estar de toda a humanidade (Willis & Garrod, 1993).

Aproximadamente 2/3 das Angiospermas de todo o planeta dependem efetivamente das abelhas para a realização da polinização cruzada (Barth, 1991; Borg-Karlson et al., 1996). Avalia-se que a polinização entomófila é responsável por 35% da produção mundial de culturas agrícolas e beneficia os rendimentos de 75% das espécies cultiváveis de importância global (Klein et al., 2007). A natureza e a extensão desses benefícios podem variar entre os diferentes cultivos agrícolas, incluindo desde o aumento da quantidade e qualidade dos frutos e sementes produzidas até o aceleração do desenvolvimento das culturas e o aumento da diversidade genética dentro das espécies cultivadas (Free, 1993; Hajjar, Jarvis & Gemmill-Herren, 2008).

Nas regiões tropicais, as abelhas sociais Meliponinae, Bombinae e Apinae estão entre os visitantes florais mais abundantes (Heithaus, 1979; Bawa, 1990). As abelhas sem ferrão são responsáveis pela polinização de mais de 60 culturas tropicais como:

abacate, morango, pepino, pimentão, tomate (Slaa, Sanchez- Chaves, Malagodi-Braga & Hofstede, 2006), carambola, chuchu, côco, macadâmia, manga e urucum (Heard, 1999), sendo os polinizadores silvestres primários da cultura do café (Klein, Steffan-Dewenter & Tschardtke 2003; Ricketts, 2004).

### 1.3 A meliponicultura e sua distribuição

A criação de abelhas sem ferrão ou meliponicultura é uma prática desenvolvida há séculos, e os relatos dessa atividade remontam aos primórdios das civilizações do Egito Antigo. Ao longo da história da evolução da humanidade, em todo o continente americano antes da introdução da cana-de-açúcar e da abelha europeia (*Apis mellifera*), o mel se destacou como um dos produtos mais conhecidos das abelhas indígenas, uma das primeiras fontes de açúcar para o ser humano (Ballivián, 2008). Carvalho, Souza, Sodré, Marchini e Alves (2005) lembraram o uso do mel dos meliponíneos nos períodos pré-hispânicos e a função que desempenharam na dieta dos povos indígenas americanos, com destaque à civilização Maya, que desenvolveram a criação racional da *Melipona beecheii*.

As abelhas que existiam no Brasil até o ano de 1840 eram chamadas abelhas indígenas, nativas ou meliponíneos, a razão pela qual muitas das denominações científicas desse grupo de abelhas sejam de origem linguística indígena tupi, e a diversidade dessas espécies de abelhas é considerada elevada. Historicamente, o uso dos produtos das abelhas, como a cera que era utilizada para a confecção de velas pelos padres jesuítas, o mel pelos índios e povos colonizadores, bem como seus costumes culturais e rituais religiosos foi de grande importância para datar a importância histórica dessas abelhas para com a evolução da humanidade (Nogueira-Neto, 1970).

Os meliponíneos se encontram em grande parte em regiões de clima tropical do planeta, ocupam também algumas regiões de clima temperado subtropical. Assim, essas abelhas são encontradas na maior parte da América Neotropical, isto é, na maioria do território Latino-Americano, compreendendo desde o Rio Grande do Sul até o México, além de Austrália, Indonésia, Malásia, Índia e África (Nogueira- Neto, 1997) vide Fig.1.



Fig. 1. Distribuição geográfica dos meliponíneos nos continentes. Fonte: adaptado de Sakagami (1982).

No Brasil, são conhecidas mais de 400 espécies de abelhas sem ferrão que apresentam heterogeneidade em seus hábitos de nidificação, população dos ninhos, na cor, na forma e no tamanho, sendo que algumas espécies se adaptam facilmente ao manejo humano (Pereira, 2005). Seus nomes populares muitas vezes se confundem nas diferentes regiões do Brasil, sendo necessário utilizar nomes científicos para identificá-las (Nogueira-Neto, 1997).

Devido ao mau uso da biodiversidade em decorrência de atividades antrópicas, essas espécies estão ameaçadas de extinção (Ballivián, 2008). Exemplo sobre o declínio desta atividade tradicional é a península de Yucatán, México, em que as abelhas sem ferrão vêm sendo ameaçadas por mudanças ambientais e por manejo inadequado (Villanueva-Gutierrez, Roubik & Colli-Ucán, 2005).

#### 1.4 Características das abelhas sem ferrão

Atualmente, cerca de 20.000 espécies de abelhas habitam os mais diversos tipos de ecossistemas (Michener, 2007). Na classificação proposta por Silveira, Melo e Almeida (2002), fundamentada em estudos realizados por Roig-Alsina e Michener (1993); Alexander e Michener (1995), as abelhas sem ferrão são classificadas na família *Apidae*, sub-família *Apinae* e tribo *Meliponini*, que é representada por vários gêneros e milhares de espécies.

Diferente das abelhas que possuem hábitos solitários, as abelhas sociais mostram vários níveis de organização, ou seja, vivem em colônias que reúnem de centenas a milhares de indivíduos, constituídas por operárias e, geralmente, apenas uma rainha, e os zangões podem ou não estar presentes nas colônias (Vit, Pedro & Roubik, 2013).

Quando uma colônia está para se dividir, as operárias da colônia mãe voam para o novo local escolhido e iniciam a preparação de um novo ninho, transportando consigo materiais de construção e alimentos em repetitivas viagens. As operárias podem voar em busca de novos materiais de construção até que este processo se encerre e se dê início a uma nova colônia de abelhas. Eventualmente, rainhas jovens não acasaladas voam até o novo ninho, onde podem acasalar com seus companheiros até mesmo dentro deste novo ninho (Vit et al., 2013).

A identificação e o reconhecimento das diferentes formas da entrada do ninho e de seu interior auxiliam no processo de identificação científica das espécies, sendo uma das características marcantes de cada gênero ou espécie (Roubik, 2006). Devido ao atrofiamento do ferrão, estas abelhas não podem utilizá-lo como meio de defesa e, por isso, são denominadas popularmente como abelhas sem ferrão, porém, especialmente em espécies que constroem seus ninhos expostos, estas abelhas são altamente defensivas, enxameando-se para fora do ninho em grande número de indivíduos, de modo a se defenderem grudando no cabelo, irritando os olhos e orelhas, e por fim aderindo-se às roupas (Vit et al., 2013). Apresentam ainda hábitos de nidificação variados e com elevada ordem estrutural.

Dentro do ninho, existem formas e arranjos diferentes das células de cria e intensivo estoque de alimento. Mel e pólen são estocados em potes separados ao redor da área de cria. As células de cria são esféricas ou ovóides, enquanto os potes de alimento podem ser redondos, cônicos ou cilíndricos, de tamanhos pequenos ou grandes (Michener, 1974).

Algumas espécies fazem o uso do geoprópolis para a proteção do seu ninho, atribuindo impermeabilização do mesmo. Os ninhos, geralmente, são formados de cera e cerume. Outros materiais, como barro, detritos vegetais e até mesmo fezes secas de outros animais, principalmente mamíferos, também podem ser utilizados no processo de nidificação (Michener, 2007). Determinadas espécies podem nidificar em outros tipos de cavidades naturais ou artificiais, os mais frequentes são cavidades preexistentes, tais como fendas de árvores e de rochas, buracos nos solos, ribanceiras, tapumes, frestas de

muros e furos em cupinzeiros, podendo também existir ninhos expostos ou semi expostos (Nogueira-Neto & Sakagami, 1966; Kleinert-Giovannini, 1989). Contudo, a competição por sítios de nidificação e a diminuição de substratos devido ao desmatamento tem acentuado o declínio no número de colônias de abelhas sem ferrão (Aidar & Campos, 1998).

## 1.5 Histórico do mel

O mel é um produto adocicado, viscoso e de aroma bastante agradável. Apreciado desde a Grécia antiga, foi utilizado pelo ser humano principalmente como alimento, medicamento e oferenda aos deuses. A primeira referência escrita sobre o mel, um texto sumério de cerca de 2100 a 2000 a.C., menciona o uso do mel como medicamento, utilizado como pomada. Há relatos do uso do mel em papiros egípcios de cerca de 1500 a.C., nos quais o mel estava na composição de centenas de prescrições para uso externo e interno (Crane, 1997; Molan, 1997; Sato & Miyata, 2000; Bogdanov, Jurendic, Sieber & Gallmann, 2008).

No Egito antigo, também foi usado como oferenda em rituais religiosos, sendo que os israelitas ofertavam o mel de suas primeiras colheitas para presentear o seu Deus. Na Grécia antiga e na Babilônia, o mel era utilizado para conservar os corpos de reis e generais mortos em batalha, até que fossem transportados para o funeral (Crane, 1997; Molan, 1997; Sato & Miyata, 2000; Bogdanov, Jurendic, Sieber & Gallmann, 2008).

O ser humano da Idade da Pedra aprendeu a apreciar o mel das abelhas sem ferrão: os Celtas e os Anglo-Saxões preparavam o hidromel e na Europa, até metade do século XVII, o mel era considerado o adoçante do povo, sendo o açúcar privado à nobreza e ao clero (Park, Alencar & Aguiar, 2002). Por um longo período de tempo, o mel foi o único edulcorante utilizado pelo ser humano até ser substituído gradativamente, por açúcares refinados e manufaturados como os extraídos da cana-de-açúcar e da beterraba (Nogueira-Couto & Couto, 2006; Bogdanov et al., 2008).

Muitas civilizações antigas utilizaram das terapias milenares os produtos das abelhas como sendo um valioso recurso terapêutico e conservativo. As histórias da medicina das civilizações greco-romana, egípcia e tibetana são muito ricas, todas incluindo em seus escritos antigos centenas de receitas em que é citado, principalmente, o mel, a própolis, larvas de abelhas e as próprias abelhas para curar ou prevenir

enfermidades (Park et al., 2002).

Há vários séculos o mel de abelhas sem ferrão foi explorado de forma extrativista e predatória. Os enxames de abelhas eram retirados da natureza muitas vezes causando prejuízos ao meio ambiente e causando a morte de centenas de abelhas, tanto as do gênero *Apis* quanto as melíponas. Com o passar do tempo, os humanos foram aprendendo a proteger seus enxames, a mantê-los em caixas racionais e manejá-los de forma a se obter maior produção de mel sem causar sérios danos para as abelhas, surgia então à apicultura, com futuros aprimoramentos surgia também a meliponicultura (Pereira, Lopes, Camargo & Vilela, 2003).

## 1.6 Definição e classificação do mel

O mel é elaborado pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas de plantas ou ainda, de secreções de insetos sugadores de seivas vegetais que permanecem sobre as partes vivas dessas plantas. As abelhas recolhem e transformam esse material com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos (*Apis*) ou em potes (melíponas) separados da colmeia (Michener, 1974; Crane, 1985; Brasil, 2000).

O mel pode ser classificado em extrafloral ou floral. O mel extrafloral é produzido a partir de exsudatos de plantas ou de resíduos de frutas ou ainda, de outras fontes de matéria-prima (Moreira & De Maria, 2001). O mel de melato ou também chamados de “*honeydew*” é obtido a partir de excreções provenientes das partes vivas das plantas ou de secreções de insetos sugadores de plantas (Brasil, 2000). O mel de melato é classificado em dois tipos: aqueles com alto teor de erlose, que não sofrem granulação, e os de alto teor de melezitose, que são sujeitos à cristalização (Crane, 1985; Moreira & De Maria, 2001; Nogueira-Couto & Couto, 2006).

O mel floral de abelhas sem ferrão é o mel obtido dos nectários das flores. A partir de sua origem floral eles podem ser classificados em mel unifloral/monofloral, quando o néctar procede, principalmente, da origem de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possui características microscópicas, sensoriais e físico-químicas únicas. O mel multifloral/polifloral é o obtido a partir de diferentes origens florais, resultando em uma não predominância de um pólen em específico; e silvestre aquele produzido a partir de espécies nativas (Brasil, 2000).



O mel floral é caracterizado por meio da análise microscópica, que possibilita a identificação e a quantificação dos grãos de pólen (Moreira & De Maria, 2001; Andrade & Silva, 2003; Nogueira-Couto & Couto, 2006; Sodré, Marchini, Rosa, Moreti & Carvalho, 2007). Para a constatação das espécies vegetais que realmente contribuem para a formação do mel deve-se levar em conta a presença de pólen de plantas nectaríferas: sub-representadas, poliníferas: super-representadas e anemófilas nos espectros polínicos (Estevinho, Feás, Seijas & Vázquez-Tato, 2012; Gomes, Dias, Moreira, Rodrigues & Estevinho, 2010).

As plantas nectaríferas, sub-representadas nos espectros polínicos fornecem muito néctar, porém pouco pólen. Assim, poucos grãos de pólen são indicativos de grande quantidade de néctar. Como exemplo, entre as espécies mais frequentes na região Sul-Sudeste do Brasil, estão as Lamiaceae - *Salvia* spp., *Hyptis* spp., espécies cultivadas para temperos culinários, algumas Mimosaceae - *Acacia* spp. e Rutaceae produtoras de frutas cítricas - *Citrus* spp (Barth, 1989).

As plantas poliníferas aparecem super-representadas nos espectros polínicos, fornecendo pouco néctar e muito pólen. Quando uma amostra de mel contém mais de 98% de pólen de uma planta polinífera, o mel derivado dessa espécie deve ser considerado monofloral. Como exemplo que ocorrem na região Sul-Sudeste, temos principalmente as espécies do gênero *Mimosa* (Barth, 1989).

Plantas anemófilas não produzem néctar. O pólen anemófilo é seco e leve sendo disperso, principalmente, pela ação do vento. Ele pode entrar, ocasionalmente, na composição do espectro polínico de mel monofloral, pois é coletado e armazenado pelas abelhas como fonte de proteínas. Na região Sul-Sudeste, pode-se citar as espécies de *Cecropia* e *Poaceae*, dentre as quais se destaca o milho - *Zea mays* L. (Barth, 1989).

Sendo assim, a qualidade do mel depende das suas características sensoriais, químicas e físicas, e também dos grãos de pólen originários na sua grande maioria das plantas fornecedoras de néctar. A maioria das plantas produz muito néctar e são classificadas como poli-nectaríferas, ao exemplo do *Eucalyptus* - eucalipto - e *Vernonia* - assa-peixe (Barth, 1989; 2004).

## 1.7 O mel de meliponíneos

A abelha sem ferrão realiza a operculação dos potes de armazenamento de mel

no momento em que o mesmo apresenta um elevado teor de umidade, sendo mais susceptível à fermentação (Evangelista-Rodrigues, Silva, Beserra & Rodrigues, 2005; Bijlsma, Bruijn, Martens & Sommeijer, 2006). A cor desse produto varia de quase transparente a âmbar escuro; o sabor depende do paladar, os níveis de açúcares dependem da espécie produtora, da época em que foi produzido e coletado, da região de procedência e, principalmente, da origem floral (Azeredo, Azeredo & Damasceno, 1999).

Trabalhos sobre a composição de mel são escassos no meio científico, considerando apenas dados sobre os parâmetros de qualidade usados para o mel de *Apis*, como o teor de hidroximetilfurfural, conteúdo de cinzas, teor de açúcares, acidez dentre outros (Vit & Pulcini, 1996; Vit, Persano Oddo, Marano & Salas de Mejias, 1998; Alves, Carvalho, Souza & Marchini, 2005; Souza et al., 2006). O mel produzido pelas abelhas sem ferrão possui características muito distintas quando comparado ao mel tradicional produzido pela abelha do gênero *Apis*.

Além disso, o mel de meliponíneos é um produto que tem alcançado um alto valor de mercado em relação ao mel tradicional, apresentando uma demanda crescente. Entretanto, ainda existem poucas informações na literatura nacional e internacional sobre a sua composição, considerando particularmente a diversidade de espécies existentes (Souza, Carvalho, Sodr e & Marchini, 2004; Almeida-Muradian, Matsuda & Bastos, 2007).

## 1.8 Os microrganismos presentes no mel

O mel é um produto que contém microrganismos em níveis e tipos mínimos que são atribuídos ao seu controle na indústria e às suas características naturais. Os microrganismos de referência no mel são: leveduras, bolores e esporos de bactérias (De Maria & Moreira, 2003).

A microbiota do mel é dividida em dois grupos de microrganismos: os inerentes ao mel proveniente de fontes de contaminação primária, destacando-se os esporos bacterianos, bolores e as leveduras (Olaitan, Adeleke & Ola, 2007) os quais são incorporados ao mel quando o néctar está sendo colhido, armazenado ou amadurecido; além de advindos do pólen, aparelho digestório da abelha, ar e flores (Snowdon & Cliver, 1996). Estes, em condições normais de umidade não interferem na qualidade do

mel e não são patogênicos. Os de contaminação secundária que estão diretamente relacionados à extração e beneficiamento (Snowdon & Cliver, 1996). Como fonte de contaminação pode-se citar o ser humano durante a manipulação, equipamentos de processamento do produto, água, insetos, roedores e outros animais (Gomes et al., 2010).

Tysset e Rousseau (1981); Snowdon e Cliver (1996) relataram que as fontes secundárias de contaminação do mel sejam provavelmente iguais a de outros alimentos. A presença de alguns destes microrganismos no mel são considerados como contaminantes dentro de programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle-APPCC (Ezenwa, 2006). Tipos diferentes de fungos incluindo *Penicilium*, *Peyronelia*, *Aspergillus* e *Chaetomium*, têm sido isolados de fezes de larvas de abelhas e do mel de *Apis* (Gilliam & Prest, 1987), alguns desses microrganismos naturalmente associados às abelhas caracterizam uma microflora não patogênica, estando ainda desconhecidos (Gilliam, 1997).

Dos microrganismos presentes no mel, seja de fonte primária ou secundária, os coliformes a 35°C e os fungos são indicativos de higiene associada à manipulação, devido à contaminação por descuido e falta de boas práticas sanitárias durante o manejo como: centrífugas mal planejadas e mal lavadas, melgueiras apoiadas no chão e estocagem prolongada do mel, são meios pelos quais os microrganismos podem ser adicionados ao produto (Snowdon, 1999). Do ponto de vista de composição, o grupo dos coliformes é composto por bactérias de um número limitado de gêneros e inclui essencialmente *Serratia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Erwinia* e *Klebsiella*. Dentre os microrganismos isolados a partir dos testes de coliformes termotolerantes, a *Escherichia coli* é encontrada com maior presença, sendo adotado como indicador clássico para a possível presença de patógenos entéricos em alimentos (Snowdon, 1999; Novak & Almeida, 2002).

Entre os microrganismos patogênicos para a abelha que podem passar para o mel, salientam-se *Bacillus larvae*, *Bacillus alvei*, *Aspergillus flavus*, *Ascosphaera apis*, *Ascosphaera alvei*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum* (Snowdon & Cliver, 1996). As leveduras osmofílicas, principalmente *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Torula*, são as mais predominantes (Migdal, Owczarczyk, Kedzia, Holderna-Kedzia & Madajczyk, 2000), sendo frequentemente isoladas da cera, do néctar e das abelhas mortas. Há ainda uma espécie descrita, *Zygosaccharomyces lentus*, que tem a capacidade de crescer a baixas temperaturas (Steels, James, Roberts &

Stratford, 1999).

A elevada umidade do mel de abelhas sem ferrão, quando associada à presença de levedos, pode desencadear processos fermentativos desde que as condições sejam favoráveis. O aumento da temperatura de estocagem do mel, condições ácidas (suportando variações de pH entre 2,0 e 9,0 sendo que o excelente para a maioria das espécies esteja em torno de 5,6) e níveis altos de sacarose são condições que influenciam positivamente no desenvolvimento de bolores e leveduras dentre outros organismos osmofílicos, inclusive no mel maduro, fermentando-o facilmente (Crane, 1985; Lacaz-Ruiz, 2000). De modo geral, as leveduras exigem menos umidade que a maioria das bactérias e mais umidade que a maioria dos bolores, crescendo em temperatura que varia entre 25°C e 30°C (Franco & Landgraf, 2005).

A fermentação do mel resulta no crescimento da levedura, que converte o açúcar em ácidos orgânicos e outras combinações com sabores e odores indesejáveis, gás carbônico e álcool (Snowdon, 1999). Condições como cristalização, uma alta contagem inicial de leveduras, fungos, presença de nitrogênio e minerais podem também favorecer a fermentação do mel (Crane, 1979).

Outro fator de extrema importância que confere a qualidade do produto é a água disponível presente nos alimentos, e que está livre para atuar como solvente e participar de reações microbiológicas, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto. A atividade de água tem sido incorporada por diversas agências regulatórias na definição de regulamento de segurança enfocando o crescimento de microrganismos indesejáveis e controle de pontos críticos (Fontana Jr., 2000).

O comportamento microbiano frente à atividade de água é extremamente variável, sendo que os microrganismos possuem um nível limite de atividade de água, e quando abaixo deste nível não conseguem se desenvolver. A maioria das bactérias deterioradoras não se desenvolve em meio com atividade de água menor que 0,91; mas sob condições aeróbias a atividade de água inibitória é de 0,86. Substratos com atividade de água menor que 0,60 estão assegurados quanto à contaminação microbiana, mas a partir deste ponto começa a ocorrer a proliferação de bolores e leveduras, ao passo que fungos micotoxigênicos têm como limite de crescimento 0,78 Aw (Ribeiro & Seravalli, 2004).

## 1.9 Propriedades físico-químicas do mel

### 1.9.1 Umidade

O teor de água no mel de meliponíneos e no mel de *Apis* é uma das características mais importantes, por influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação, vida útil e palatabilidade (Persano-Oddo & Piro, 2004). Este teor depende de vários fatores externos como origem floral, época de colheita do mel, o grau de maturação obtido na colmeia (completa desidratação), manipulação dos apicultores e/ou meliponicultores e fatores climáticos, um dos mais complicados de se ter controle (Finola, Lasagno & Marioli, 2007). A umidade é um dos parâmetros mais importantes que deve ser analisada e que é responsável por manter a segurança do produto, conferindo um critério de qualidade que determina a capacidade do mel em se manter estável.

### 1.9.2 pH

O pH determinado no mel refere-se aos íons hidrogênio presentes numa solução de mel e pode influenciar na formação de outros componentes, como na velocidade de produção do hidroximetilfurfural – HMF (Vidal & Fregosi, 1984). A medida do pH mostra-se benéfica como variável auxiliar para avaliação da qualidade do produto e como um parâmetro para a avaliação da acidez total. Porém, este parâmetro não está diretamente relacionado com a acidez livre devido à ação tampão dos ácidos e minerais presentes no mel (Pereira, Dias, Andrade, Ramalhosa & Estevinho, 2009).

No mel de meliponíneos o pH varia de 3,2 a 4,8 com média de 3,9 (Cortopassi-Laurino & Gelli, 1991) sendo considerado ácido. A variação do pH do mel depende da origem botânica, do pH do néctar, solo ou associação de vegetais para composição do mel (Crane, 1985) e da concentração de diferentes ácidos e minerais tais como: cálcio, sódio, potássio, além de outros constituintes das cinzas. Valores alterados podem indicar fermentação ou adulteração no mel (Frías & Hardisson, 1992).

Substâncias mandibulares da abelha acrescentadas ao néctar também podem alterar o pH do mel, processo este que se inicia com o transporte do néctar nas vesículas melíferas até a colmeia (Evangelista-Rodrigues et al., 2005). O baixo pH do mel e a atividade de água presente no mesmo inibem a presença e o crescimento de

microrganismos, e um fator relevante é que grande parte dos microrganismos patogênicos necessitam de um pH na faixa de 7,2 a 7,4 para seu crescimento. Estes dois parâmetros têm grande importância durante a extração e armazenamento de mel, visto que influenciam diretamente na textura, estabilidade e no tempo de vida útil (Terrab, Recamales, Hernanz & Heredia, 2004).

O pH juntamente com a acidez são considerados importantes fatores antimicrobianos, fornecendo maior estabilidade quanto ao desenvolvimento de microrganismos no alimento. Mesmo com esta barreira natural, a fisiologia de muitos bolores e leveduras permite a sua adaptação a condições não favoráveis, podendo crescer em substratos com concentrações de açúcares intoleráveis para o crescimento de bactérias, uma vez que as mesmas não são sensíveis às altas pressões osmóticas (Lacaz-Ruiz, 2000). O desenvolvimento destes microrganismos no mel, juntamente com atividade enzimática, textura e conteúdo de minerais podem levar a alterações nos valores de pH e acidez (Cavia, Fernández-Muiño, Alonso-Torre, Huidobro & Sancho, 2007).

### 1.9.3 Acidez

Devido às variações dos ácidos orgânicos e alguns íons inorgânicos como o fosfato, provenientes de diferentes fontes de néctar, a acidez do mel também pode resultar da ação da enzima glicose-oxidase produzida nas glândulas hipofaríngeas das abelhas que originam o ácido glucônico (White Júnior, 1975). Esta enzima se mantém ativa mesmo durante o armazenamento, pois permanece em atividade no mel mesmo após o processamento devido à quantidade de minerais presentes no mel e pela ação das bactérias durante a maturação (Bogdanov, Martin & Lüllmann, 1997; Nogueira-Neto, 1997; Gomes et al., 2010).

Valores maiores de acidez podem ocorrer devido à fermentação realizada pelos microrganismos que transformam os açúcares em álcoois a partir da oxidação dos ácidos carboxílicos, sendo que uma alta umidade e altas temperaturas favorecem estes tipos de reações químicas (Almeida-Muradian et al., 2007). Frías e Hardisson (1992) relataram que quando o mel é aquecido em excesso forma-se o hidroximetilfurfural (HMF) pela decomposição da frutose que por sua vez, se decompõem nos ácidos levulínicos e fórmico, contribuindo para valores maiores de acidez.

Os ácidos orgânicos do mel representam menos que 0,5% dos sólidos, tendo um efeito considerável no sabor, podendo ser responsáveis pela estabilidade do mel frente

aos microrganismos (White Júnior, 1975). Mel multifloral apresenta valores de acidez inferiores ao mel unifloral (Küçük, Kolayli, Karaoglu, Ulusoy, Baltaci & Candan, 2007).

#### 1.9.4 Índice de formol

O índice de formol no mel representa, predominantemente, os compostos aminados, permitindo assim, avaliar o seu conteúdo em peptídios, proteína e aminoácidos (Temiz, 1983). Trata-se de um indicativo da presença de nitrogênio no mel (Simal & Huidobro, 1984), sendo um importante componente indicador de adulteração: quando muito baixo pode sugerir a presença de produtos artificiais, ao se mostrar excessivamente alto, mostra que as abelhas foram alimentadas com hidrolisado de proteína (Huidobro & Simal, 1984). Assim, o índice de formol pode ser utilizado para comprovar a autenticidade do mel (Frías & Hardisson, 1992).

#### 1.9.5 Cinzas

O teor de cinzas expressa a riqueza do mel em conteúdos de minerais (Bogdanov, 1999; Marchini, Moreti & Otsuk, 2005; Estevinho et al., 2012). Os minerais encontrados em pequenas quantidades são o cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), cobre (Cu), cádmio (Cd) e zinco (Zn), nas formas de sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) (White Júnior, 1975).

Os minerais influenciam na coloração do mel, podendo estar presentes em maior concentração em mel escuro quando comparados com mel de cor clara (Finola et al., 2007), porém, esta proporção pode ser modificada em função de diversos fatores: origem (mel de origem floral tem menos cinzas que mel de origem não floral, ou mel de melato), região (condições do terreno, clima e solo), espécie de abelhas e tipo de manejo (uso abusivo de fumaça pelo apicultor durante a abertura das colmeias em manejo com abelhas do gênero *Apis*) (Bogdanov et al., 1997; 1999).

A concentração dos minerais varia abundantemente dependendo do tipo de mel, encontrando-se em média, 0,17% (López-García, Vinas, Blanco & Hernandez-Cordoba, 1999). Apesar da baixa porcentagem de minerais presente no mel, eles são considerados importantes do ponto de vista alimentício por apresentarem-se em forma diretamente assimiláveis (Frías & Hardisson, 1992).

#### 1.9.6 Cor

A cor é uma das características do mel que exerce maior influência sobre a preferência do consumidor, que na maioria das vezes escolhe o produto apenas pela aparência. O International Trade Forum (1977) considerou a cor como uma das características do mel que tem particular importância no mercado internacional (Marchini, Sodré & Moreti, 2004).

Variações apresentadas na cor do mel estão relacionadas à sua origem floral, demonstrando a relação destas abelhas com a diversidade das plantas visitadas, armazenamento e processamento do produto (tempo de estocagem, luz, calor e possíveis reações enzimáticas), temperatura em que o mel amadurece na colmeia e fatores climáticos durante o período de fluxo do néctar (Seemann & Neira, 1988). Fatores como a proporção de frutose e glicose, conteúdo de nitrogênio e pela frutose que em solução ácida apresenta-se instável (Bath & Singh, 1999). O conteúdo de minerais interfere consideravelmente na coloração do mel, sendo que mel de coloração mais clara pode conter menores teores de cinzas quando comparado ao mel de coloração mais escura (Al, Daniel, Moise, Bobis, Laslo & Bogdanov, 2009).

#### 1.9.7 Condutividade elétrica

Condutividade elétrica é determinada como a capacidade dos íons presentes em uma solução em conduzir elétrons. Tem sido indicado para auxiliar na determinação da origem botânica do mel, além de possuir correlação direta com o conteúdo de cinzas, pH, acidez, sais minerais, proteínas e demais substâncias no mel (Bogdanov, 1999; Bogdanov, Martin & Lullmann, 2002).

A condutividade do mel tem valor na indicação da origem e da adulteração; se formado de néctar (com alguma diferenciação de acordo com a espécie) ou se formado de melato (Crane, 1985). Pode ser um método rápido para estabelecer se o mel é ou não apropriado para as abelhas estocarem durante períodos de inverno, pois alguns dos componentes que aumentam a condutividade elétrica também podem fazer com que o mel se torne inadequado para as abelhas durante o inverno (Crane, 1985).

#### 1.9.8 Hidroximetilfurfural - HMF

O HMF é formado como um produto intermediário da reação de Maillard pela desidratação direta de açúcares em condições ácidas, principalmente, pela decomposição da frutose durante o tratamento térmico aplicado aos alimentos (Bogdanov et al., 1999; Rizelio, Gonzaga, Borges, Micke, Fett & Costa, 2012). Pode ser



um composto tóxico quando encontrado em quantidades elevadas, motivo que se faz necessária a sua determinação em amostras de mel de diferentes origens. Além disso, pode também ser localizado naturalmente em todos os produtos que contenham água com monossacarídeos em meio ácido, incluindo o mel (Tosi, Ciappini & Lucero, 2002).

No mel, o HMF é um indicador da qualidade que auxilia na identificação de um produto fresco quando em baixas concentrações. Quando verificado em concentrações mais elevadas do que o permitido, o produto pode ter sofrido adulteração (White Júnior, 1980; Nozal, Bernal, Poribio, Jiménez & Martin, 2001; Rizelio et al., 2012).

A adulteração pode ocorrer por substâncias mandibulares acrescidas ao néctar durante o transporte do mesmo até a colmeia, adição de açúcar invertido, estocagem em condições inadequadas, armazenamento prolongado ou até mesmo o superaquecimento do mel, podendo ser afetado pela acidez, pH, água e minerais. Quando elevado indica uma queda no seu valor nutritivo, pela destruição por aquecimento de algumas enzimas e vitaminas termolábeis (White Júnior, 1980; Bogdanov et al., 1997; Nozal et al., 2001).

No entanto, Karabournioti e Zervalaki (2001) afirmaram que somente a quantificação deste composto não é suficiente para comprovar a exposição do mel a tratamentos térmicos entre 40° e 50°C, sendo representativo somente para condições de aquecimento exagerado, e de acordo com White Júnior (1992) nos países subtropicais, em função das altas temperaturas, o mel pode naturalmente ter um alto conteúdo de HMF sem que o mesmo tenha sido adulterado ou mesmo sofrido um superaquecimento.

#### 1.9.9 Proteína

Apesar do pouco conhecimento sobre as características do material proteico presente no mel e de sua pequena ocorrência, esta característica é utilizada para a detecção de possíveis adulterações do produto comercial, junto com o conteúdo de água e sua concentração (Crane, 1979), e é utilizado também como um parâmetro de identificação da maturidade do mel (Costa Leite et al., 1999). A proteína do mel tem duas origens, animal e vegetal.

A proteína de origem animal é proveniente da própria abelha, e trata-se de constituintes das secreções das glândulas salivares, juntamente com produtos recolhidos durante a colheita do néctar ou da maturação do mel (Campos, 1987), e a de origem vegetal ocorre do néctar e do pólen coletados no campo (White Júnior & Rudyj, 1978). Nas flores, os grãos de pólen aparecem agrupados nas anteras, e são liberados quando alcançam a maturidade. O pólen pode cair no interior da própria flor, em que

possivelmente exista néctar ali acumulado. Na polinização cruzada, durante visitas às flores, a abelha toca as anteras e se impregna com o pólen, transmitindo para o néctar que está ingerindo. Em decorrência a este fato, no mel aparecem grãos de pólen das flores das quais o néctar foi coletado (Faegri & Van Der Pijl, 1979).

Dentre os aminoácidos encontrados no mel, a prolina é o que está presente em maior quantidade (White Júnior & Rudyj, 1978). Os demais aminoácidos são produtos da quebra das proteínas e existem em quantidades mínimas em mel normal, estando sua origem mais relacionada às abelhas do que às plantas (Crane, 1985). De maneira geral, os teores proteicos do mel de meliponíneos são baixos, e com relação às abelhas sem ferrão são poucos os trabalhos que analisaram a porcentagem de proteína.

#### 1.9.10 Açúcares

Os açúcares constituem 95% da matéria seca do mel (Bogdanov et al., 1997). Juntamente com a água tornam-se um dos principais componentes, em que os monossacarídeos glicose e frutose representam em torno de 85% dos carboidratos presentes no mel de *Apis*, sendo as frações dominantes e chamadas de açúcares redutores, que têm a capacidade de diminuir íons de cobre em solução alcalina.

Mel proveniente de abelhas sem ferrão apresenta menor teor em açúcares e gosto mais doce. Os teores desses diferentes tipos de açúcares são responsáveis por suas qualidades e propriedades como viscosidade, densidade, granulação, higroscopicidade, valor energético, cristalização e atividade antibacteriana (Crane, 1979; White Júnior, 1979; Costa Leite et al., 2000).

A frutose por ter alta higroscopicidade favorece a doçura do mel e a glicose por ter pouca solubilidade tende a influenciar na cristalização (White Júnior, 1979; Seemann & Neira, 1988). Normalmente, a frutose é predominante na maioria das amostras de mel, sendo que amostras que apresentam elevados teores de frutose podem permanecer líquidas por longos períodos ou até mesmo nunca cristalizar (Crane, 1985).

Os demais açúcares presentes no mel representam 10% e são constituídos pelos dissacarídeos e trissacarídeos (Földhazi, 1994; Goodall, Dennis & Parker, 1995), dentre os quais se destacam os dissacarídeos sacarose e maltose. A sacarose é um açúcar não redutor passível de hidrólise ácida ou enzimática, resultando nos monossacarídeos, frutose e glicose e representa para o mel de *Apis* em média 2-3% dos carboidratos e quando superior a este valor, geralmente, indica um mel verde ou adulterado (Vidal & Fregosi, 1984; Azeredo, Azeredo, Souza & Dutra, 2003).

### 1.9.11 Viscosidade

A viscosidade e as outras propriedades físico-químicas do mel dependem de muitos fatores, incluindo a composição e a temperatura, sendo que um dos fatores de maior importância para a viscosidade é o conteúdo de água e, geralmente, a viscosidade decresce com o aumento do conteúdo de água no meio (Abu- Jdayil, Ghzawi, Al-Malah & Zaitoun, 2002).

Estudos desta característica são de grande importância, uma vez que os modelos reológicos obtidos são úteis para relacionar propriedades reológicas de um fluido com grandezas práticas, como concentração, temperatura, pH, índice de maturação dentre outros. Este conhecimento é indispensável no controle de qualidade, no controle intermediário em linhas de produção e no projeto e dimensionamento de equipamentos e processos (Pereira, Queiroz & Figueiredo, 2003; Queiroz, Figueiredo, Silva & Mata, 2007).

### 1.9.12 Diastase

O mel contém enzimas em quantidades muito baixas, e a atividade enzimática ocorre por ação conjunta da diastase ( $\alpha$ - e  $\beta$ -amilase), alfa-glicosidase, peroxidase, lipase, invertase, glicose-oxidase, catalase e a fosfatase ácida. São formadas a partir das glândulas hipofaríngeas das abelhas e de fontes nectaríferas, sendo encontradas também em baixa proporção nos grãos de pólen (Huidobro, Santana, Sanchez, Sancho, Muniategui & Simal-Lozano, 1995).

Notavelmente, a enzima diastase é uma das mais importantes. O nível de diastase encontrado no mel depende da origem geográfica e origem botânica e são indicadores da qualidade do produto (Küçük et al., 2007), e sua função é digerir a molécula de amido, estando, possivelmente, envolvida na digestão do pólen.

A atividade diastásica está intimamente relacionada com a estrutura do mel e pode ser modificada por desnaturação feita por aquecimento. Esta enzima apresenta maior sensibilidade ao calor, pois sua atividade decresce com o armazenamento e o superaquecimento do mel, podendo ser um parâmetro usado para indicar o grau de conservação do produto, o que compromete seriamente a qualidade do mesmo (Bogdanov, Ruoff & Persano-Oddo, 2004; Fallico, Arena, Verzera & Zappalà, 2006; Tosi, Martinet, Ortega, Lucero & Ré, 2008; Gomes et al., 2010).

Outro indicativo para se encontrar níveis enzimáticos reduzidos, são em

amostras de mel proveniente de rápidos fluxos de néctar, devido ao acúmulo deste material a ser processado no interior da colmeia. Também se observou que o néctar com elevada concentração de açúcares necessita de menos manipulação pelas abelhas para ser convertida em mel apresentando assim, uma tendência a níveis mais baixos de invertase responsável pela transformação da sacarose em glicose e frutose (Crane, 1985).

As amilases são divididas em dois grandes grupos: as exoamilases e as endoamilases. As exoamilases hidrolisam exclusivamente ligações glicosídicas -  $\alpha$  1,4 como a  $\alpha$ -amilase ou ambas as ligações  $\alpha$  - 1,4 e  $\alpha$  -1, 6, como amiloglicosidase e glicosidase; as endoamilases catalisam hidrólises de forma casual no interior da molécula do amido. A enzima  $\alpha$ -amilase possui pH ótimo de atividade na faixa entre 6 - 7. Quando em meio mais alcalino ou ácido do que esta faixa de pH a atividade da enzima tende a diminuir gradativamente até ser inativada por desnaturação (Gupta, Gigras, Mohapatra, Goswami & Chauhan, 2003).

#### 1.9.13 Atividade de água- Aw

O conceito de atividade de água tem sido utilizado para avaliar as interações da água com outros componentes do alimento, uma vez que a água caracteriza-se como um dos principais componentes de muitos alimentos (Hardy, Scher & Banon, 2002). A água presente nos alimentos pode ser classificada como água disponível e água retida.

A água disponível está livre para atuar como solvente e participar de reações físicas, químicas e microbiológicas, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto (Scott, Clavero & Troller, 2001). A água retida está intimamente ligada às moléculas constituintes do produto, não podendo ser removida ou utilizada em qualquer tipo de reação (Hardy et al., 2002).

Assim como outros alimentos que possui elevada concentração de açúcar, o mel apresenta baixa atividade de água, um parâmetro que determina a água disponível no alimento e que estará disponível para o metabolismo microbiano, o que irá interferir na atividade microbiana no mel. Essa característica confere ao produto estabilidade em sua microbiota (Bera & Almeida-Muradian, 2007).

A relevância desta característica está relacionada ao fato da água ser o principal componente de muitos alimentos e ter influência sobre sua estabilidade bioquímica. A determinação de água de um produto é essencial para garantir a sua qualidade, preservação e validade do produto (Hardy et al., 2002; Gleiter, Horn & Isengard, 2006).

## 1.10 Análise de Componentes Principais -ACP

A Análise de Componentes Principais - ACP é uma técnica de análise exploratória de dados multivariados. Esta técnica modifica um conjunto de variáveis correlacionadas num conjunto pequeno de variáveis independentes, simplificando os dados da redução do número de variáveis necessárias para delinear-los, que são combinações lineares das variáveis analisadas originais, nomeadas por componentes principais, avaliando as relações de um conjunto de variáveis entre si (Kendal, 1950; Moroco, 2007; Pestana & Gageiro, 2014), que poderão ser utilizados como indicadores que resumem a informação contida nas variáveis originais (Moreira, 2007), sendo uma técnica empregada em variáveis quantitativas.

Originalmente descrita por Karl Pearson em 1901, o uso da técnica de componentes principais foi aplicada na utilização do ajustamento de um subespaço a uma nuvem de pontos. Consolidada por Hotelling em 1933 e 1936, a técnica teve como propósito particular a análise de estruturas de correlações (Manly, 2005). Em decorrência à grande disponibilidade de recursos de computadores e de software aplicados, esta técnica tornou-se largamente disponível e, principalmente, utilizada nas diversas áreas aplicadas da ciência. Souza, Hosokawa, Kirchner e Machado (1990) define como sendo de grande importância o conhecimento da técnica dos componentes principais, pois o mesmo emprega-se no fato dela constituir um procedimento básico do qual derivam vários outros métodos de análise de dados multivariados, como por exemplo, análise de agrupamento ou *cluster analysis*.

## Referências

- Abu-Jdayil, B., Ghzawi, A. A. M., Al-Malah, K. I. M., & Zaitoun, S. (2002). Heat effect on rheology of light and dark-colored honey. *Journal of Food Engineering*, 51, 33-38.
- Aidar, D. S., & Campos, L. A. O. (1998). Manejo e manipulação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Apidae: Meliponinae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 27, 157-159.
- Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112, 863-867.
- Alexander, B. A., & Michener, C. D. (1995). Phylogenetic studies of the families of short-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea). *The University of Kansas Science Bulletin*, 55, 377-424.
- Almeida-Muradian, L. B., Matsuda, A. M., & Bastos, D. H. M. (2007). Physicochemical parameters of amazon *Melipona* honey. *Química Nova*, 30, 707-708.
- Alves, R. M. O., Carvalho, C. A. L., Souza, B. A., & Marchini, L. C. (2005). Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 644-650.
- Andrade, R. C. P. (2003). *Apicultura – Mundo, Brasil, Paraná*. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, 38p.
- Azeredo, M. A. A., Azeredo, L. C., & Damasceno, J. G. (1999). Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis-RJ. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 19, 3-7.
- Azeredo, L. C., Azeredo, M. A. A., Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249-254.
- Ballivián, J. M. P. P. (2008). *Abelhas nativas sem ferrão*. São Leopoldo: Oikos, 128p.
- Barth, O. M. (1989). *O pólen no mel brasileiro*. Rio de Janeiro: Luxor, 150p.
- Barth, F. G. (1991). *Insects and flowers - the biology of a partnership*. Princeton: Princeton University Press, 408p.
- Barth, O. M. (2004). Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analyses of honeys, propolis and pollen loads of bees. *Scientia Agrícola*, 61, 342-350.
- Bath, P. K., & Singh, N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatu* honey. *Food Chemistry*, 67, 389-387.
- Bawa, K. S. (1990). Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 399-422.

Bera, A., & Almeida-Muradian, L. B. (2007). Physicochemical properties of commercial samples of honey added with propolis from São Paulo state, Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 49-52.

Bijlsma, L., Bruijn, L. L. M., Martens, E. P., & Sommeijer, M. J. (2006). Water content of stingless bee honey (Apidae, Meliponini): Interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. *Apidologie*, 37, 480-486.

Bogdanov, S., Martin, & P. Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, 28, 1-59.

Bogdanov, S. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee world*, 80, 61-69.

Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Odo, L. P., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., Lheritier, J., Borneck, R., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A., Ivanov, T., D'Arcy, B., Mossel, B., & Vit, P. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 80, 61-69.

Bogdanov, S., Martin, P., & Lüllmann, C. (2002). Harmonised methods of the International Honey Commission. *Swiss Bee Research Centre*, Switzerland: FAM, Liebefeld, CH-3003 Bern, 62p.

Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano-Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35, S4-S17.

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of the College of Nutrition*, 27, 677-689.

Borg-Karlson, A. K., Unelius, C. R., Valterova, I., & Nilsson, L. A. (1996). The flora fragrance chemistry in the early flowering shrub *Daphne mezereum*. *Phytochemistry*, 41, 1483.

BRASIL (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). Instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. URL <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690>. Acessado em: 04.01.15.

Campos, M. G. R. (1987). Contribuição para o estudo do mel, pólen, geléia real e própolis. *Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra*, 11, 17-47.

Carvalho, C. A. L., Souza, B. A., Sodré, G. S., Marchini, L. C., & Alves, R. M. O. (2005). *Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para caracterização físico-química*. Cruz das Almas: UFBA; SEAGRI-BA, (Série Meliponicultura,4), 32p.

Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100, 1728-1733.

- Corbet, S. A., Williams, I. H., & Osborne, J. L. (1991). Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community. *Bee World*, 72, 47-59.
- Costa Leite, S. M., Albuquerque, M. L. S., Trugo, L. C., Quinteiro, L. M. C., Barth, O. M., Ribeiro, M., & de Maria, C. A. B. (1999). Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. *Food Chemistry*, 65, 347-352.
- Costa Leite, J. M., Trugo, L. C., Costa, L. S. M., Quinteiro, L. M. C., Barth, O. M., Dutra, V. M. L., & De Maria, C. A. B. (2000). Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, 70, 93-98.
- Cortopassi-Laurino, M., & Gelli, D. S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. *Apidologie*, 22, 61-73.
- Crane, E. (1979). *Honey: a comprehensive survey*. London: Heinemann, 608p.
- Crane, E. (1985). *O livro do mel*. São Paulo: Livraria Nobel, 226p.
- Crane, E. (1997). *Bee products, properties, applications, and Apitherapy*. United Kingdom: Springer US, (Chapter 1).
- Del-Claro, K., & Torezan-Silingardi, H. M. (2012). *Ecologia das Interações Plantas-Animais: uma abordagem ecológico evolutiva*. Rio de Janeiro: Technical Books, 336p.
- De Maria, C. A. B., & Moreira, R. F. A. (2003). Compostos voláteis em méis florais. *Química Nova*, 26, 90-96.
- Estevinho, L. M., Feás, X., Seijas, J. A., & Vázquez-Tato, M. P. (2012). Organic honey from *Trás-Os-Montes* region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 258-264.
- Evangelista - Rodrigues, A., Silva, E. M. S., Beserra, M. F., & Rodrigues, M. L. (2005). Análise físico - química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. *Ciência Rural*, 35, 1166-1171.
- Ezenwa, S. A. (2006). Food safety and HACCP. *Bee Culture*, 134, 20-23.
- Faegri, K., & Van der Pijl, L. (1979). *The principles of pollination ecology*. (3ed.). Oxford: Pergamon Press, 244p.
- Fallico, B., Arena, E., Verzera, A., & Zappalà, M. (2006). The European Food Legislation and its impact on honey sector. *Accreditation and Quality Assurance*, 11, 49-54.
- Finola, M. S., Lasagno, M. C., & Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from Central Argentina. *Food Chemistry*, 100, 1649-1653.
- Fontana Jr, A. J. (2000). Understanding the importance of water activity in food. *Cereal Foods World*, 45, 7-10.



- Földhazi, G. (1994). Analysis and quantitation of sugars in honey of different botanical origin using high performance liquid chromatography. *Acta Alimentaria*, 23, 299-311.
- Franco, B. D. G. M., & Landgraf, M. (2005). *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 196p.
- Frías, I., & Hardisson, A. (1992). Estudio de los parámetros analíticos de interés en la miel. II: Azúcares, cenizas y contenido mineral y color. *Alimentaria*, 28, 41-43.
- Free, J. B. (1993). *Insect pollination of crops*. London: Academic Press, 684p.
- Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., & Vaissiere, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68, 810-821.
- Gilliam, M., & Prest, D. B. (1987). Microbiology of feces of the larval honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 49, 70-75.
- Gilliam, J. (1997). Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiology Letters*, 155, 1-10.
- Goodall, I., Dennis, M. J., & Parker, I. (1995). Contribution of high performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates to authenticity testing of honey. *Journal of Chromatography*, 706, 353-359.
- Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 544-548.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2003). Microbial  $\alpha$  - amylases: biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38, 1599-1616.
- Gleiter, R. A., Horn, H., & Isengard, H. D. (2006). Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. *Food Chemistry*, 96, 441-445.
- Hajjar, R., Jarvis, D. I., & Gemmill-Herren, B. (2008). The utility of crop genetic diversity in maintaining ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123, 261-270.
- Hardy, J., Scher, J., & Banon, S. (2002). Water activity and hydration of dairy powders. *Le Lait*, 82, 441-452.
- Heard, T. A. (1999). The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology*, 44, 183-206.
- Heithaus, E. (1979). Community structure of neotropical flower visiting bees and wasps: diversity and phenology. *Ecology*, 60, 190-202.
- Huidobro, J. F., & Simal, J. (1984). Determination of sugars in honey. *Anales de*

*Bromatologia*, 36, 247-264.

Huidobro, J. F., Santana, F. J., Sanchez, M. P., Sancho, M. T., Muniategui, S., & Simal-Lozano, J. (1995). Diastase, invertase and alpha-glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. *Journal of Apicultural Research*, 34, 39-44.

International Trade Forum.(1977). Upswing in the honey market. *International Trade Forum*, 13, 21-31.

Karabournioti, S., & Zervalaki, P. (2001). Efecto del calentamiento en el HMF y la invertasa de la miel. *Apiacta*, 36, 177-181.

Kendall, M. G. (1950). Factor analysis as a statistical technique. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*, 22, 60-73.

Kerr, W. E., Carvalho, G. A., & Nascimento, V. A. (1996). *Abelha urucu: biologia, manejo e conservação*. Belo Horizonte: Fundação Aguangaú, 143p.

Kerr, W. E. (1997). A importância da meliponicultura para o país. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 1, 42-44.

Koop, T. (2002). The water activity of aqueous solutions in equilibrium with ice. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 75, 2587-2588.

Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526-534.

Klein, A., Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T. (2003). Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 955-961.

Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tschardtke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 303-313.

Kleinert-Giovannini, A. (1989). A vida das abelhas “sem ferrão”. *Apicultura no Brasil*, 32, 38-40.

Lacaz-Ruiz, R. (2000). *Manual práctico de microbiología básica*. São Paulo: EDUSP, 129p.

López-García, I., Vinas, P., Blanco, C., & Hernandez-Cordoba, M. (1999). Fast determination of calcium, magnesium and zinc in honey using continuous flow flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 49, 597-602.

Manly, B. F. J. (2005). *Multivariate statistical methods: A primer*. (3ed.). London: Chapman & Hall/CRC, 208p.

Marchini, L. C., Sodr e, G. S., & Moreti, A. C. C. C. (2004). *Mel brasileiro: composi o*

*e normas*. Ribeirão Preto: ASP, 111p.

Marchini, L. C., Moreti, A. C. C. C., & Otsuk, I. P. (2005). 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 de Alimentos*, 25, 8-17.

Michener, C. D. (1974). *The social behavior of bees: a comparative study*. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, 404p.

Michener, C.D. (2007). *The bees of the world*. (2ed.). Baltimore: Johns Hopkins University Press, 992p.

Migdal, W., Owczarczyk, H. B., Kedzia, B., Holderna-Kedzia, E., & Madajczyk, D. (2000). Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 57, 285-288.

Molan, P. C. (1997). *Bee products, properties, applications, and apitherapy*. United Kingdom: Springer US, (Chapter 3).

Moreira, R. F. A., & De Maria, C. A. B. (2001). Glicídios no mel. *Química Nova*, 24, 516-525.

Moreira, A. C. (2007). Comparação da análise de componentes principais e da CATPCA na avaliação da satisfação do passageiro de uma transportadora aérea. *Investigação operacional*, 27, 165-178.

Moroco, J. (2007). *Análise estatística com utilização do SPSS*, Lisboa: Sílabo, 824p.

Nogueira-Couto, R. H.; & Couto, L. A. (2006). *Apicultura: manejo e produtos*. (3 ed.). Jaboticabal: Funep, 193p.

Nogueira-Neto, P., & Sakagami, S. F. (1966). Nest structure of a subterranean stingless bee - *Geotrigona mombuca* Smith (Meliponinae, Hymenoptera: Apoidea). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 38, 187-194.

Nogueira-Neto, P. (1970). *A criação de abelhas indígenas sem ferrão*. (2 ed.). São Paulo: Tecnapis, 365p.

Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. São Paulo: Nogueirapis, 445p.

Novak, F. R., & Almeida, J. A. G. (2002). Teste alternativo para a detecção de coliformes em leite humano ordenhado. *Jornal de Pediatria*, 78, 193-196.

Nozal, M. J., Bernal, J. L., Poribio, L., Jiménez, J. J., & Martín, M. T. (2001). Highperformance liquid chromatographic determination of methyl anthranilate, hydroxymethylfurfural and related compounds in honey. *Journal Chromatography A*, 917, 95-103.

Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for

microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7, 159-165.

Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120, 321-326.

Park, Y. K., Alencar, S. M., & Aguiar, C. L. (2002). Estudo da composição fenólica de méis e própolis oriundos de mesma colméia. *Revista Mensagem Doce*, 67, 1-11.

Pereira, F. M., Lopes, M. T. R., Camargo, R. C. R., & Vilela, S. L. O. (2003). Produção de mel. Embrapa Meio Norte, Sistema de Produção, 3. URL <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/index.htm>. Acessado em: 26.02.15.

Pereira, E. A., Queiroz, A. J. M., & Figueiredo, R. M. F. (2003). Comportamento reológico de mel da abelha urucu (*Melipona scutellaris*, L.). *Revista de Ciências Exatas e Naturais*, 5, 179-186.

Pereira, F. M. P. (2005). Abelhas sem ferrão, a importância da preservação. URL <http://www.cpamn.embrapa.br/apicultura/abelhasSemFerrao.php>. Acessado em 12.03.15.

Pereira, A. P., Dias, T., Andrade, J., Ramalhosa, E., & Estevinho, L. M. (2009). Mead production: selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2057-2063.

Persano-Oddo, L., & Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35, S38-S81.

Pestana, M. H., & Gageiro, J. N. (2014). *Análise de Dados para Ciências Sociais. A Complementaridade do SPSS*. (6 ed.). Lisboa: Sílabo, 1237p.

Poinar Jr, G. (1994). Bees in fossilized resin. *Bee World*, 75, 2, 71-77.

Queiroz, A. J. M., Figueiredo, R. M. F. de., Silva, C. L. da., & Mata, M. E. R. M. C. (2007). Comportamento reológico de méis de florada de silvestre. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 11, 190-194.

Ribeiro, E. P., & Seravalli, E. A. G. (2004). *Química dos alimentos*. São Paulo: Edgard Blücler, Instituto Mauá de Tecnologia, 184p.

Ricketts, T. H. (2004). Tropical forest fragments enhance pollinator activity in nearby coffee crops. *Conservation Biology*, 18, 1262-1271.

Rizelio, V. M., Gonzaga, L. V., Borges, G. S. C., Micke, G. A., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2012). Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. *Food Chemistry*, 133, 1640-1645.

Roig-Alsina, A., & Michener, C. D. (1993). Studies of the phylogeny and classification of long-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea). *The University of Kansas Science*

*Bulletin*, 55, 123-173.

Roubik, D. W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge: Cambridge University Press, 514p.

Roubik, D. W. (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, 37, 124-143.

Sakagami, S. F. (1982). Stingless bees. In H. R. Hermann (Eds.), *Social Insects* (pp. 362-421) New York: Academic Press.

Sato, T., & Miyata, G. (2000). The nutraceutical benefit, Part III: Honey. *Nutrition*, 16, 6.

Seemann, P., & Neira, M. (1988). *Tecnología de la producción apícola*. Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 202p.

Simal, J., & Huidobro, J. (1984). Parámetros de qualidade de la miel III. Acidez (pH, libre, lactónica & total) e índice de formol. *Offarm*, 3, 532.

Silveira, F. A., Melo, G. A. R., & Almeida, E. A. B. (2002). *Abelhas brasileiras: sistemática e classificação*. Belo Horizonte: Fundação Araucária, 253p.

Sodré, G. S., Marchini, L. C., Rosa, V. P., Moreti, A. C. C. C., & Carvalho, C. A. L. (2007). Conteúdo microbiológico de méis de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) dos Estados do Ceará e Piauí. *Boletim de Indústria Animal*, 64, 39-42.

Souza, A. L., Hosokawa, R. T., Kirchner, F. F., & Machado, S. A. (1990). Análise multivariada para manejo de floresta natural na reserva florestal de Linhares, Espírito Santo: análises de agrupamento e discriminante. *Revista Árvore*, 14, 85-101.

Souza, B. A., Carvalho, C. A. L., Sodré, G. S., & Marchini, L. C. (2004). Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). *Ciência Rural*, 34, 1623-1624.

Souza, B. A., Roubik, D. W., Barth, O. M., Heard, T. A., Enríquez, E., Carvalho, C. A. L., Villas-Bôas, J. K., Marchini, L. C., Locatelli, J. C., Persano-Oddo, L., Almeida-Muradian, L. B., Bogdanov, S., & Vit, P. (2006). Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*, 31, 867-875.

Scott, V. N., Clavero, R. S., & Troller, J. A. (2001). Measurement of water activity (aw), acidity, and brix. In F. P Downes, K. Ito (4Eds). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (pp. 649-659). Washington: American Public Health Association (APHA).

Slaa, E. J., Sanchez Chaves, L. A., Malagodi-Braga, K. S., & Hofstede, F. E. (2006). Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37, 293-315.

Sharaf, M. A., Iman, D. L., & Kowalski, B. R. (1986). *Chemometrics*. New York: John Wiley & Sons, 352p.

Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31, 1-26.

Snowdon, J. A. (1999). The microbiology of honey - meeting your buyers specifications (Why they do what they do). *American Bee Journal*, 139, 51-60.

Steels, H., James, S. A., Roberts, I. N., & Stratford, M. (1999). *Zygosaccharomyces lentus*: a significant new osmophilic, preservative-resistant spoilage yeast, capable of grow at low temperature. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 520-527.

Temiz, A. I. (1983). Composition and characteristics of honeys from the Izmir region, and effects of different storage methods. *Ege Bolge Zirai Arastirma Enstitusu Yayinlari*, 31, 113.

Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., & Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88, 537-542.

Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., & Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hidroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77, 71-74.

Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., & Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 106, 883-887.

Tysset, C., & Rousseau, M. (1981). Problem of microbes and hygiene of commercial honey. *Review Medicine Veterinary*, 132, 591-600.

Vidal, R., & Fregosi, E. V. (1984). *Mel: características, análises físico-químicas, adulterações e transformações*. Barretos: Instituto Tecnológico Científico "Roberto Rios", 95p.

Villanueva-Gutierrez, R., Roubik, D. W., & Colli-Ucán, W. (2005). Extinction of *Melipona beecheii* and traditional beekeeping in the Yucatán peninsula. *Bee World*, 86, 35-41.

Vit, P., & Pulcini, P. (1996). Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honeys from Venezuela. *Journal of Apicultural Research*, 35, 57-62.

Vit, P., Persano-Oddo, L., Marano, M. L., & Salas de Mejias, E. (1998). Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physiochemical properties. *Apidologie*, 29, 377-389.

Vit, P., Pedro, S. R. M., & Roubik, D. (2013). Pot honey - a legacy of stingless bees. New York: Springer, 654p.

Willis, K. G., & Garrod, G. D. (1993). Valuing landscapes: a contingent valuation approach. *Journal of Environmental Management*, 37, 1-22.

White Júnior, J. W. (1975). Physical characteristics of honey. In E Crane (Eds.), *Honey*:

*a comprehensive survey* (pp. 207-239). London: Heinemann.

White Júnior, J. W., & Rudyj, O. N. (1978). The protein content in honey. *Journal of Apicultural Research*, 17(4), 234-38.

White Júnior, J. W. (1979). Composition of honey. In E Crane (Eds.), *Honey: a comprehensive survey* (pp. 157-207). London: Heinemann.

White Júnior, J. W. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 63, 1-8.

White Júnior, J. W. (1992). Quality evaluation of honey: role of HMF and diastase assays. Part II. *American Bee Journal*, 132, 792-794.

## II – OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de amostras de mel de meliponíneos de seis regiões do Estado do Paraná.
- Os resultados desta pesquisa, com demais já existentes, seria um ponto de partida para criação de uma base de dados sólida para a formação de uma Normativa Estadual e Nacional sobre mel de abelhas sem ferrão, incluindo todas as características usuais para controle de qualidade de mel, e buscando uma possível diferenciação entre as espécies de meliponíneos em relação aos parâmetros avaliados.
- Sugerir uma proposta de valores para a padronização dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos para o mel de meliponíneos, via normativa estadual e/ou federal.



### III – Composição microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão de seis regiões do Estado do Paraná

RESUMO: Amostras de mel de meliponíneos de seis regiões do Estado do Paraná foram avaliadas. As amostras de mel foram de *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) e *Melipona bicolor schencki* (n=01). Foram realizadas as seguintes análises: Contagem de coliformes a 35°C, Contagem de coliformes a 45°C, Contagem de fungos e detecção de *Salmonella* spp. Para microrganismos do grupo coliformes, 15,38% das amostras analisadas apresentaram valores  $>3\text{NMP.g}^{-1}$  para coliformes a 35°C. Em 7,69% delas foi observado resultado positivo para coliformes a 45°C, sendo todas amostras de *T. angustula*. Para contagem de fungos, 100,00% das amostras analisadas apresentaram valores acima do máximo permitido pela Resolução MERCOSUL/GMC/RES N° 15/94. 100,00% das amostras apresentaram ausência de *Salmonella* spp. Estes resultados permitem sugerir uma contaminação natural ou pós-processamento do produto, indicando falhas quanto às boas práticas de manipulação.

PALAVRAS-CHAVE: qualidade; mel; meliponíneos; bactérias; fungos.

ABSTRACT: Stingless bee honey samples from six regions of Paraná State were evaluated. The honey samples were *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) and *Melipona bicolor schencki* (n=01). The following analyzes were performed: Count coliforms at 35°C, 45°C Coliform Count, Count of fungi and detection of *Salmonella* spp. For microorganisms from the coliform group, 15.38% of the samples presented values  $>3\text{NMP.g}^{-1}$  for coliforms at 35°C. In 7.69% of them a positive result for coliforms at 45°C was found, all samples from *T. angustula*. For fungi count, 100.00% of the

samples were above the maximum amounts permitted by resolution MERCOSUR / GMC / RES N° 15/94. 100.00% of the samples did not present *Salmonella* spp. These results suggested a natural contamination or post-processing of the product, indicating failures on good handling practices.

KEYWORDS: quality; honey; stingless bees; bacteria; fungi

## **Introdução**

Assim como os demais produtos oferecidos pelas abelhas, o mel caracteriza-se como um produto natural, saudável e limpo (Bogdanov, 2006). O mel naturalmente contém microrganismos em níveis e tipos mínimos, que oferecem subsídios para seu controle na indústria e às suas características naturais.

Os microrganismos de referência no mel são os fungos e os esporos de bactérias (De Maria & Moreira, 2003). Contendo uma microflora distinta e própria, o mesmo apresenta uma elevada atividade antimicrobiana, geralmente relacionada a fatores físicos como a osmolaridade e químicos devido à presença de compostos voláteis e peróxido de hidrogênio. A enzima glicose oxidase e os compostos fenólicos adequam uma barreira ao desenvolvimento dos microrganismos devido à forte característica oxidante destes compostos (De Maria & Moreira, 2003). Apesar destas características ainda é possível observar a ocorrência de microrganismos no mel.

A microbiota presente no mel pode ser dividida em dois grupos distintos de microrganismos. Os inerentes ao mel, que constituem a fonte primária de contaminação, destacando-se os esporos bacterianos, bolores e as leveduras (Olaitan, Adeleke & Ola, 2007) que, em condições normais de umidade, não interferem na qualidade do mel e, não são patogênicos; e os provenientes da contaminação secundária relacionada diretamente à extração, manipulação e beneficiamento do produto (Snowdon & Cliver, 1996). Esta rica microbiota presente constitui-se em um dos principais critérios de avaliação da qualidade do produto, juntamente com as demais características físicas, químicas e sensoriais (Bogdanov, 1999).

O grupo coliforme, nomeadamente os coliformes totais ou a 35°C, é composto por bactérias gram-negativas não esporuladas, com produção de ácido e gás em temperatura que varia entre 32° e 37°C, e fermentadoras de lactose. Por sua vez, os coliformes termotolerantes ou a 45°C compõem-se em um subgrupo dos coliformes

totais, cujo *habitat* natural é o trato intestinal dos animais de sangue quente e podem também estar presentes em outros ambientes como na água e nos vegetais, e que do ponto de vista sanitário funcionam como indicadores capazes de evidenciar se o alimento teve contato com materiais de origem fecal (Novak & Almeida, 2002).

O número de bactérias presente no mel pode ser variável, dependendo da origem floral, umidade, técnicas de colheita e temperatura de armazenamento (Snowdon, 1999). A qualidade do mel está intimamente ligada às práticas higiênicas do produtor, mas também está relacionada com os hábitos higiênicos das abelhas, pois é conhecido que muitas espécies sobrevoam e pousam em matéria fecal (Nogueira-Neto, 1997), o que pode causar alteração da qualidade do produto final.

Existe um elevado interesse pelos pesquisadores em conhecer que tipo de microrganismos está presente no mel e sua quantidade, uma vez que o mesmo é usado como componente de remédios, cosméticos e alimento. Embora estes microrganismos, exceto alguns fungos e algumas leveduras, não possam crescer no mel, eles podem permanecer no meio, sendo transmitidos para um produto novo, como a exemplo do mel que é usado como ingrediente e ali podem se multiplicar até deteriorar este produto (Snowdon, 1999). Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão advindas de seis regiões do Estado do Paraná, averiguando a qualidade do produto comercializado.

## **Material e Métodos**

Foram utilizadas 26 amostras de mel de meliponíneos das seguintes espécies: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=5), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=5) e *Melipona bicolor schencki* (n=1). Todas as amostras comerciais foram provenientes de meliponicultores distintos e de diferentes localidades e regiões do Estado do Paraná, entre o período de fevereiro de 2014 a dezembro de 2014, vide Fig.1.

As amostras foram obtidas conforme métodos práticos de colheita de cada produtor. Depois de colhido, o mel foi envasado em potes de polipropileno ou de vidros devidamente esterilizados e armazenados sob refrigeração à temperatura de 5°C até o início das análises.

Logo após o recebimento das amostras, as análises iniciaram-se no Laboratório de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR *Campus* de

Campo Mourão e no laboratório de Apicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Todas as análises foram feitas em triplicata para aferir maior confiabilidade aos resultados obtidos. Seguindo métodos descritos pelas normas internacionais da APHA - comissão técnica APHA em métodos microbiológicos para alimentos (Vanderzant & Splittstoesser, 1992), foram realizadas as seguintes análises microbiológicas: Contagem de coliformes a 35°C e a 45°C, Contagem de fungos e pesquisa de *Salmonella* spp (Mapa, 2003).

Uma alíquota de 25,0g de cada amostra de mel foi pesada em balança analítica modelo Marte científica AD 500 e diluída em 225,0 mL de água peptonada tamponada 0,10% para obtenção da primeira diluição ( $10^{-1}$ ). Para o preparo das diluições decimais seriadas, foram utilizados tubos de ensaio com rosca contendo 9,0 mL do mesmo diluente até diluição de  $10^{-3}$ .

Para contagem de coliformes a 35°C, foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP.g<sup>-1</sup>), sendo primeiramente realizado o teste presuntivo utilizando o caldo Lauril sulfato triptose e posterior incubação das diluições, em estufa bacteriológica modelo TE – 392/2 Tecnal a 35°C por 48 horas. Para os tubos das três séries de LST que apresentaram resultados positivos (com crescimento e formação de gás no interior do tubo de Durham), foi efetuado o teste confirmatório utilizando o caldo verde bile brilhante para coliformes a 35°C, e o caldo *Escherichia coli* para coliformes a 45°C, sendo este último mantido em banho-maria (modelo Marconi, banho metabólico Dubnoff MA093) sob agitação à temperatura de 44,5°C por 24 horas. O Número Mais Provável de Coliformes 35°C e 45°C (NMP.g<sup>-1</sup>) foi obtido por análise da tabela de Hoskins.

Para contagem de fungos, 1,0 mL das diluições anteriores foram plaqueadas pelo método pour-plate, utilizando o meio ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico 10,00% até pH 3,5. A incubação se deu em estufa bacteriológica modelo Quimis a 25°C durante sete dias. Após esse período as placas foram retiradas da estufa e foram contadas o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g<sup>-1</sup>).

Para as análises de *Salmonella* spp, uma alíquota de 25,0 g de cada amostra de mel foi pesada em balança analítica modelo Marte científica AD 500 para a inoculação na etapa de pré-enriquecimento e adicionados 225,0 mL de solução salina peptonada 1,00% tamponada. As amostras foram incubadas por 20 horas a 36°C em estufa bacteriológica. Alíquotas de 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas foram transferidas para tubos distintos contendo 10,0 mL de caldo rappaport e 10,0 mL de caldo selenito

cistina, e levadas para incubação a 41°C por 24 horas em banho-maria (modelo Quimis, banho Dubnoff microprocessado Q226M2).

Para o isolamento e seleção de colônias de *Salmonella* spp em placas, foi utilizado o isolamento a partir de dois meios sólidos: ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose, e o ágar Hektoen. Para o isolamento a partir dos caldos de enriquecimento rappaport vassiliadis e selenito-cistina, as placas foram repicadas nos meios sólidos seletivos. Todas as placas foram incubadas em estufa bacteriológica modelo TE-392/2 Tecnal a 36°C por 24 horas. Posteriormente foram verificadas a presença ou ausência da formação de colônias típicas de *Salmonella* spp.

Foi determinado o valor de umidade (%) e atividade de água das amostras de mel a fim de relacionar estas características com a atividade microbiológica do meio. A umidade foi determinada seguindo o método descrito por Atago Co (1988) utilizando o método refratométrico.

A atividade de água foi determinada por meio de um medidor modelo LabSwift novasina, que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado (Decagon, 2003). Para análise estatística dos dados foi realizado o método estatístico multivariado de Análise de Componentes Principais pelo programa Matlab, R2013b ® (Sharaf, Ilman, & Kowalski, 1986), de modo a verificar as similaridades e diferenças entre os dados obtidos das amostras avaliadas.

A análise de componentes principais é uma técnica de análise exploratória de dados multivariados. Esta técnica modifica um conjunto de variáveis correlacionadas num conjunto pequeno de variáveis independentes, simplificando os dados pela redução do número de variáveis necessárias para delinearlos, que são combinações lineares das variáveis analisadas originais, nomeadas por componentes principais, avaliando assim as relações de um conjunto de variáveis entre si (Pestana & Gageiro, 2014), que poderão ser utilizados como indicadores que resumem a informação contida nas variáveis originais.

As amostras de mel analisadas, além de produzidas por diferentes espécies de abelhas, foram também procedentes de diversas localidades e avaliadas de acordo com diferentes parâmetros microbiológicos - coliformes, fungos, *Salmonella*, atividade de água e umidade. Portanto, para se fazer uma avaliação geral dos dados, foi necessário a utilização do método de análise de componentes principais por trazer informações sobre quais amostras se assemelham (*scores*) e os motivos ou cargas que caracterizam tal separação (*loadings*).

Foram utilizados oito componentes principais para explicar 97,43% da variância total dos dados. Esta técnica objetiva a redução do número de variáveis analisadas.

## Resultados e Discussão

Os resultados microbiológicos para número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem de fungos, pesquisa de *Salmonella* spp., umidade e atividade de água com suas respectivas médias, mediana e desvio padrão das amostras são apresentados na Tabela 1. Para contagens dos microrganismos dos grupos coliformes a 35 e 45°C, 15,38% e 7,69% das amostras analisadas respectivamente apresentaram valores  $>3\text{NMP.g}^{-1}$ , sendo todas de *T. angustula*.

Nogueira-Neto (1997) admitiu o fato de algumas espécies de meliponíneos como a *M. subnitida* - jandaíra nordestina, *T. spinipes* – irapuá apresentarem hábitos anti-higiênicos, havendo registros de coletas diretas em materiais fecais. Wille e Michener (1973) observaram que certas espécies de Meliponíneos empregam nos ninhos fezes humanas e de animais, principalmente na parte externa de ninhos expostos.

Para as espécies avaliadas *S. bipunctata* e *M. q. quadrifasciata* há relatos de visitas destas abelhas em excrementos de vertebrados (Nogueira-Neto, 1997). Porém todas as amostras destas espécies apresentaram valores  $<3\text{ NMP.g}^{-1}$  para os coliformes termotolerantes, que compõem-se em um subgrupo dos coliformes totais, cujo habitat natural é o trato intestinal dos animais de sangue quente e podem também estar presentes em outros ambientes como na água e nos vegetais.

Uma possibilidade das amostras de *T. angustula* terem apresentado resultados  $>3\text{NMP.g}^{-1}$  estão atribuídas às falhas quanto às boas práticas de manipulação em relação às amostras. Este resultado chama a atenção pelo fato da *T. angustula* ser considerada uma das mais higiênicas dentre as abelhas sem ferrão, o que não exclui a probabilidade dessa espécie ter pousado sobre materiais indesejáveis (Nogueira-Neto, 1997).

Oliveira, Cabral e Lima (1984) ressaltaram que a presença desses microrganismos no alimento também se constitui em um indicador para a possível presença de outros microrganismos mais difíceis de serem detectados e de maior patogenicidade, bem como os resultados das amostras positivas para coliformes a 45°C podem sugerir com propriedade a presença de outros microrganismos que acompanham a *Escherichia coli* na ecologia fecal.

Souza, Marchini, Dias, Oda-Souza, Carvalho e Alves (2009a), avaliando

amostras de mel de trigoníneos do Estado da Bahia, observaram que para as 14 amostras avaliadas no estudo, 100,00% delas apresentaram ausência de microrganismos do grupo coliforme, sugerindo boas práticas em relação à manipulação do mel. Oliveira, Ribeiro e Oliveira (2013), avaliando mel das espécies *S. depilis* e *T. angustula* do Estado do Mato Grosso, observaram para esta característica, que todas as amostras de mel avaliadas apresentaram baixa contagem microbiana de coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes, podendo indicar também uma boa qualidade higiênico-sanitária.

Monte, Azevedo, Filho, Rodrigues, Moura e Muratori (2013), avaliando mel das espécies *M. compressipes*, *M. subnitida* e *M. scutellaris* do Estado do Piauí, observaram para esta característica, que em nenhuma das amostras de mel analisadas foi verificada a presença de microrganismos do grupo coliforme. Os resultados positivos verificados neste estudo para o grupo coliforme podem estar relacionados ao fato da quantificação destes microrganismos no mel representarem dados precisos sobre esta quantidade e não sobre o seu crescimento no meio (Souza et al., 2009a).

Entre os microrganismos patogênicos para a abelha que podem passar para o mel, salientam-se *Bacillus larvae*, *Bacillus alvei*, *Aspergillus flavus*, *Ascosphaera apis*, *Ascosphaera alvei*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum* (Snowdon & Cliver, 1996). O *C. botulinum* é o causador do botulismo infantil um tipo de intoxicação alimentar que afeta a maioria das crianças com idade inferior a um ano.

Devido à imaturidade da flora intestinal, ao ingerir o mel contendo esporos dessa bactéria, as condições do meio propiciarão à germinação, multiplicação e produção de neurotoxina botulínica no intestino infantil, favorecendo a proliferação da doença. Realçando a relevância deste microrganismo para a saúde pública devido ao alto risco potencial do mel causar o botulismo infantil, cuidados com a qualidade do produto devem ser seguidos de modo a se evitar a propagação indesejada dessa bactéria (Arnon, Damus, & Chin, 1981).

Para contagem de fungos, 100,00% das amostras de mel analisadas apresentaram valores acima do máximo permitido de acordo com a Resolução MERCOSUL/GMC/RES N° 15/94 que aprovou o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Mel, aprovado pela Portaria n.º 367, de 4 de setembro de 1997, em que no mel pode conter no máximo 100 UFC.g<sup>-1</sup>. Os valores máximo e mínimo foram verificados nas amostras 14 - *M. q. quadrifasciata* 8,4x10<sup>4</sup> UFC.g<sup>-1</sup> e 23 - *S. bipunctata* 1,0x10<sup>4</sup> UFC.g<sup>-1</sup>. Porém, conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelhas social sem ferrão, gênero *Melipona* (ADAB, 2014), os

valores descritos no trabalho estão de acordo com o permitido ( $10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>), estando dentro dos limites desejáveis segundo este regulamento.

Snowdon e Cliver (1996) consideraram que entre os microrganismos do mel, as leveduras osmofílicas são as que mais influenciam na qualidade do produto. Sua presença está em função da sobrevivência em condições ácidas e não são inibidas pelas altas concentrações de açúcar e são, geralmente aceitas no mel em pequenas ou grandes quantidades. Porém, as mesmas podem levar o produto à fermentação, provocando a hidrólise dos açúcares com produção de etanol e gás carbônico, gerando sabores desagradáveis (White Júnior, 1978).

A análise feita para quantificar a presença desse álcool no mel tem sido sugerida com o objetivo de constatar estes processos fermentativos (Ruoff & Bogdanov, 2004). No entanto, essa análise deve ser utilizada com restrição, sendo considerada como um critério pouco recomendável por Huidobro, Rea, Mato, Muniategui, Fernandez-Muino e Sancho (2001), pois estes mesmos autores verificaram diferentes comportamentos na variação do etanol presente em amostras de mel que foram avaliadas durante o período de um ano e, possivelmente, estão relacionadas à presença de leveduras consumidoras deste álcool.

Oliveira, Nascimento, Costa e Monteiro Neto (2005) avaliando 20 amostras de mel de *M. c. fasciculata* do Estado do Maranhão, colhidas por diferentes métodos, verificaram diferenças entre a qualidade microbiológica do mel avaliado, dentre os quais 65,00% das amostras colhidas pelos produtores estavam acima do máximo estabelecido pelas normas brasileiras e 25,00% das amostras coletadas assepticamente também estavam acima do máximo estabelecido, consideradas impróprias em virtude da presença exacerbada de bolores e leveduras. A instalação de meliponários em ambientes insalubres e variáveis ambientais poderiam ser responsáveis pelas contagens acima dos padrões para as amostras colhidas assepticamente.

Souza et al. (2009a), avaliando mel de trigoníneos do Estado da Bahia, observaram pela contagem de fungos, que 50,00% apresentavam valores acima do máximo estabelecido pela Resolução MERCOSUL/GMC/RES N° 15/94, sendo consideradas impróprias para o consumo humano direto. Oliveira et al. (2013), avaliando mel das espécies *S. depilis* e *T. angustula* do Estado do Mato Grosso, observaram para esta característica que, das quatro amostras avaliadas, todas se encontraram acima do recomendado, com valores variando entre  $7,0 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> a  $6,4 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>.



A procedência dos fungos no mel muitas vezes é de ocorrência natural e, provavelmente, procedam de fontes primárias quando o néctar está sendo colhido, armazenado e amadurecido, podendo também ser incorporados durante o processamento uma vez que os esporos podem ser encontrados no ar (Snowdon, 1999). Normalmente esta flora é encontrada em concentrações abaixo de 100 unidades formadoras de colônias por grama (UFC.g<sup>-1</sup>), por serem controladas por práticas industriais que impedem a fermentação (Bruijn & Sommeijer, 1997).

A interpretação dos resultados para *Salmonella* spp. indicou que em 100,00% das amostras não foram verificadas a presença dessa bactéria. Monte et al. (2013), avaliando mel das espécies *M. compressipes*, *M. subnitida* e *M. scutellaris* do Estado do Piauí, observaram que em nenhuma das amostras de mel analisadas foi detectada a presença de *Salmonella*, permitindo sugerir a adoção de boas práticas de manipulação em relação ao mel. Contudo, Oliveira et al. (2013), avaliando mel das espécies *S. depilis* e *T. angustula* do Estado do Mato Grosso, observaram que 25,00% das amostras de *S. depilis* apresentou resultado positivo para *Salmonella*, e associou o fato à presença de roedores na colônia (Nogueira-Neto, 1997).

Para umidade, os valores obtidos apresentaram um teor médio geral de 29,65%, com uma variação entre 23,27 a 41,80% para as amostras 13 (*T. angustula*) e 22 (*M. q. quadrifasciata*) respectivamente. Os resultados verificados no presente estudo estão de acordo com os obtidos por Almeida-Muradian, Matsuda e Bastos (2007); Souza et al. (2009a) constataram que o mel produzido por diferentes espécies de meliponíneos possui um teor de umidade acima de 20,00%. Resultados semelhantes foram obtidos por Almeida-Anacleto, Souza, Marchini e Moreti (2009) em mel de *T. angustula* com valor médio de 24,37%.

Os valores de atividade de água apresentou um teor médio geral de 0,75 Aw, com uma variação de 0,69 a 0,85 Aw para as amostras 1 (*T. angustula*) e 22 (*M. q. quadrifasciata*) respectivamente. Foram constatadas variações entre 0,69 e 0,73 Aw para duas espécies de *Melipona* da Guatemala e Venezuela (Vit et al., 2006) e de 0,74 a 0,76 Aw para espécies de *Melipona* nas regiões amazônicas (Almeida-Muradian et al., 2007). Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de *T. angustula* obtiveram valores variando de 0,59 a 0,82 Aw, com média de 0,66 Aw.

Apesar da conhecida influência da umidade e da atividade de água sobre o crescimento de microrganismos no meio, os valores de umidade e de atividade de água das amostras de mel avaliadas não explicam os resultados positivos encontrados para o

grupo coliformes, principalmente os termotolerantes. Estas bactérias necessitam de atividade de água maior que 0,91 para o seu crescimento (Ribeiro & Seravalli, 2004) e o máximo encontrado nessas análises foi de 0,85, sendo insuficiente para o desenvolvimento de patógenos enterais, considerando contaminação pós-processamento do produto por hábitos anti-higiênicos do manipulador, o que não exclui a sobrevivência dessas bactérias no meio.

Levando-se em consideração o elevado teor de água do mel de meliponíneos a aplicação de técnicas de desumidificação (Alves, Sodré, Souza, Carvalho & Fonseca, 2007) pode vir a ser uma boa alternativa de tecnologia de conservação. Sem causar alterações expressivas na qualidade e aceitabilidade pelos consumidores, esta técnica auxilia no prolongamento na vida de prateleira do produto (Fonseca et al., 2006; Carvalho, Sodré, Fonseca, Alves, Souza & Clarton, 2009).

Demais pesquisas relacionadas à quantificação de microrganismos no mel foram desenvolvidas, porém a maioria dos trabalhos priorizam análises de mel produzidas por *A. mellifera*, e seus resultados acabam sendo comparado com análises de mel produzidos pelos meliponíneos, o que se torna algo errôneo. O mel de *Apis* apresenta características microbiológicas e físico-químicas diferentes daquelas produzidas pelos meliponíneos, obtendo-se resultados distintos.

Sendo incompatíveis de qualquer comparação, cada gênero possui características opostas conferindo uma qualidade única e particularidade do produto, havendo poucos estudos desenvolvidos voltados exclusivamente para mel de abelhas sem ferrão. Souza, Marchini, Oda-Souza, Carvalho e Alves (2009b) questionaram a tentativa de aplicar as normatizações nacionais e internacionais estabelecidas para o mel de *A. mellifera* sobre o mel de meliponíneos, o que acaba gerando vários equívocos quanto à avaliação da qualidade do mel produzido pelas abelhas sem ferrão.

Na Figura 2 são apresentados os resultados da análise de componentes principais vista através da projeção da componente principal 1, que acumula 42,05% de variância explicada, contra a componente principal 2, que traz 29,41% de variância explicada. De modo geral, esta análise separou as amostras com maiores teores de coliformes (quadrante negativo da componente 1 e quadrante positivo da componente 2) das mais influenciadas por atividade de água e umidade (quadrante positivo da componente 1 e 2), além de separar também aquelas influenciadas por teores significativos de fungos (quadrante negativo da componente 1 e 2). Assim, a partir da Figura 2 pode-se notar que a projeção traz informação sobre as amostras que apresentaram teores elevados de

coliformes (quadrante negativo da componente 1 e quadrante positivo da componente 2), sendo representadas pelas amostras 2, 14 e 24, ambas produzidas por abelhas da espécie *T. angustula*, porém provenientes de Marialva, Pérola e Ortigueira, respectivamente.

O quadrante positivo da componente 1 e da componente 2 separou as amostras do gênero *Melipona*, trazendo informações sobre umidade e atividade de água. Observa-se que as amostras 6, 21, 22, todas de mel de abelhas da espécie *M. q. quadrifasciata*, e 9, da espécie *M. b. schencki*, apresentaram valores elevados destes parâmetros. Observa-se que as amostras 21 e 22 ambas provenientes da cidade de Mandirituba, foram as que apresentaram os maiores teores para umidade e atividade de água. As amostras 6 (Guaraqueçaba) e 9 (São José dos Pinhais) são menos influenciadas que as demais.

O quadrante negativo da componente 1 e da componente 2 trouxe informações sobre as amostras influenciadas por teores significativos de fungos. Nota-se que a maioria das amostras apresentou quantidade significativa de fungos, sendo que as amostras 3, 4, 5, 11 e 14 são as que apresentaram os maiores teores (provenientes de abelhas da espécie *T. angustula*).

As legislações nacionais vigentes para o mel (Brasil, 2000; 2001) não contemplam o mel de meliponíneos, baseando-se apenas no mel de *Apis*, todavia, estas normas não exigem a realização de análises microbiológicas do mel, estas apenas preconizam que sejam adotadas as boas práticas de higiene durante a manipulação do produto (Mercosul, 1999; Brasil, 2000; 2001). As análises microbiológicas que eram exigidas pela Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997 (Brasil, 1997), foi revogada pela Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 que define os padrões microbiológicos para alimentos, os quais devem estar de acordo com a Resolução MERCOSUL/GMC/RES Nº 15/94 que aprovou o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Mel (Mercosul, 1999; Brasil, 2001). Segundo a RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, o mel caracteriza-se sendo um produto não identificado na tabela especificada, considerando apenas a similaridade da natureza e do processamento do produto como base para seu enquadramento nos padrões microbiológicos estabelecidos (Brasil, 2001).

Para a Instrução Normativa nº11, de 20 de outubro de 2000 (Brasil, 2000), que define o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, exigem também que sejam seguidas o Regulamento Técnico do MERCOSUL sobre as condições higiênic-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos elaboradores e

industrializadores de alimentos - Resolução GMC N°80/96 - (Brasil, 2000). Nestas regulamentações, as condições higiênico-sanitárias do mel são avaliadas pela contagem de bolores e leveduras, e verificação da presença de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C.

Recentemente a Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) aprovou em 2014 o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de abelha Social sem ferrão, gênero *Melipona*, tendo uma normatização em nível Estadual da certificação e qualidade do mel produzido por estas abelhas - Portaria ADAB n°207 de 21/11/2014 Publicado no Diário Oficial do Estado-BA em 26, novembro de 2014 (ADAB, 2014). Mesmo que não haja parâmetros microbiológicos estabelecidos para o mel de *Apis* pela RDC n°12/2001 e pela IN n°11/2000, e nem para o mel de meliponíneos em nível Nacional, salvo exceção da ADAB 2014; é importante ressaltar que esses conceitos precisam ser revistos principalmente devido ao consumo desse produto por crianças, idosos e pessoas doentes (Tchoumboue, Awah-Ndukum, Fonteh, Dongock, Pinta & Mvondo, 2007), recomenda-se que o mel seja anexado claramente na legislação vigente com os parâmetros microbiológicos estabelecidos. Na Tabela 2 é sumarizada a proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros microbiológicos do mel de meliponíneos.

## **Conclusão**

A análise dos Componentes Principais se mostrou eficiente para os parâmetros microbiológicos avaliados, pois algumas amostras se assemelharam segundo a espécie produtora, evidenciando a importância de uma caracterização microbiológica única e específica para o mel de abelhas sem ferrão. Algumas delas se assemelharam segundo a localidade, assemelhando-se pela região de Curitiba e Litoral do Paraná apresentando os maiores valores para atividade de água e umidade, relacionando estas duas características com o clima dessas regiões, evidenciando que o produto é extremamente influenciado por fatores extrínsecos, como região, época de colheita, manejo pós-processamento dentre outros.

Como as legislações vigentes não contemplam o mel de *Apis* e nem o de meliponíneos e não exigem a realização de análises microbiológicas para este produto, recomenda-se que o mel seja incluso em um grupo de alimento em específico na legislação nacional e que as análises microbiológicas sejam contempladas e

obrigatórias. Dessa forma, todos os estudos realizados voltados para análise das características próprias e únicas do mel de meliponíneos reforçam a necessidade do desenvolvimento de um padrão próprio e exclusivo para este mel, incluindo todos os critérios microbiológicos.

## Referências

ADAB (Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia). Portaria ADAB nº 207 de 21/11/2014. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel de abelha social sem ferrão gênero *Melipona*. URL <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=277684>. Acessado em 29.03.15.

Almeida-Muradian, L. B., Matsuda, A. H., & Bastos, D. H. M. (2007). Physicochemical parameters of amazon *Melipona* honey. *Química Nova*, 30, 707-708.

Almeida-Anacleto, D., Souza, B. A., Marchini, L. C., & Moreti, A. C. C. C. (2009). Composição de amostras de mel de abelha jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 535-541.

Alves, R. M. O., Sodré, G. S., Souza, B. A., Carvalho, C. A. L., & Fonseca, A. A. O. (2007). Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. *Mensagem Doce*, 91, 2-8.

Arnon, S.S., Damus, K., & Chin, J. (1981). Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. *Epidemiologic Review*, 3, 45-66.

Atago Co (1988). Refratômetro para mel. *Abelhas*, 31, 9.

Bogdanov, S. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee world*, 80, 61-69.

Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37, 1-18.

BRASIL (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA). Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Critérios e padrões microbiológicos para alimentos. URL <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>> e <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasilegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=85>>. Acessado em 02.04.15.

BRASIL (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). Instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. URL <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690>. Acessado em: 04.01.15.

BRASIL. (Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC 012, nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. URL <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01\\_rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01_rdc.htm)>. Acessado em 04.01.15.

Bruijn, L. L. M., & Sommeijer, M. J. (1997). The composition of honeys of stingless bees (*Melipona*). In M. J. Sommeijer, J. Beetsma, W. J. Boot, E. J. Roberts, & R. Vries (Eds.), *Perspectives for honey production in the tropics*(pp. 149 - 168). Utrecht: Nectar: IBRA.

Carvalho, C. A. L., Sodré, G. S., Fonseca, A. A. O., Alves, R. M. O., Souza, B. A., & Clarton, L. (2009). Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81, 143-149.

De Maria, C. A. B., & Moreira, R. F. A. (2003). Compostos voláteis em méis florais. *Química Nova*, 26, 90-96.

Decagon. *Aqualab water activity meter - operator's manual*. (2003). Washington: Decagon Devices, 106p.

Fonseca, A. A. O., Sodré, G. S., Carvalho, C. A. L., Alves, R. M. O., Souza, B. A., Cavalcante, S. M. P., Oliveira, G. A., Machado, C. S., & Clarton, L. (2006). *Qualidade do mel de abelhas sem ferrão: uma proposta para boas práticas de fabrica o*. Cruz das Almas: UFRB; SECTI; FAPESB, (Série Meliponicultura, 5), 70p.

Huidobro, J. F., Rea, M. E., Mato, I., Muniategui, S., Fernandez-Muino, M. A., & Sancho, M. T. (2001). Variation of apparent ethanol content of unspoiled northwestern Spanish honeys during storage. *Food Chemistry*, 73, 417-420.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Secretaria de defesa agropecuária. Instru o Normativa n  62, de 26 de Agosto de 2003.

MERCOSUL (Mercado Comum do Sul). Regulamento técnico mercosul. Identidade e qualidade do mel. Resolu o GMC N 15/94.Montevidéu, 1999.URL <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=viewTextual&coigo=6020>>. Acessado em 10.06.15.

Monte, A. M., Azevedo, M. L. X., Filho, F. C. C., Rodrigues, A. M. D., Moura, S. G., & Muratori, M. C. S. (2013). Qualidade de méis de abelhas nativas sem ferrão do Estado do Piauí, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35, 48-54.

Moreira, A. C. (2007). Compara o da análise de componentes principais e da CATPCA na avalia o da satisfa o do passageiro de uma transportadora aérea. *Investiga o operacional*, 27, 165-178.

Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e cria o de abelhas indígenas sem ferrão*. São Paulo-SP: Nogueirapis, 445p.

Novak, F. R., & Almeida, J. A. G. (2002). Teste alternativo para a detec o de coliformes em leite humano ordenhado. *Jornal de Pediatria*, 78, 193-196.

Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7, 159-

165.

Oliveira, C. P. S., Cabral, T. M. A., & Lima, A. W. O. (1984). Coliformes totais e fecais e caracterização dos coliformes fecais em queijo tipo coalho comercializado em João Pessoa - PB. *Ciência, Cultura e Saúde*, 6, 34-8.

Oliveira, E. G., Nascimento, A. R., Costa, M. C. P., & Monteiro Neto, V. (2005). Qualidade microbiológica do mel de tíuba (*Melipona compressipes fasciculata*) produzido no Estado do Maranhão. *Higiene Alimentar*, 19, 92-99.

Oliveira, K. A. M., Ribeiro, L. S., & Oliveira, G. V. (2013). Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e jataí (*Tetragonisca angustula*). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 15, 239-248.

Pestana, M. H., & Gageiro, J. N. (2014). *Análise de Dados para Ciências Sociais. A Complementaridade do SPSS*. (6 ed.). Lisboa: Sílabo, 1237p.

Ribeiro, E. P., & Seravalli, E. A. G. (2004). *Química dos alimentos*. São Paulo: Edgar Blücher, 184p.

Ruoff, K., & Bogdanov, S. (2004). Authenticity of honey and other bee products. *Apiacta*, 38, 317-327.

Souza, B. A., Marchini, L. C., Dias, C. T. S., Oda-Souza, M., Carvalho, C. A. L., & Alves, R. M. O. (2009a). Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 798-802.

Souza, B. A., Marchini, L. C., Oda-Souza, M., Carvalho, C. A. L., & Alves, R. M. O. (2009b). Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae: Meliponini) da região nordeste do Brasil: características físico-químicas. *Química Nova*, 32, 303-308.

Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31, 1-26.

Snowdon, J. A. (1999). The microbiology of honey - meeting your buyers specifications (Why they do what they do). *American Bee Journal*, 139, 51-59.

Sharaf, M.A., Ilman, D.L., & Kowalski, B.R. (1986). *Chemometrics*. New York: John Wiley & Sons, 352p.

Tchoumboue, J., Awah-Ndukum, J., Fonteh, F. A., Dongock, N. D., Pinta, J., & Mvondo, Z. A. (2007). Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, Nairobi, 6, 908-913.

Vanderzant, C., & Splittstoesser, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (3 ed.). Washington D.C: American Public Health

Association, 1219p.

Vit, P., Rodríguez-Malaver, A., Almeida, D., Souza, B. A., Marchini, L. C., Díaz, C. F., Tricio, A. E., Villas-Bôas, J. K., & Heard, T. A. (2006). A scientific event to promote knowledge regarding honey from stingless bees: 1. Physical-chemical composition. *Magistra*, 18, 270-276.

White Júnior, J. W. (1978). Honey. *Advances in Food Research*, 22, 287-374.

Wille, A., & Michener, C. D. (1973). The nest architecture of stingless bees with special reference to those of Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 21, 1-279.



Tabela 1 - Número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem de fungos, *Salmonella* spp., umidade e atividade de água de amostras de mel agrupadas por espécies de meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná

Espécies	Am	Fungos (UFC.g <sup>-1</sup> )	Coliformes (NMP.g <sup>-1</sup> )		<i>Salmonella</i> (25g)	Umi (%)	Aw
			35°C	45°C			
<i>T. angustula</i>	1	3,60x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	24,07	0,69
	2	3,50x10 <sup>4</sup>	215,4	3,0	Ausente	24,87	0,72
	3	8,10x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	24,60	0,71
	4	5,80x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	24,73	0,71
	5	5,40x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	26,87	0,73
	10	2,00x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	24,07	0,71
	11	7,60x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	24,60	0,71
	12	3,40x10 <sup>4</sup>	<3,0	<3,0	Ausente	25,53	0,72
	13	1,30x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	23,27	0,70
	15	1,10x10 <sup>4</sup>	10,67	<3,0	Ausente	24,47	0,73
	16	2,30x10 <sup>4</sup>	3,0	<3,0	Ausente	24,33	0,70
	18	2,20x10 <sup>4</sup>	<3,0	<3,0	Ausente	25,53	0,71
	20	2,60x10 <sup>4</sup>	<3,0	<3,0	Ausente	25,13	0,72
	24	3,80x10 <sup>4</sup>	125,3	23,0	Ausente	24,33	0,72
	25	3,60x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	23,93	0,72
Média		3,75x10 <sup>4</sup>	24,36	2,13	0,00	24,69	0,71
Mediana		3,50	1,00	0,00	0,00	24,60	0,71
Desvio Padrão		2,12	61,72	5,84	0,00	0,85	0,01
<i>S. bipunctata</i>	7	4,70 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	31,13	0,76
	17	2,50 x10 <sup>4</sup>	<3	<3	Ausente	27,40	0,73
	19	2,70 x10 <sup>4</sup>	<3	<3	Ausente	25,67	0,71
	23	1,00 x10 <sup>4</sup>	<3	<3	Ausente	25,80	0,71
	26	3,50 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	26,73	0,73
	Média		2,90 x10 <sup>4</sup>	1,20	0,60	0,00	27,35
Mediana		2,70	1,00	1,00	0,00	26,73	0,73
Desvio Padrão		1,33	0,45	0,55	0,00	2,23	0,02
<i>M. q. quadrifasciata</i>	6	4,40 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	34,07	0,79
	8	2,50 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	25,40	0,70
	14	8,40 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	27,67	0,72
	21	3,10 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	38,73	0,84
	22	1,30 x10 <sup>4</sup>	<3	0,00	Ausente	41,80	0,85
	Média		3,94 x10 <sup>4</sup>	1,00	0,00	0,00	33,53
Mediana		3,10	1,00	0,00	0,00	34,07	0,79
Desvio Padrão		2,73	0,00	0,00	0,00	7,00	0,07
<i>M. bicolor schencki</i>	9	4,20 x10 <sup>4</sup>	<3,0	0,00	Ausente	33,13	0,78

Am: Amostras; Fungos (UFC.g<sup>-1</sup>); Coliformes a 35°C e 45°C (NMP.g<sup>-1</sup>); *Salmonella*; Umi (%): umidade e Aw: atividade de água.

Tabela 2 - Proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros microbiológicos para o mel de meliponíneos

Microrganismos	Tolerância para amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa				Método de Análise
		n	c	m	M	
Coliformes a 45°C	<0,3	5	<0,3	<0,3	-	APHA
<i>Salmonella</i> spp. 25g	Ausente	5	0	Aus	-	FDA/BAM
Bolores e Leveduras (UFC/g)	10 <sup>4</sup>	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	APHA

**n**: número de unidades a serem colhidas aleatoriamente em um mesmo lote e analisada individualmente; **M**: limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável (valores acima de M são inaceitáveis); **m**: é limite que em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável; **c**: número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M; UFC/g: unidade formadora de colônias.

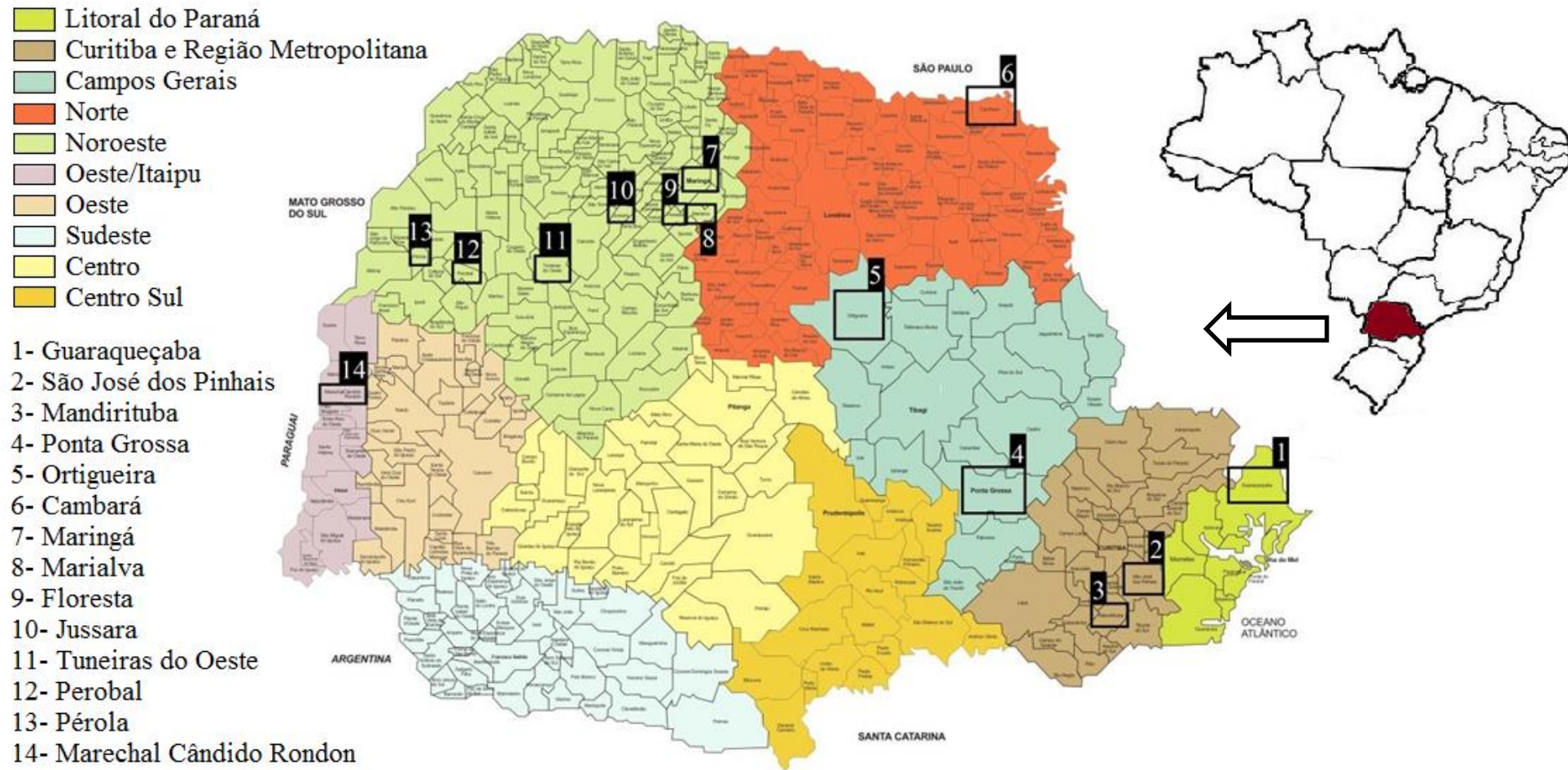


Fig. 1. Distribuição espacial das localidades das amostras de mel produzidas por meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná.

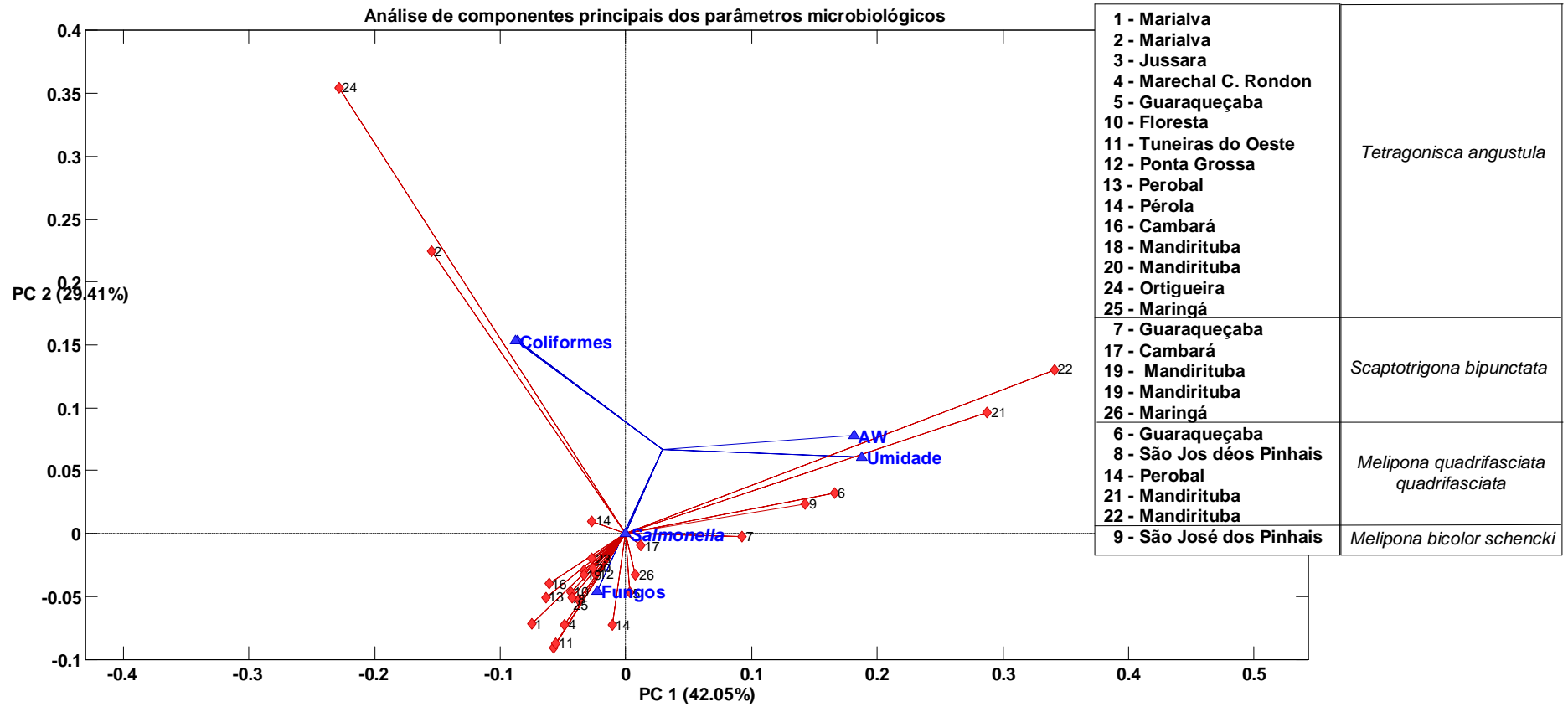


Fig. 2. Primeira contra segunda componente da análise de componentes principais das análises microbiológicas do mel avaliado.

#### IV – Caracterização físico-química de amostras de mel de abelhas sem ferrão de seis regiões do Estado do Paraná

RESUMO: Foram avaliadas 26 amostras de mel de meliponíneos de seis regiões do Estado do Paraná, produzidas pelas seguintes espécies: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) e *Melipona bicolor schencki* (n=01), de modo a identificar as características físico-químicas do mel de meliponíneos. A maioria das amostras avaliadas apresentou-se dentro do limite máximo/mínimo sugerido por outros autores. Para umidade 92,31% das amostras se enquadraram dentro do limite, pH 100,00%, acidez 84,62%, índice de formol 61,54%, cinzas 100,00%, cor 100,00%, condutividade elétrica valores inferiores, hidroximetilfurfural 88,46%, proteína 100,00%, açúcares redutores 100,00%, açúcares redutores totais 100,00%, sacarose 100,00%, viscosidade valores superiores, atividade diastásica 100,00% valores abaixo e atividade de água apresentaram valores superiores. Com a análise de componentes principais foi possível observar a similaridade de algumas amostras correlacionadas com as variáveis analisadas, espécie produtora e região, e o quanto estes fatores intrínsecos e extrínsecos influenciaram na qualidade final do produto.

PALAVRAS-CHAVE: qualidade; mel; consumidor; meliponíneos; instrução normativa.

ABSTRACT: We evaluated 26 stingless bees honey samples from six regions of Paraná State from following species: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=05), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=05) and *Melipona bicolor schencki* (n=01) to identify the physical-chemical characteristics meliponines honey. Most of the samples was within the maximum/minimum suggested by other

authors. For moisture 92.31% of the samples fit within the limit, pH 100.00%, acidity 84.62%, formol index 61.54%, ash 100.00%, color 100.00%, lower values for electrical conductivity, hidroximetilfurfural 88.46%, protein 100.00%, reducing sugars 100.00%, total reducing sugars 100.00%, sucrose 100.00%, viscosity higher values, diastase activity values below 100.00% and water activity presented higher values. In the principal component analysis it was possible to observe the similarity of some correlated samples with the analyzed variables, producing species and region, and how these intrinsic and extrinsic factors influenced the final product quality.

**KEYWORDS:** quality; honey; costumer; meliponines; normative instruction.

## Introdução

O mel de meliponíneos é um alimento admirado em função do seu sabor peculiar. Sua qualidade nutricional, devido à presença de minerais e vitaminas, propriedades sensoriais, propriedades medicinais como a ação antioxidante e atividade antisséptica, propriedades terapêuticas específicas, como em tratamentos de processos inflamatórios e infecciosos, e seu valor energético elevado têm atraído diversos consumidores (Cortopassi-Laurino & Gelli, 1991; Borsato, Vargas, Koop, Farago & Almeida, 2010).

É um produto que tem apresentado uma demanda crescente de mercado, obtendo preços mais elevados que o mel das abelhas do gênero *Apis*. O elevado valor de mercado e sua qualidade estão, normalmente, relacionados com sua composição química e sua origem botânica (Borsato et al., 2010).

Embora produzam mel em menor quantidade, os meliponíneos fornecem um produto diferenciado do mel de *Apis mellifera*, pelo aroma e doçura incomparáveis, tendo consumidores distintos, dispostos a pagar altos preços pelo produto no mercado (Carvalho, Souza, Sodré, Marchini & Alves, 2005). Elaborado naturalmente pelas abelhas, o mel pode ser sintetizado a partir do néctar das flores ou das secreções de partes vivas das plantas ou, ainda, das excreções de insetos sugadores. No primeiro caso é chamado de mel floral, enquanto que nos segundo e terceiro é conhecido por mel de melato (Brasil, 2000).

O mel é caracterizado como um produto semilíquido, composto por uma mistura complexa de carboidratos, principalmente pelos monossacarídeos glicose e frutose; além da presença de outros açúcares, enzimas, lactonas, cera, pigmentos, vitaminas, aminoácidos, minerais, ácidos orgânicos e pólen (Fallico, Zappala, Arena & Verzera, 2004). Sua composição química varia conforme a espécie de abelha, condições meteorológicas, natureza do solo, estado fisiológico da colônia, origem do néctar, maturação do mel, enquanto o manejo do meliponicultor exerce menor influência (Carvalho et al., 2005).

Ao mel elaborado pelos meliponíneos são atribuídas algumas características particulares, como elevada umidade variando de 18,00 a 34,60%, paladar levemente ácido e perfume característico (Kerr, Carvalho & Nascimento, 1996). Esta elevada umidade foi verificada para diversas espécies de abelhas sem ferrão como: *Melipona scutellaris* (Evangelista-Rodrigues, Silva, Beserra & Rodrigues, 2005) *M. asilvai*

(Souza, Carvalho, Sodré & Marchini, 2004a), *M. mandacaia* (Alves, Carvalho, Souza, Sodré & Marchini, 2005), *Tetragonisca angustula* (Rodrigues, Marchini & Carvalho, 1998), podendo ser considerada como uma das principais características que diferencia o mel de meliponíneos dos produzidos pelas *A. mellifera*.

No Brasil, é a Instrução Normativa nº11, de 20 de outubro de 2000 (Brasil, 2000) que regulamenta a padronização do mel para fins de comercialização, fundamentada em legislações europeias, e que só aprovam as características próprias do mel produzido pelas abelhas do gênero *Apis*, não contemplando o mel das abelhas sem ferrão do Brasil, que apresentam diferenças nos parâmetros físico-químicos (Brasil, 2000). As análises físico-químicas indicadas pela legislação brasileira para a identidade e qualidade do mel produzido por abelhas do gênero *Apis* são: umidade, sacarose, açúcares redutores, cinzas, minerais, acidez, atividade diastásica, cor e o hidroximetilfurfural (Brasil, 2000).

Estas análises contribuem para a fiscalização e controle da qualidade do mel produzido internamente e do mel voltado para a exportação, sendo seus resultados comparados com os padrões citados por órgãos estabelecidos pelo próprio país e órgãos internacionais (Marchini, Sodré & Moreti, 2004). Há uma preocupação com a qualidade do mel produzido internamente e com a realização destas análises torna-se possível a fiscalização do mel importado com relação à sua qualidade (Carvalho et al., 2005).

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi determinar as características físico-químicas do mel de meliponíneos advindas de seis regiões do Estado do Paraná, de modo a definir uma identidade própria e peculiar desse mel com resultados que possam auxiliar em futuras definições de padrões de qualidade para o mel de meliponíneos, contribuindo assim para o crescimento e enriquecimento da meliponicultura no Estado e no país.

## **Material e Métodos**

Foram utilizadas 26 amostras de mel de meliponíneos, produzidos pelas seguintes espécies: *Tetragonisca angustula* (n=15), *Scaptotrigona bipunctata* (n=5), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (n=5) e *Melipona bicolor schencki* (n=1). Todas as amostras comerciais foram provenientes de meliponicultores distintos e de diferentes localidades e regiões do Estado do Paraná, entre o período de fevereiro de 2014 a dezembro de 2014, vide Fig.1.



As amostras foram obtidas conforme métodos práticos de colheita de cada produtor. Depois de colhido, o mel foi envasado em potes de polipropileno ou de vidros devidamente esterilizados e armazenados sob refrigeração à temperatura de 5°C até o início das análises.

Logo após o recebimento das amostras, as análises iniciaram-se no Laboratório de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR *Campus* de Campo Mourão e no laboratório de Apicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Todas as análises foram feitas em triplicata para aferir maior confiabilidade aos resultados obtidos.

### **Umidade (%)**

A umidade foi determinada seguindo o método descrito por Atago Co (1988) utilizando o método refratométrico. O método baseia-se na relação entre as velocidades da luz no vácuo e numa substância que um raio de luz incidente sofre ao incidir na solução de mel, que contém sólidos solúveis (Atago Co, 1988; Marchini et al., 2004). O referido aparelho foi adaptado do refratômetro Abbé e dispõe de uma escala, que expressa o valor em brix, a partir do qual foi calculado o valor da umidade.

### **pH**

O pH foi determinado seguindo o método descrito por Moraes e Teixeira (1998). Utilizou-se um medidor de pH modelo MB10 Marte.

### **Acidez (meq.kg<sup>-1</sup>)**

A acidez foi determinada seguindo o método descrito por Moraes e Teixeira (1998). Utilizou-se um medidor de pH modelo MB10 Marte.

### **Índice de Formol (mL.kg<sup>-1</sup>)**

O índice de formol foi determinado seguindo o método descrito por Moraes (1994). Utilizou-se um medidor de pH modelo MB10 Marte.

### **Cinzas (%)**

O princípio do método utilizado foi o proposto pela (C.A.C., 1989; Marchini et al., 2004). O método fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado até no máximo 550°C, com destruição da matéria orgânica, sem

decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda por volatilização (Marchini et al., 2004).

### **Cor (nm)**

O método para avaliar a cor do mel, baseou-se nos diferentes graus de absorção da luz de vários comprimentos de onda, dependendo dos constituintes presentes no mel, e seguiu o método proposto por Vidal e Fregosi (1984). Foi utilizado o espectrofotômetro visível de bancada modelo SP 2000, sendo a cor estabelecida pela tabela de Pfund.

### **Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )**

A condutividade elétrica fundamenta-se no fato de que soluções de sais conduzem a corrente elétrica entre dois eletrodos e foi determinada de acordo com o método descrito por B.O.E. (1986). Para a realização desta análise, foi utilizado o condutivímetro modelo HydroSan Hy 150.

### **Hidroximetilfurfural ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )**

O hidroximetilfurfural - HMF foi determinado conforme o método da A.O.A.C. (1990). A determinação do HMF é baseada na leitura da absorbância UV em espectrofotômetro modelo UV-Vis (Red Tide ocean optics USB 650 UV) nos comprimentos de onda de 284nm e 336nm.

### **Proteína (%)**

O método de análise para a determinação de proteínas no mel foi determinado segundo método descrito por Silva e Queiroz (2002), e foi fundamentado na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio em bloco digestor modelo tecnal TE 007MP, o qual é fixado em solução ácida e titulado. Sendo assim, determinou-se o nitrogênio e por meio de um fator de conversão transformou-se o resultado em proteína bruta, fundamentada no método de Kjeldahl, e o descrito por Silva e Queiroz (2002).

### **Açúcares redutores, açúcares redutores totais e sacarose (%)**

Para a quantificação de açúcares seguiu-se o método descrito por Bogdanov, Martin e Lüllmann (1997), o mesmo descrito pela *European Honey Commission* com

algumas modificações. Este método baseia-se na capacidade dos açúcares redutores (glicose e frutose) reduzirem o cobre presente na solução cuproalcalina (licor de Fehling), que se caracteriza pela redução de íons cúpricos em cuprosos, sendo que os açúcares são oxidados em ácidos orgânicos (Marchini et al., 2004).

### **Viscosidade (mPa.s)**

O princípio para a determinação da viscosidade consistiu na técnica de medição de torque originado pela resistência que o fluído exerce ao movimento rotacional (Marchini et al., 2004). A viscosidade foi determinada por meio do viscosímetro rotativo microprocessado de bancada digital modelo Quimis Q860M21, com auxílio de banho-maria termostático modelo MA 156/CIRMarconi.

### **Atividade Diastásica (nm)**

O princípio do método utilizado para avaliar o índice diastásico foi o proposto pelo método oficial A.O.A.C. (1990). Consiste no uso de uma solução tamponada de amido-mel que é mantida em banho-maria (a 40 °C) o tempo necessário para ser obtido o ponto final específico (absorbância menor que 0,235nm) determinado em espectrofotômetro visível de bancada modelo SP 2000.

### **Atividade de água (Aw)**

A atividade de água foi determinada por meio de um medidor de água modelo LabSwift novasina. Utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado (Decagon, 2003).

### **Análise estatística dos dados**

Para análise estatística dos dados foi empregado o método estatístico multivariado de análise de componentes principais no programa Matlab, R2013b ® (Sharaf, Ilman, & Kowalski, 1986), de modo a verificar as similaridades e diferenças entre os dados obtidos das amostras avaliadas.

A análise de componentes principais é uma técnica de análise exploratória de dados multivariados. Esta técnica modifica um conjunto de variáveis correlacionadas num conjunto pequeno de variáveis independentes, simplificando os dados pela redução do número de variáveis necessárias para delineá-los, que são combinações lineares das variáveis analisadas originais, nomeadas por componentes principais, avaliando assim

as relações de um conjunto de variáveis entre si (Pestana & Gageiro, 2014), que poderão ser utilizados como indicadores que resumem a informação contida nas variáveis originais.

As amostras de mel analisadas, além de produzidas por diferentes espécies de abelhas, foram também procedentes de diversas localidades e avaliadas de acordo com diferentes parâmetros físico-químicos: acidez total, atividade de água, umidade, açúcar total, pH, cinzas e proteína.

Portanto, para se fazer uma avaliação geral dos dados, foi necessária a utilização do método de análise de componentes principais (Sharaf et al., 1986), por trazer informações sobre quais amostras se assemelham (*scores*) e os motivos ou cargas que caracterizam tal separação (*loadings*). Foram utilizados cinco componentes principais para explicar 98,74% da variância total dos dados, objetivando a redução do número de variáveis analisadas.

## **Resultados e Discussão**

### **Umidade**

O teor médio geral para umidade foi de 29,68%, com uma variação entre 23,27 a 41,80% para as amostras 13 e 22, respectivamente (Tabela 1). Trabalhos desenvolvidos por Cortopassi-Laurino e Gelli (1991) com diferentes amostras de mel de meliponíneos, apontaram valores variando de 18,00 a 36,00%.

Resultados semelhantes foram obtidos por Rodrigues et al. (1998) em mel de *T. angustula*, que encontraram valor médio de 26,10%. Amostras de mel venezuelanas analisadas por Vit, Persano-Oddo, Marano e Salas de Mejias (1998) distinguiram variação da umidade de 22,90 a 31,50% para o grupo das abelhas grandes e 17,90 a 29,50% para o grupo das abelhas pequenas.

Souza et al. (2004a) constataram variação entre 26,80 a 32,00% para mel de *M. asilvai*. Souza, Yuyama, Aguiar e Oliveira (2004b) trabalhando com amostras de mel de *M. c. manaosensis*, *M. r. paraensis* e *M. s. merrillae*, todas da região amazônica, descreveram valores entre 23,90 e 34,60%.

Alves et al. (2005) estudando mel de *M. mandacaiá* obtiveram valores médios de 28,78%. Souza et al. (2006) avaliando o mel produzido por diferentes espécies de abelhas sem ferrão averiguaram variação entre 19,90 e 41,90%.

Almeida-Anacleto, Souza, Marchini e Moreti (2009) avaliando mel de *T.*

*angustula* verificaram valor médio de 24,37%. Os resultados verificados no presente estudo estão de acordo com os obtidos por Evangelista-Rodrigues et al. (2005), Almeida-Muradian, Matsuda e Bastos (2007), Souza, Marchini, Oda-Souza, Carvalho e Alves (2009), que observaram que o mel produzido por diferentes espécies de meliponíneos possui um teor de umidade acima de 20,00%.

Das amostras avaliadas, duas (21 e 22) se encontraram fora do limite máximo sugerido para mel de meliponíneos, que é de 35,00% de umidade (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), sendo verificados valores de 38,73 e 41,80%, respectivamente. Dessa forma, 7,69% das amostras avaliadas não se enquadraram dentro do limite proposto para o mel de abelhas sem ferrão no Brasil (Tabela 2). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a umidade um limite máximo de 35,00% (Tabela 3).

## **pH**

O teor médio geral para pH foi de 3,66 com uma variação de 3,03 a 4,70 para as amostras 6 e 20 respectivamente (Tabela 1). Trabalhos desenvolvidos por Cortopassi-Laurino e Gelli (1991) com diferentes amostras de mel de meliponíneos, encontraram valores variando de 3,20 a 4,80.

Souza et al. (2004a) verificaram variação de 3,14 a 3,40 com média de 3,27 para mel de *M. asilvai*. Alves et al. (2005) analisando mel de *M. mandacaia* obtiveram valor médio de 3,27.

Para *M. compressipes* Oliveira, Neto, Silveira e Nascimento (2006) encontraram valores médios de 3,30. Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano, e obtiveram valores variando entre 3,15 e 4,66.

Em análises de mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al. (2009) encontraram valores variando entre 3,54 a 4,64, com média de 4,10. O pH do mel de meliponíneos geralmente varia de 3,20 a 4,80 com média 3,90 (Cortopassi-Laurino & Gelli, 1991), dependendo da origem botânica, do pH do néctar, solo ou associação de vegetais para composição do mel. Sendo assim, 100,00% dos resultados encontrados neste trabalho estão dentro da faixa observada por estes autores.

Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando o pH para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado

como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para o pH um limite máximo de 4,70 (Tabela 3).

### **Acidez**

O teor médio geral para acidez foi de 56,11 meq.kg<sup>-1</sup>, com uma variação de 17,67 a 147,63 meq.kg<sup>-1</sup> para as amostras 20 e 3 respectivamente (Tabela 1). Cortopassi-Laurino e Gelli (1991) avaliaram as características físicas e químicas de 14 amostras de diferentes espécies de meliponíneos provenientes de distintas regiões do Brasil, e verificaram valores variando entre 30,00 e 90,00 meq.kg<sup>-1</sup>, mas um grupo distinto de cinco amostras apresentaram acidez mais elevada com teores superiores a 160,00 meq.kg<sup>-1</sup>.

Amostras de mel venezuelanos analisados por Vit et al. (1998) apontaram variação na acidez para o grupo das abelhas grandes de 9,20 a 69,60 meq.kg<sup>-1</sup> e para o grupo das abelhas pequenas de 20,00 a 94,00 meq.kg<sup>-1</sup>. Souza et al. (2004a) os valores variaram de 21,50 a 80,50 meq.kg<sup>-1</sup> para mel de *M. asilvai*.

Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaiá* obtiveram valores médios de 43,48 meq.kg<sup>-1</sup>. Para *M. compressipes* Oliveira et al. (2006) encontraram valores médios de 91,10 meq.kg<sup>-1</sup>.

Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obtiveram valores variando entre 5,90 a 109,00 meq.kg<sup>-1</sup>. Em análises de mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al. (2009) encontraram valores variando entre 17,00 a 98,00 meq.kg<sup>-1</sup>, com média de 45,23 meq.kg<sup>-1</sup>.

Do total, 15,38% (3, 6, 7 e 13) não se enquadraram no limite proposto para o mel de abelhas sem ferrão no Brasil, que é de no máximo 85,00 meq.kg<sup>-1</sup> (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), sendo verificados valores de 147,63; 109,55; 126,02 e 91,16 meq.kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabela 1, Tabela 2). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a acidez um limite máximo de 60,00 meq.kg<sup>-1</sup> (Tabela 3).

Valores elevados de acidez podem ocorrer devido à fermentação realizada pelos microrganismos que transformam os açúcares em álcoois a partir da oxidação dos ácidos carboxílicos, sendo que uma alta umidade e altas temperaturas favorecem estes tipos de reações químicas (Almeida-Muradian et al., 2007).

### Índice de formol

O teor médio geral para índice de formol foi de 3,86 mL.kg<sup>-1</sup>, com uma variação entre 2,01 a 14,05 mL.kg<sup>-1</sup> para as amostras 12, 21, 22 e 15, respectivamente (Tabela 1). Souza et al. (2004a) constataram variação de 3,50 a 10,00 mL.kg<sup>-1</sup> para *M. asilvai* com menor valor observado de 3,16 mL.kg<sup>-1</sup>.

Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaiá* obtiveram valores médios de 5,18 mL.kg<sup>-1</sup>. Em análises de mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al. (2009) encontraram valores variando entre 7,00 a 17,20 mL.kg<sup>-1</sup>, com média de 12,14 mL.kg<sup>-1</sup>.

Do total, 38,46% (1, 6, 8, 9, 12, 14, 17, 20, 21, 22) apresentaram valores abaixo do menor valor citado por Souza et al. (2004a). Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando o índice de formol para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para o índice de formol um limite máximo de 18,00 mL.kg<sup>-1</sup> (Tabela 3).

### Cinzas

O teor médio geral para cinzas foi de 0,16% com uma variação de 0,02 a 0,55% para as amostras 12 e 15 respectivamente (Tabela 1). Souza et al. (2004b) trabalhando com amostras de mel de *M. c. manaosensis*, *M. r. paraensis* e *M. s. merrillae*, todas da região amazônica, descreveram valores entre 0,03 e 0,40%.

Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obtiveram valores variando entre 0,01 a 1,18%. Em análises de mel de *T. angustula* Almeida-Anacleto et al. (2009) encontraram valores variando entre 0,21 a 0,60%, com média de 0,39%.

Das amostras avaliadas, 100,00% se encontraram dentro do limite máximo sugerido para mel de meliponíneos, que é de 0,60%, vide Tabela 2 (Villas-Bôas & Malaspina, 2005). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para cinzas um limite máximo de 0,80% (Tabela 3).

### Cor

O teor médio geral para cor foi de 0,590 de absorvância, correspondendo à cor âmbar na tabela de Pfund (Tabela 1) vide Fig. 2. Cortopassi-Laurino e Gelli (1991) ao

estudarem as características físicas e químicas de 14 amostras de diferentes espécies de meliponíneos provenientes de distintas regiões do Brasil, encontraram colorações variando do âmbar ao âmbar claro, diferentemente dos encontrados neste estudo, no qual a predominância de cor foi constatada pela cor âmbar (14 amostras) representadas pela variação na faixa de cor de 0,440 a 0,945; seguido das cores âmbar claro (7 amostras) variação na faixa de cor de 0,188 a 0,440 e âmbar escuro (5 amostras) variação na faixa de cor de  $> 0,945$ . Para as cores branco d'água, extra branco, branco e extra âmbar claro, a variação na faixa de cor correspondem a 0,030 a menos; 0,030 a 0,060; 0,060 a 0,120 e 0,120 a 0,188, respectivamente (Marchini et al., 2004).

Rodrigues et al. (1998) encontraram como valor médio para mel de *T. angustula* de 0,264 de absorvância, correspondendo a cor âmbar claro da tabela de Pfund; Souza et al. (2004a) analisaram mel de *M. asilvai* do Estado da Bahia, e verificaram que 81,20% das amostras apresentaram uma coloração branca. Em análises de mel de *T. angustula* Almeida-Anacleto et al. (2009) encontraram 50,00% das amostras variando entre a cor âmbar e âmbar-extra-claro, prevalecendo a cor âmbar.

### Condutividade elétrica

O teor médio geral para condutividade elétrica foi de 673,31  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , com uma variação entre 287,40 e 1688,50  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para as amostras 14 e 7, respectivamente (Tabela 1). Bogdanov, Vit e Kilchenmann (1996) trabalhando com amostras de mel da Venezuela constataram valores médios de condutividade elétrica de 320,00  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para *M. compressipes* e *M. trinitatis*; 440,00  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para *M. favosa* e 1040,00  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para *Frieseomellita* sp.

Para Souza et al. (2004a), os valores variaram de 287,50 a 525,00  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para mel de *M. asilvai*. Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaiá* obtiveram valores médios de 352,25  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Trabalhando com mel de *T. angustula* Almeida-Anacleto et al. (2009) constataram valores variando entre 1061,00 e 2700,00  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , com média de 1337,20  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

Alguns valores verificados neste estudo se encontraram abaixo da faixa observada pelos autores citados. Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando a condutividade elétrica para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão.



Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a condutividade elétrica um limite mínimo de  $200,00 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (Tabela 3).

### **Hidroximetilfurfural (HMF)**

O teor médio geral para HMF foi de  $6,66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , com uma variação de 0,00 e  $54,76 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para as amostras (2, 3, 15, 16, 18, 20, 23, 25 - 0,00) e (6 -  $54,76$ ) respectivamente (Tabela 1). Amostras de mel venezuelanos analisados por Vit et al. (1998) apontaram variação para o grupo das abelhas grandes de 0,40 a  $31,60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  e para o grupo das abelhas pequenas de 4,20 a  $20,40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Em mel de *T. angustula* Rodrigues et al. (1998) encontraram como valor médio  $4,99 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Para Souza et al. (2004a) os valores variaram de 0,52 a  $7,93 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para mel de *M. asilvai*.

Alves et al. (2005) analisando mel de *M. mandacaia* obtiveram valores médios de  $5,79 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano, e obtiveram valores variando entre 0,40 a  $78,40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Almeida-Anacleto et al. (2009) verificaram valores variando entre 0,75 a  $30,58 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , com média de  $9,39 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para *T. angustula*. Do presente estudo, 11,54% (5, 6 e 7) não se enquadraram no limite proposto para o mel de abelhas sem ferrão no Brasil, que é de no máximo  $40,00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), sendo verificados valores de 40,49; 54,76 e  $53,41 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 1, Tabela 2). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para o HMF um limite máximo de  $50,00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Tabela 3).

### **Proteína**

O teor médio geral para proteína foi de 0,30%, com uma variação de 0,12 e 0,78% para as amostras (22 e 15) respectivamente (Tabela 1). Souza et al. (2004b) analisando amostras de mel de *M. c. manausensis*, *M. r. paraensis* e *M. s. merrillae*, todas da região amazônica, descreveram valores variando entre 0,20 a 0,80%.

Carvalho et al. (2005), analisando mel de diferentes espécies de abelhas sem ferrão, verificaram valores variando de 0,40 a 2,84%. Souza et al. (2006) também trabalhando com mel de diferentes espécies obtiveram valores variando entre 0,09 a 0,90%.

Trabalhando com mel de *T. angustula*, Almeida-Anacleto et al. (2009)

constataram valores variando entre 0,27 a 0,57%, com média de 0,37%. Sendo assim, 100,00% dos resultados encontrados neste trabalho estão dentro da faixa observada por estes autores.

Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando a proteína para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a proteína um limite máximo de 0,90% (Tabela 3).

### **Açúcares redutores**

O teor médio geral para açúcares redutores foi de 58,84%, com uma variação entre 50,00 a 67,12% para as amostras 22 e 8, respectivamente (Tabela 1). Rodrigues et al. (1998) encontraram como valor médio para mel de *T. angustula* 58,19%.

Amostras de mel venezuelanos analisados por Vit et al. (1998) apontaram variação no açúcar redutor para o grupo das abelhas grandes de 53,70 a 73,10% e para o grupo das abelhas pequenas de 51,20 a 74,40%. Souza et al. (2004a) encontraram valores que variaram de 66,00 a 76,20% para mel de *M. asilva*.

Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaiá* obtiveram valores médios de 74,82%. Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obtiveram valores variando entre 58,00 a 75,70%.

Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de mel de *T. angustula* obtiveram valores de açúcar redutor variando de 48,66 a 57,97%, com média de 55,46%. Das amostras avaliadas, 100,00% se encontraram dentro do limite mínimo sugerido para mel de meliponíneos, que é de 50,00%, vide Tabela 2 (Villas-Bôas & Malaspina, 2005). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para açúcares redutores um limite mínimo de 47,00% (Tabela 3).

### **Açúcares redutores totais**

O teor médio geral para açúcares redutores totais foi de 59,74%, com uma variação entre 50,42 a 68,03% para as amostras 22 e 08, respectivamente (Tabela 1).

Em amostras de mel de meliponíneos da Venezuela, Bogdanov et al. (1996) obtiveram valores médios para açúcares redutores totais de 76,30% para *M.*

*compressipes* e *M. trinitatis*; 74,70% para *M. favosa* e 76,00% para *Frieseomelitta sp.* Trabalhando com mel de *T. angustula* Rodrigues et al. (1998) encontraram como valor médio 59,42%.

Para mel de *M. asilvai*, Souza et al. (2004a) verificaram valores que variaram de 67,72 a 84,99%. Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras da mesma espécie constataram valores de açúcares redutores totais variando de 50,63 a 59,60%, com média de 56,46%. Estando 100,00% dos resultados encontrados neste trabalho dentro da faixa observada por estes autores. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para açúcares redutores totais um limite máximo de 70,00% (Tabela 3).

### **Sacarose**

O teor médio geral para sacarose foi de 0,86%, com uma variação entre 0,31 a 1,89% para as amostras 7 e 11, respectivamente (Tabela 1). Vit et al. (1998) apontaram variação na sacarose para o grupo das abelhas grandes de 0,60 a 5,60% e para o grupo das abelhas pequenas de 0,30 a 6,10%.

Rodrigues et al. (1998) encontraram como valor médio para mel da mesma espécie 1,17% de sacarose. Souza et al. (2004a) verificaram valores que variaram de 1,13 a 8,35% para mel de *M. asilvai*.

Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaia* obtiveram valores médios de 2,91%. Souza et al. (2006) analisaram 152 amostras de mel de diversas espécies de meliponíneos provenientes de oito países do continente americano e obtiveram valores variando entre 1,00 a 4,80%. Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de *T. angustula* obtiveram valores de sacarose variando de 0,13 a 1,87%, com média de 0,95%.

Das amostras avaliadas, 100,00% se encontraram dentro do limite máximo sugerido para mel de meliponíneos, que é de 6,00%, vide Tabela 2 (Villas-Bôas & Malaspina, 2005). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a sacarose um limite máximo de 5,00% (Tabela 3).

### **Viscosidade**

O teor médio geral para viscosidade foi de 553,28 mPa.s, com uma variação de 23,60 a 1695,67 mPa.s para as amostras 22 e 13, respectivamente (Tabela 1). Souza et al. (2004a) trabalhando com amostras de mel de *M. asilvai* constataram valores variando

de 36,00 a 168,00 mPa.s.

Alves et al. (2005) trabalhando com *M. mandacaia* obtiveram valores médios de 59,60 mPa.s, estando 92,30% dos resultados encontrados neste trabalho acima da faixa observada por estes autores.

Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando a viscosidade para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para a viscosidade um limite máximo de 3000,00 mPa.s. (Tabela 3).

### **Atividade diastásica**

O teor médio geral para diastase foi de 0,04, com uma variação entre 0,00 a 0,08 na escala Gothe para as amostras 2 e 7, respectivamente (Tabela 1).

Amostras de mel de meliponíneos provenientes da Venezuela analisados por Vit e Pulcini (1996) exibiram os seguintes valores para a atividade diastásica: 16,50 a 35,60 para *T. angustula*; 2,60 a 3,50 para *M. favosa*; 2,60 a 3,00 para *M. compressipes*, *M. l. kangarumensis* e *M. paraensis*; 3,40 para *M. eburnean*; 3,00 para *M. crinita*; 6,60 a 13,70 para *Frieseomelitta* sp.; 8,70 para *Nannotrigina* sp, e 2,60 para *Scaptotrigona* sp, e a atividade da enzima diastase apresentou variações entre os diferentes gêneros, sendo considerada baixa em *Melipona* spp, e *Scaptotrigona* spp.

Amostras de mel venezuelanos analisados por Vit et al. (1998) evidenciaram valores na escala Gothe variando de 2,60 a 3,50 e 2,60 a 35,60, respectivamente. Rodrigues et al. (1998) constataram valor médio de 17,90 na escala Gothe para amostras de *T. angustula*.

Souza et al. (2006) encontraram variação entre 0,90 e 23,00 na escala Gothe para mel de diferentes espécies de abelhas sem ferrão. Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de *T. angustula* obtiveram valores variando de 7,16 a 54,11 na escala Gothe, com média de 32,28.

Souza et al. (2009) relataram que em suas análises, em nenhuma das amostras de *Melipona* analisadas, foi possível obter leitura da atividade desta enzima. Em trabalhos desenvolvidos, os resultados obtidos sobre esta enzima a consideraram como de baixa atividade em espécies de *Melipona*, corroborando os resultados aqui obtidos.

Das amostras avaliadas, 100,00% apresentaram atividade diastásica abaixo do limite mínimo sugerido para mel de meliponíneos, que é de 3,00 na escala Gothe, vide Tabela 2 (Villas-Bôas & Malaspina, 2005). Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para o índice de diastase um limite máximo de 40,00 (Tabela 3).

Esta vulnerabilidade dos resultados obtidos para atividade diastásica em trabalhos desenvolvidos, levou White Júnior (1994) a interrogar o uso desta enzima como um indicador de qualidade do mel. Segundo o mesmo autor, devido à variação na quantidade desta enzima em mel recém-colhido e não aquecido, o mesmo sugeriu que esta análise seja reavaliada por ser um teste variável.

Opinião semelhante foi apresentada por Tosi, Martinet, Ortega, Lucero e Ré (2008) por considerarem que os diferentes comportamentos de atividade desta enzima fazem dela uma característica incerta para avaliação de mel submetida a tratamentos térmicos. Em contrapartida, Vit e Pulcini (1996) sugeriram a não retirada desta análise, mas que valores diferentes de atividade diastásica no mel sejam considerados para os padrões de qualidade.

Uma proposta apresentada por Bonvehí, Torrento e Raich (2000) foi a substituição da quantificação da diastase pela invertase, por esta enzima ser mais sensível ao aquecimento e representar com maior segurança o frescor do produto. De acordo com Souza et al. (2009), ao invés de objetivar a verificação da qualidade do mel produzido, a diastase poderia vir a se constituir em um marcador para o mel produzido por meliponíneos, atestando a sua origem entomológica. Para que isso aconteça, ainda são necessários estudos sobre a real produção pelas abelhas sem ferrão e a atividade dessa enzima no mel.

As enzimas amilases catalisam a hidrólise de ligações  $\alpha$ -1-4 glicosídicas de cadeias de polissacarídeos, como o amido, glicogênio e seus produtos de degradação. Principalmente sobre o amido, as amilases atuam liberando diversos produtos, abrangendo dextrinas e pequenos polímeros compostos de unidades de glicose (Buléon, Colonna, Planchot & Ball, 1998).

As amilases são divididas em dois grandes grupos: as exoamilases e as endoamilases. As exoamilases hidrolisam exclusivamente ligações glicosídicas -  $\alpha$  1,4 como a  $\alpha$ -amilase ou ambas as ligações  $\alpha$  - 1,4 e  $\alpha$  -1, 6, como amiloglicosidase e glicosidase; as endoamilases catalisam hidrólises de forma casual no interior da molécula do amido (Gupta, Gigras, Mohapatra, Goswami & Chauhan, 2003).

A enzima  $\alpha$ - e  $\beta$ -amilase possui pH ótimo de atividade na faixa entre 6-7. Quando em meio mais alcalino ou ácido do que esta faixa de pH a atividade da enzima tende a diminuir gradativamente de modo a manter-se com atividade muito baixa no meio, podendo até mesmo ser inativada por desnaturação (Gupta et al., 2003).

Os valores observados neste estudo para a atividade diastásica foram baixos, com algumas amostras chegando a zero. Esses resultados podem ser explicados considerando os valores ácidos verificados para o pH (variaram de 3,03 à 4,70), que provavelmente tenham ocasionado a redução significativa da atividade dessa enzima no mel, o que não denota inativação ou ausência da mesma.

Observou-se que na maioria dos trabalhos discutidos por diversos autores, as amostras de mel apresentaram valores de diastase superiores a 3 na escala Gothe e valores de pH menores que 5,00, podendo indicar que a atividade diastásica está não só correlacionada com valores ideais de pH, mas também com outros parâmetros físico-químicos que podem contribuir com a atividade desta enzima no meio.

#### **Atividade de água - Aw**

O teor médio geral para atividade de água foi de 0,75 Aw, com uma variação de 0,69 a 0,85 Aw para as amostras 1 e 22, respectivamente (Tabela 1). Variações foram constatadas entre 0,69 e 0,73 para duas espécies de *Melipona* da Guatemala e Venezuela (Vit et al., 2006).

Para espécies de *Melipona* nas regiões amazônicas (Almeida-Muradian et al., 2007), verificaram diferenças entre 0,74 a 0,76 Aw. Almeida-Anacleto et al. (2009) trabalhando com amostras de *T. angustula* obtiveram valores variando de 0,59 a 0,82 Aw, com média de 0,66 Aw.

Portanto, a maioria dos resultados encontrados neste trabalho apresentaram valores superiores aos observados por estes autores. Fundamentando-se nos resultados obtidos, como proposta recomenda-se para atividade de água um limite máximo de 0,90Aw (Tabela 3). Como não há sugestões de padronização e nem valores de referência considerando a atividade de água para mel de meliponíneos no Brasil (Villas-Bôas & Malaspina, 2005), e sendo um parâmetro importante, propõe-se que o mesmo seja adicionado como análise obrigatória para os futuros padrões oficiais estabelecidos para a normatização das análises de mel de abelhas sem ferrão.

### **Análise estatística dos dados**

Neste estudo, as variáveis hidroximetilfurfural, índice diastásico e viscosidade não foram utilizadas por expressarem fatores extrínsecos às amostras. Estas variáveis são influenciadas, por exemplo, pelas condições de manejo, armazenamento, transporte e de condições *in loco* para produção do mel.

Na Figura 3 são apresentados os resultados da análise de componentes principais vista através da projeção da componente principal 1, que acumula 45,13% de variância explicada, contra a componente principal 2, que traz 33,31% de variância explicada. Pode-se verificar que a componente principal 1 separou principalmente as amostras de mel referentes à espécie *T. angustula* (quadrante negativo da componente 1) das amostras das demais espécies (quadrante positivo da componente 2). Nota-se ainda que as amostras de mel provenientes da espécie *T. angustula* apresentou teores de proteínas, cinzas, açúcares redutores totais e valores de pH mais elevados, enquanto que as demais espécies apresentou teores mais elevados de umidade, atividade de água e acidez total.

Esta separação pode ser mais detalhadamente descrita observando-se que, no quadrante negativo da componente 1 e positivo da componente 2 encontram-se as amostras que foram mais influenciadas pelas variáveis cinzas e proteínas (2, 10, 13, 15 e 25, das quais a amostra 15 apresentou o maior teor destas variáveis), sendo todas estas amostras derivadas da espécie *T. angustula*. Além disso, relacionadas pelas variáveis pH e açúcar total no quadrante negativo da componente 1 e da componente 2, situaram-se as amostras 1, 4, 8, 11, 16, 18, 19, 20, 23 e 24, em que a maioria delas pertencem a espécie *T. angustula*, salvo o caso das amostras 8, 19 e 23.

Esta projeção mostra ainda que, no quadrante positivo da componente 1 e da componente 2, a amostra 6 apresentou teor elevado de acidez total, atividade de água e umidade. Além disso, as amostras 9, 12, 14, 21 e 22 apresentaram-se no quadrante positivo da componente e negativo da componente 2, o qual não relaciona tais amostras com teores das variáveis consideradas neste estudo. Outra informação bastante relevante referente a este quadrante é que a maioria das amostras é de mel de abelhas do gênero *Meliponas*.

Sendo assim, esta projeção evidenciou que as amostras se assemelharam segundo a espécie produtora, revelando nos quadrantes uma proximidade entre as amostras referentes à espécie *T. angustula* e as amostras referentes às espécies do gênero *Melipona*. Para melhor entendimento da separação obtida, é necessário salientar que estas amostras não apresentaram os teores em comum das variáveis utilizadas na

separação da componente principal 1 e da componente principal 2, ou seja, isso não isenta tais amostras de conterem teores elevados das variáveis analisadas, mas sim evidencia que estas amostras são diferentes das demais com relação ao conjunto de variáveis contempladas ao mesmo tempo.

### **Sugestão de padronização de características físico-químicas para mel de abelhas sem ferrão**

Pesquisas relacionadas à caracterização físico-química do mel de meliponíneos foram desenvolvidas, porém, muitos autores aplicam as normatizações internacionais e nacionais estabelecidas para mel de *A. mellifera* para o mel de meliponíneos, o que se torna algo errôneo, pois o mel de *Apis* apresenta características físico-químicas diferentes daquelas produzidas pelos meliponíneos. Por isso há a necessidade de estabelecimento de um padrão exclusivo de identidade e qualidade do mel produzido por meliponíneos.

Sendo incompatíveis de qualquer comparação, cada gênero e espécie possui características opostas conferindo uma qualidade única e particular do produto, havendo poucos estudos desenvolvidos voltados exclusivamente para mel de abelhas sem ferrão. Neste sentido, diversos estudos vêm sendo realizados para construir uma base de dados para auxiliar nas definições de qualidade do mel de meliponíneos (Almeida-Muradian et al., 2007; Souza et al., 2009).

Recentemente a Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) aprovou em 2014 o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de abelha Social sem ferrão, gênero *Melipona*, tendo uma normatização em nível Estadual da certificação e qualidade do mel produzido por estas abelhas - Portaria ADAB N° 207 de 21/11/2014 Publicado no Diário Oficial do Estado-BA em 26, novembro de 2014 (ADAB, 2014). Tendo em vista todas as características distintas do mel produzido pelas abelhas sem ferrão, alguns autores sugeriram uma padronização para o mel produzido por estas abelhas.

Villas-Bôas e Malaspina (2005) sugeriram valores máximos e mínimos para alguns parâmetros físico-químicos, recomendando padrões para o mel produzido por abelhas sem ferrão de todo o Brasil, considerando um levantamento bibliográfico de trabalhos publicados referentes a esse tema (Tabela 2). Vit, Medina e Enríquez (2004) propuseram valores para mel produzidos por três gêneros de meliponíneos (*Melipona*, *Scaptotrigona* e *Trigona*) com base em estudo prévio que os diferenciou por meio de



análise estatística multivariada, a partir de suas características físicas e químicas.

Entretanto, esses autores não consideram a divisão entre gêneros para a sugestão de parâmetros, com a justificativa de que os trabalhos existentes no Brasil não dão subsídios para tal diferenciação. Na Tabela 3 está sumarizada a proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros físico-químicos do mel de meliponíneos.

## **Conclusão**

A análise dos Componentes Principais sugeriu que as amostras devem ser observadas mais efetivamente quando se avaliam apenas fatores intrínsecos, pois, ao serem considerados os fatores de erros aleatórios (fatores extrínsecos), as análises se mostraram inconclusivas. Após a seleção das variáveis intrínsecas, foi possível observar uma discriminação lógica das amostras, o que permitiu inferir-se sobre o manejo e condições das amostras, além da avaliação das semelhanças e diferenças com relação aos parâmetros avaliados.

Com base nos dados físico-químicos foi possível separar as amostras por espécie produtora aplicando o método estatístico multivariado, comprovando a eficiência deste método e suas futuras aplicações na detecção de fraudes, adulterações e alterações nesse tipo de alimento.

Os fatores intrínsecos e extrínsecos influenciaram diretamente na qualidade final do produto evidenciando ao meliponicultor o quanto ele deve se preocupar em realizar boas práticas de manejo durante todo o processo de produção do mel. Dessa forma, todos os estudos realizados voltados para análise das características próprias e únicas do mel de meliponíneos reforçaram a necessidade do desenvolvimento de um padrão próprio e exclusivo para este mel, incluindo todos os critérios físico-químicos, contribuindo para futuras definições de um padrão de qualidade para uma padronização e, conseqüentemente, a elaboração de uma legislação.

## Referências

- ADAB (Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia). Portaria ADAB nº 207 de 21/11/2014. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel de abelha social sem ferrão gênero *Melipona*. URL <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=277684>. Acessado em 29.03.15.
- Almeida-Muradian, L. B., Matsuda, A. H., & Bastos, D. H. M. (2007). Physicochemical parameters of amazon *Melipona* honey. *Química Nova*, 30, 707-708.
- Almeida-Anacleto, D., Souza, B. A., Marchini, L. C., & Moreti, A. C. C. C. (2009). Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 535-541.
- Alves, R. M. O., Carvalho, C. A. L., Souza, B. A., Sodré, G. S., & Marchini, L. C. (2005). Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaiá* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 644-650.
- A.O.A.C. - Association Of Official Analytical Chemists.(1990).*Official methods of analysis*. (15ed). Arlington, Virginia: Kenneth Helrich.
- Atago Co (1988). Refratômetro para mel. *Abelhas*, 31, 9.
- B.O.E (Boletín Oficial Español). Orden de 12 de junio de 1986, de la Presidencia del Gobierno por la que se aprueban los métodos oficiales de analisis para la miel. B.O.E., Madrid, 18 junio de 1986, n. 145.
- Bogdanov, S., Vit, P., & Kilchenmann, V. (1996). Sugar profiles and conductivity of stingless bee honey from Venezuela. *Apidologie*, 27, 445-450.
- Bogdanov, S., Martin, P. & Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, 28,1-59.
- Bonvehí, J. S., Torrento, M. S., & Raich, J. M. (2000). Invertase activity in fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 507-512.
- Borsato, D. M., Vargas, T., Koop, L., Farago, P. V., & Almeida, M. M. (2010). Physicochemical quality control of bee honeys from Campos Gerais region of Paraná - Brazil. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 28, 205-212.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosintesis. *Internacional journal of Biological Macromolecules*, 23, 85-112.
- BRASIL (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. URL <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690>. Acessado em: 04.01.15.
- C.A.C. (Codex Alimentarius Commission). Codex standards for sugars (honey). Rome: FAO, 1989. 21p.

Carvalho, C. A. L., Souza, B. A., Sodré, G. S., Marchini, L. C., & Alves, R. M. O. (2005). *Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para caracterização físico-química*. Cruz das Almas: UFBA; SEAGRI-BA, (Série Meliponicultura,4), 32p.

Cortopassi-Laurino, M., & Gelli, D. S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. *Apidologie*, 22, 61-73.

Decagon. *Aqualab water activity meter - operator's manual*. (2003). Washington: Decagon Devices, 106p.

Evangelista-Rodrigues, A., Silva, E. M. S., Beserra, M. F., & Rodrigues, M. L. (2005). Análise físico - química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. *Ciência Rural*, 35,1166-1171.

Fallico, B., Zappala, M., Arena, E., & Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85, 305-313.

Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2003). Microbial  $\alpha$  - amylases: biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38, 1599-1616.

Kerr, W. E., Carvalho, G. A., & Nascimento, V. A. (1996). *Abelha urucu: biologia, manejo e conservação*. Belo Horizonte: Fundação Aguangaú, 143p.

Marchini, L. C., Sodré, G. S., & Moreti, A. C. C. C. (2004). *Mel brasileiro: composição e normas*. Ribeirão Preto: ASP, 111p.

Moraes, R. M. (1994). *Análise de mel (manual técnico)*. Pindamonhangaba: Centro de Apicultura Tropical, IZ/ SAA, snp.

Moraes, R. M., & Teixeira, E. W. (1998). *Análises de mel (manual técnico)*. Pindamonhangaba: SAA/AMA, 42p.

Oliveira, E. G., Neto, V. M., Silveira, L. M. S., & Nascimento, A. R. (2006). Avaliação de parâmetros físico-químicos do mel de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith), produzido no Estado do Maranhão. *Higiene Alimentar*, 20, 74-81.

Pestana, M. H., & Gageiro, J. N. (2014). *Análise de Dados para Ciências Sociais. A Complementaridade do SPSS*. (6 ed.). Lisboa: Sílabo, 1237p.

Rodrigues, A. C. L., Marchini, L. C., & Carvalho, C. A. L. (1998). Análises de mel de *Apis mellifera* L., 1758 e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado em Piracicaba-SP. *Revista de Agricultura*, 73, 255-262.

Silva, D. J., & Queiroz, A. C. (2002). Determinação do nitrogênio total e da proteína bruta. In D. J. Silva, & A. C. Queiroz. (3 ed.), *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*(pp.57-75). Viçosa: UFV.

Souza, B de A., Carvalho, C. A. L., Sodré, G. S., & Marchini, L. C. (2004a).

Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). *Ciência Rural*, 34, 1623-1624.

Souza, R. C. S., Yuyama, L. K. O., Aguiar, J. P. L., & Oliveira, F. P. M. (2004b). Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. *Acta Amazonica*, 34, 333-336.

Souza, B. A., Roubik, D. W., Barth, O. M., Heard, T. A., Enríquez, E., Carvalho, C. A. L., Villas-Bôas, J. K., Marchini, L. C., Locatelli, J. C., Persano-Oddo, L., Almeida-Muradian, L. B., Bogdanov, S., & Vit, P. (2006). Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*, 31, 867-875.

Souza, B. A., Marchini, L. C., Oda-Souza, M., Carvalho, C. A. L., & Alves, R. M. O. (2009). Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae: Meliponini) da região nordeste do Brasil: características físico-químicas. *Química Nova*, 32, 303-308.

Sharaf, M. A., Ilman, D. L., & Kowalski, B. R. (1986). *Chemometrics*. New York: John Wiley & Sons, 352p.

Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., & Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 106, 883-887.

Vidal, R., & Fregosi, E. V. (1984). *Mel: características, análises físico-químicas, adulterações e transformações*. Barretos: Instituto Tecnológico Científico "Roberto Rios", 95p.

Villas-Bôas, J. K., & Malaspina, O. (2005). Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. *Mensagem Doce*, São Paulo, nº82.

Vit, P., & Pulcini, P. (1996). Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigoniini honeys from Venezuela. *Journal of Apicultural Research*, 35, 57-62.

Vit, P., Persano-Oddo, L., Marano, M. L., & Salas de Mejias, E. (1998). Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physiochemical properties. *Apidologie*, 29, 377-389.

Vit, P., Medina, M., & Enríquez, M. E. (2004). Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. *Bee World*, 85, 2-5.

White Júnior, J. W. (1994). The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee World*, 75, 104-117.

Tabela 1 - Características físico-químicas (umidade, pH, acidez total, índice de formol, cinzas, condutividade elétrica, hidroximetilfurfural, proteína, açúcares redutores, açúcares redutores totais, sacarose, viscosidade, atividade diastásica, atividade de água e cor), determinadas para amostras de mel de meliponíneos (Apidae: Meliponinae) provenientes de seis regiões do Estado do Paraná, Brasil (Continua)

Espécie	Am	U (%)	pH	Acid to (meq.kg <sup>-1</sup> )	I F (mL.kg <sup>-1</sup> )	C (%)	C E (μS.cm <sup>-1</sup> )	HMF (mg.kg <sup>-1</sup> )	P (%)	AR (%)	ART (%)	Sac (%)	Visc (mPa.s)	I D	Aw	Cor (mm)
<i>T. angustula</i>	1	24,07	3,63	36,31	3,01	0,09	541,65	0,35	0,28	63,03	64,38	1,28	977,27	0,03	0,69	0,41
	2	24,87	3,50	73,47	4,68	0,25	1009,00	0,00	0,37	59,06	60,12	1,01	831,77	0,00	0,72	0,55
	3	24,60	3,40	147,63	12,35	0,23	1171,50	0,00	0,70	55,76	56,50	0,70	985,27	0,03	0,71	0,48
	4	24,73	3,70	45,19	5,68	0,11	656,10	2,29	0,40	56,93	58,71	1,69	841,40	0,02	0,71	0,68
	5	26,87	3,70	82,11	5,68	0,21	852,30	40,49	0,46	57,36	59,06	1,61	419,13	0,05	0,73	0,93
	10	24,07	4,37	32,42	7,36	0,19	801,50	1,35	0,45	56,39	58,03	1,56	1181,67	0,03	0,71	0,64
	11	24,60	3,80	33,02	4,01	0,09	648,80	0,99	0,35	56,60	58,59	1,89	882,37	0,01	0,71	0,51
	12	25,53	3,50	49,44	2,01	0,02	429,95	0,84	0,23	60,92	61,98	1,02	675,93	0,02	0,72	0,40
	13	23,27	3,77	91,16	9,68	0,29	1179,00	6,06	0,56	58,59	60,36	1,68	1695,67	0,02	0,70	1,10
	15	24,47	4,43	71,52	14,05	0,55	1649,00	0,00	0,78	53,01	53,48	0,45	1068,63	0,01	0,73	0,58
	16	24,33	4,27	28,80	8,36	0,15	704,40	0,00	0,44	62,50	64,11	1,53	1021,60	0,01	0,70	0,50
	18	25,53	4,20	25,25	3,34	0,26	586,95	0,00	0,24	64,38	66,08	1,62	552,17	0,01	0,71	0,24
	20	25,13	4,70	17,67	3,01	0,24	646,30	0,00	0,16	60,61	61,60	0,95	607,77	0,01	0,72	0,27
	24	24,33	4,13	23,73	5,35	0,09	448,95	0,10	0,36	56,82	58,71	1,80	844,90	0,01	0,72	0,96
	25	23,93	3,73	56,63	9,67	0,22	816,55	0,00	0,46	56,39	58,08	1,61	973,97	0,01	0,72	0,48
Média		24,69	3,92	54,29	6,55	0,20	809,46	3,50	0,42	58,56	59,99	1,36	903,97	0,02	0,71	0,58
Máximo		26,87	4,70	147,63	14,05	0,55	1649,00	40,49	0,78	64,38	66,08	1,89	1695,67	0,05	0,73	1,10
Mínimo		23,27	3,40	17,67	2,01	0,02	429,95	0,00	0,16	53,01	53,48	0,45	419,13	0,00	0,69	0,24

Am: Amostras; U (%): umidade; pH; Acid to (meq.kg<sup>-1</sup>): acidez total; I F (mL.kg<sup>-1</sup>): índice de formol; C (%): cinzas; C E (μS.cm<sup>-1</sup>): condutividade elétrica; HMF (mg.kg<sup>-1</sup>): hidroximetilfurfural; P (%): proteína; AR (%): açúcar redutor; ART (%): açúcar redutor total; Sac (%): sacarose; Visc (mPa.s): viscosidade; I D (escala Göthe): índice diastásico; Aw: atividade de água e cor.

Tabela 1 - Características físico-químicas (umidade, pH, acidez total, índice de formol, cinzas, condutividade elétrica, hidroximetilfurfural, proteína, açúcares redutores, açúcares redutores totais, sacarose, viscosidade, atividade diastásica, atividade de água e cor), determinadas para amostras de mel de meliponíneos (Apidae: Meliponinae) provenientes de seis regiões do Estado do Paraná, Brasil

Espécie	Am	U (%)	pH	Acid to (meq.kg <sup>-1</sup> )	I F (mL.kg <sup>-1</sup> )	C (%)	C E (μS.cm <sup>-1</sup> )	HMF (mg.kg <sup>-1</sup> )	P (%)	AR (%)	ART (%)	Sac (%)	Visc (mPa.s)	I D	Aw	Cor (mm)
<i>S. bipunctata</i>	7	31,13	4,00	126,02	4,01	0,53	1688,50	53,41	0,70	56,60	56,93	0,31	293,93	0,08	0,76	1,15
	17	27,40	3,93	31,48	2,34	0,10	570,80	0,10	0,24	62,24	62,76	0,50	321,07	0,02	0,73	0,52
	19	25,67	3,70	33,43	3,69	0,33	975,40	0,80	0,36	63,36	63,83	0,45	532,53	0,03	0,71	0,42
	23	25,80	4,47	34,88	4,68	0,32	1091,50	0,00	0,44	64,59	65,22	0,60	528,17	0,04	0,71	0,54
	26	26,73	3,73	70,51	4,33	0,23	967,05	0,15	0,27	60,25	61,54	1,23	893,73	0,04	0,73	0,63
	Média		27,35	3,97	59,26	3,81	0,30	1058,65	10,89	0,40	61,41	62,06	0,62	513,89	0,04	0,73
Máximo		31,13	4,47	126,02	4,68	0,53	1688,50	53,41	0,70	64,59	65,22	1,23	893,73	0,08	0,76	1,15
Mínimo		25,67	3,70	31,48	2,34	0,10	570,80	0,00	0,24	56,60	56,93	0,31	293,93	0,02	0,71	0,42
<i>M. q. quadrifasciata</i>	6	34,07	3,03	109,55	3,00	0,09	475,80	54,76	0,31	55,66	56,18	0,50	1367,00	0,06	0,79	1,09
	8	25,40	3,73	40,36	2,68	0,09	517,60	2,69	0,22	67,12	68,03	0,87	529,80	0,05	0,70	0,70
	14	27,67	3,50	29,87	2,34	0,05	287,40	0,15	0,20	64,24	65,01	0,73	422,43	0,04	0,72	1,15
	21	38,73	3,47	45,75	2,01	0,08	366,60	0,55	0,17	53,67	54,25	0,55	36,43	0,06	0,84	0,34
	22	41,80	3,07	56,10	2,01	0,05	362,45	0,35	0,12	50,00	50,42	0,40	23,60	0,06	0,85	0,60
	Média		33,53	3,36	56,33	2,41	0,07	401,97	11,70	0,20	58,14	58,78	0,61	275,85	0,05	0,78
Máximo		41,80	3,73	109,55	3,00	0,09	517,60	54,76	0,31	67,12	68,03	0,87	1367,00	0,06	0,85	1,15
Mínimo		25,40	3,03	29,87	2,01	0,05	287,40	0,15	0,12	50,00	50,42	0,40	23,60	0,04	0,70	0,34
<i>M. biclor schencki</i>	9	33,13	3,37	54,54	2,67	0,07	423,15	0,55	0,19	57,25	58,14	0,85	519,40	0,05	0,78	0,35

Am: Amostras; U (%): umidade; pH; Acid to (meq.kg<sup>-1</sup>): acidez total; I F (mL.kg<sup>-1</sup>): índice de formol; C (%): cinzas; C E (μS.cm<sup>-1</sup>): condutividade elétrica; HMF (mg.kg<sup>-1</sup>): hidroximetilfurfural; P (%): proteína; AR (%): açúcar redutor; ART (%): açúcar redutor total; Sac (%): sacarose; Visc (mPa.s): viscosidade; I D (escala Göthe): índice diastásico; Aw: atividade de água e cor.

Tabela 2 - Valores sugeridos para a padronização dos parâmetros físicos e químicos de mel de meliponíneos

Parâmetro avaliado	Villas-Bôas & Malaspina (2005)	Vit et al. (2004)		
	<i>Meliponinae</i>	<i>Melipona</i>	<i>Scaptotrigona</i>	<i>Trigona</i>
Índice de diastase (Göthe)	Mínimo 3	Mínimo 3	Mínimo 3	Mínimo 7
Umidade (%)	Máximo 35	Máximo 30	Máximo 30	Máximo 30
HMF (mg.kg <sup>-1</sup> )	Máximo 40	Máximo 40	Máximo 40	Máximo 40
Açúcares redutores (%)	Mínimo 50	Mínimo 50	Mínimo 50	Mínimo 50
Sacarose (%)	Máximo 6	Máximo 6	Máximo 2	Máximo 6
Minerais (%)	Máximo 0,6	Máximo 0,5	Máximo 0,5	Máximo ,5
Acidez (mEq.kg <sup>-1</sup> )	Máximo 85	Máximo 70	Máximo 85	Máximo 75
Sólidos insolúveis (%)	Máximo 0,4	*	*	*

\* Parâmetro não considerado por estes autores.

Tabela 3 - Proposta de valores sugeridos para a padronização dos parâmetros físico-químicos de mel de meliponíneos

Parâmetros avaliados	
Umidade (%)	Máximo 35,00
pH	Máximo 4,70
Acidez Total (mEq.kg <sup>-1</sup> )	Máximo 60,00
Índice de Formol (mL.kg <sup>-1</sup> )	Máximo 18,00
Cinzas (%)	Máximo 0,80
Condutividade Elétrica (µS.cm <sup>-1</sup> )	Mínimo 200,00
HMF (mg.kg <sup>-1</sup> )	Máximo 50,00
Proteína (%)	Máximo 0,90
Açúcares Redutores (%)	Mínimo 47,00
Açúcares Redutores Totais (%)	Máximo 70,00
Sacarose (%)	Máximo 5,00
Viscosidade (mPa.s)	Máximo 3000,00
Índice de diastase (Göthe)	Máximo 40,00
Atividade de Água (Aw)	Máximo 0,90
Cor (nm)	-

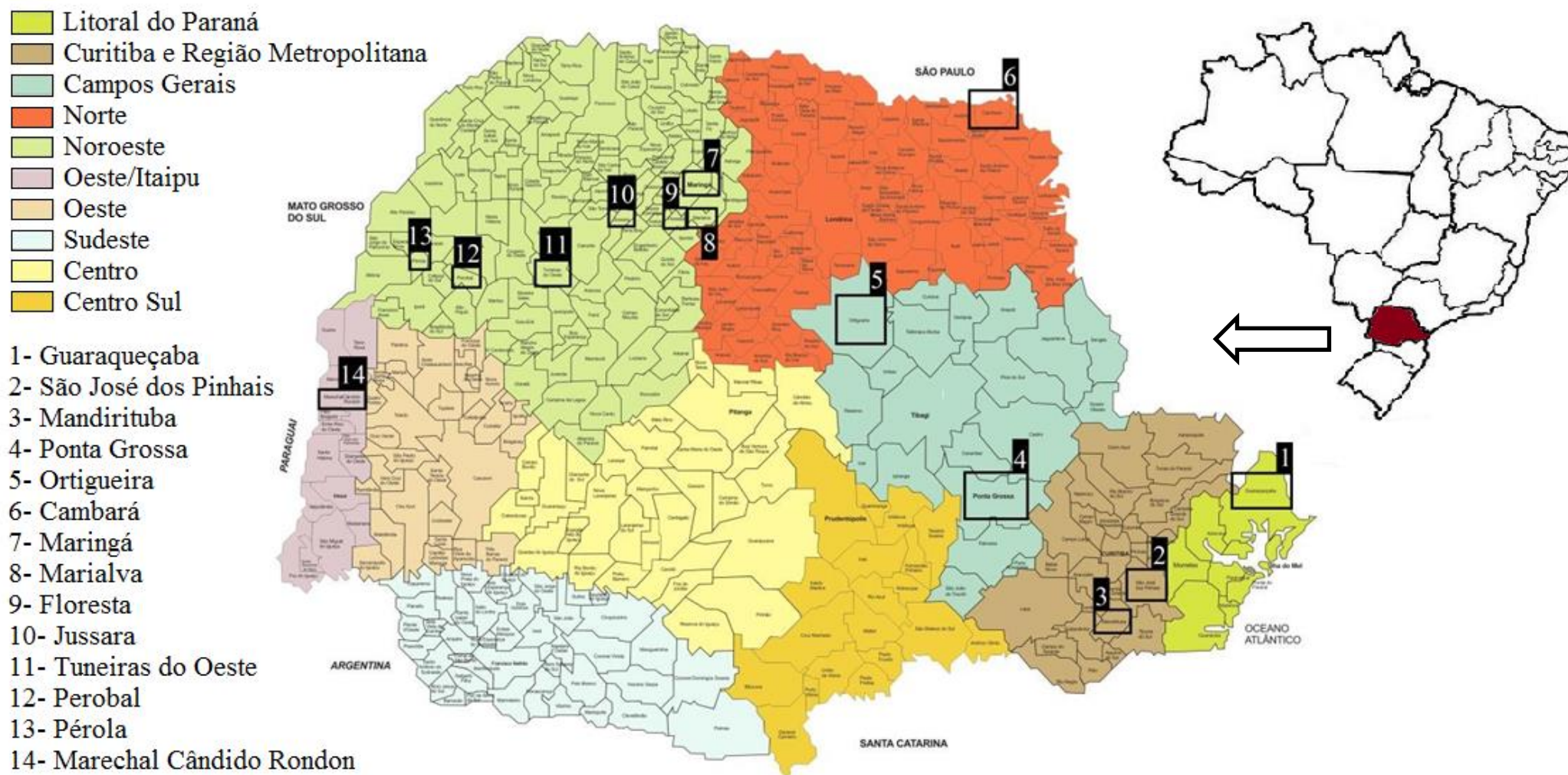


Fig. 1. Distribuição espacial das localidades das amostras de mel produzidas por meliponíneos das seis regiões do Estado do Paraná.



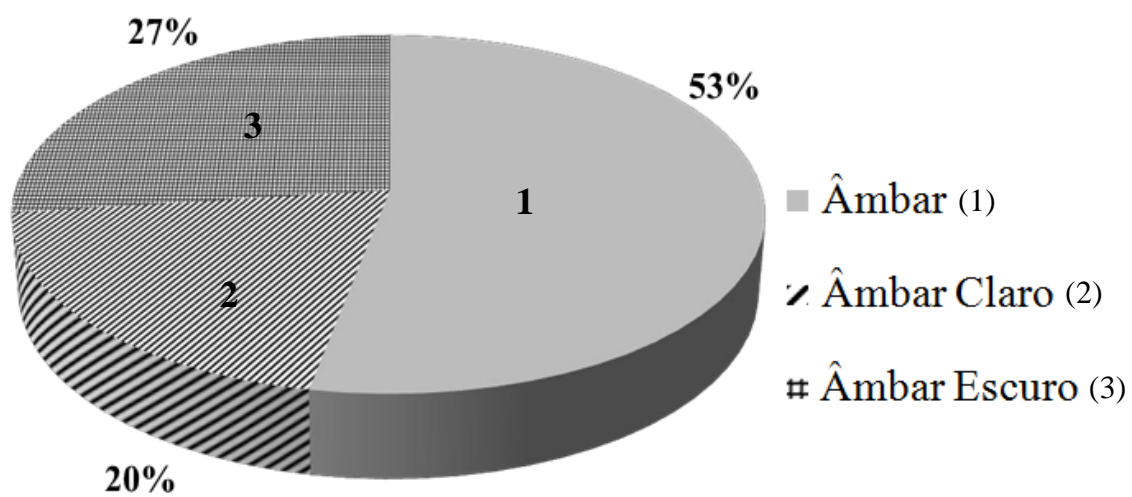


Fig. 2. Distribuição percentual das cores determinadas para amostras de mel de meliponíneos provenientes das seis regiões do Estado do Paraná.

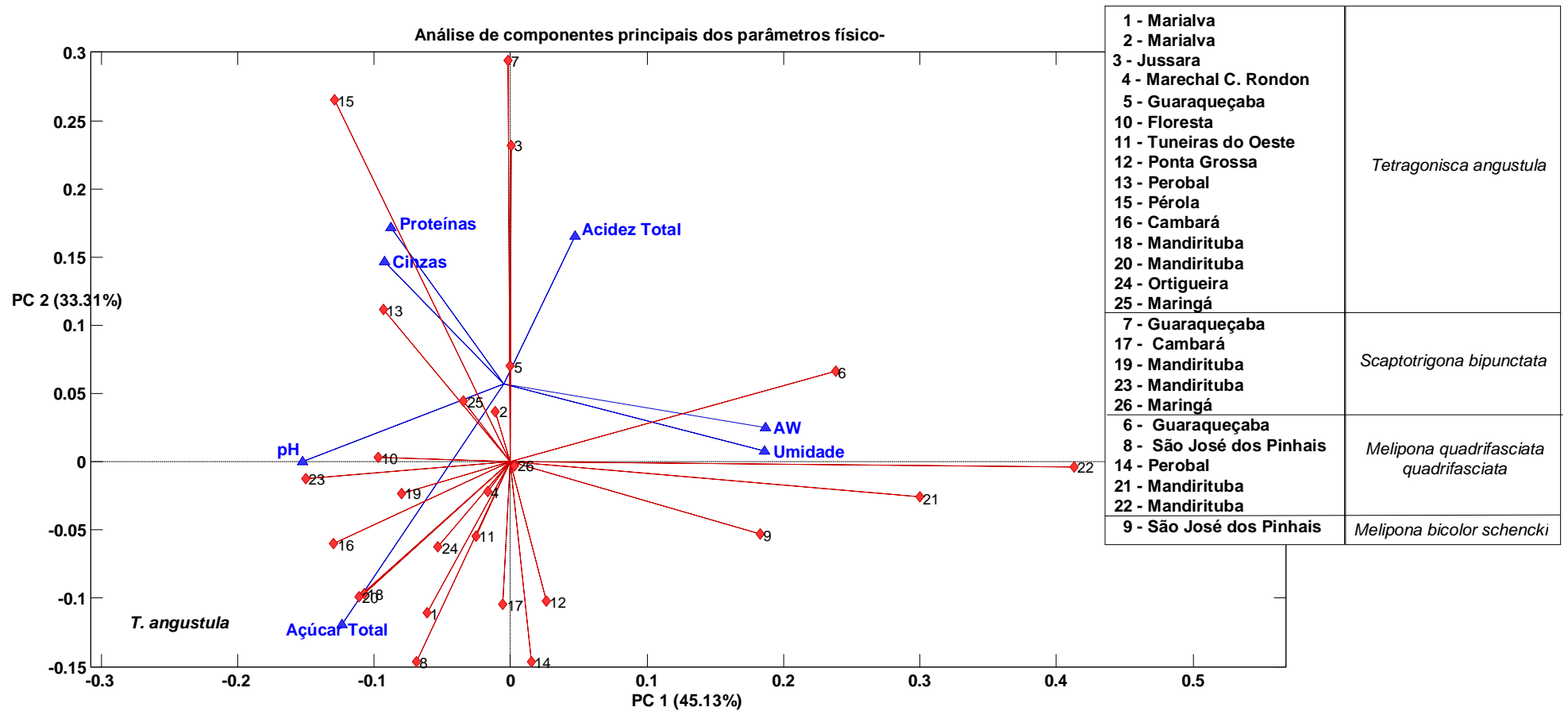


Fig. 3. Primeira contra segunda componente da análise de componentes principais das respostas das análises físico-químicas do mel avaliado.