

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DOS MÉIS DE *Melipona subnitida* E  
*Melipona fasciculata* DO ESTADO DO PIAUÍ**

**ROSANE DA SILVA SANT'ANA**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
FEVEREIRO - 2017**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DOS MÉIS DE *Melipona subnitida* E  
*Melipona fasciculata* DO ESTADO DO PIAUÍ**

**ROSANE DA SILVA SANT'ANA**

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientador:** Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**Coorientador:** Dr. Bruno de Almeida Souza

**Coorientador:** Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**FEVEREIRO - 2017**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S232c	<p>Sant'Ana, Rosane da Silva. Caracterização físico-química e microbiológica dos méis de <i>Melipona subnitida</i> e <i>Melipona fasciculata</i> do Estado do Piauí / Rosane da Silva Sant'Ana. Cruz das Almas, BA, 2017. 147f.; il.</p> <p>Orientador: Fábio de Souza Dias.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Abelha sem ferrão – Mel. 2.Mel – Análise físico e química – Microbiologia. 3.Piauí – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 638.12</p>
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DOS MÉIS DE *Melipona subnitida* E  
*Melipona fasciculata* DO ESTADO DO PIAUÍ**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
ROSANE DA SILVA SANT'ANA**

Realizada em 24 de fevereiro de 2017

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Interno (Orientador)

Prof. Dr. Jorge Mauricio David  
Universidade Federal da Bahia - UFBA  
Examinador Externo

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Norma Suely Evangelista Barreto  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

Dedico...

À minha família por me apoiar em  
todos os momentos e possibilitar a  
realização de mais uma etapa.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), por meio do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pela oportunidade de realizar o Curso de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa pelo Edital CAPES/Embrapa n. 15/2014, Proposta 219, Projeto: “Estudos das populações de *Melipona fasciculata* e *M. subnitida* e qualificação do mel produzido em comunidades rurais do Piauí”.

À Embrapa Meio-Norte que firmou parceria, disponibilizando pessoal e recursos para obtenção das amostras de mel. Ao Núcleo de Estudo dos Insectos (INSECTA) e ao Laboratório de Automação e Instrução Analítica (LAIA) da UFRB pela oportunidade e disponibilidade de estrutura para o desenvolvimento da pesquisa.

Ào Eng. Agrônomo José Maria (*in memoriam*), pela amizade, ensinamentos e por se dedicar na coleta de amostras. À Dra. Fábiana Mello e o Dr. Rafael Meirelles, que intermediaram a organização das coletas, dando continuidade ao processo de obtenção das amostras.

Aos meliponicultores pelo fornecimento dos méis e por compartilhar informações fundamentais para a compreensão dos resultados do trabalho.

Ao meu orientador Dr. Fábio de Souza Dias, pela compreensão, momentos de discussões e ensinamentos, apoio, conselhos e por contribuir no meu crescimento profissional. Aos coorientadores, Dr. Bruno de Almeida Souza, pelo auxílio, dedicação e atenção, e ao Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho por todo o apoio, motivação e contribuições. À Dra. Melissa Oda Souza por dedicar seu tempo na realização das análises estatísticas.

À equipe do Laboratório de Automação e Instrução Analítica (LAIA) da UFRB, em especial Candice, Marcos e Fabrício, pelo apoio técnico na realização das análises, ensinamentos e motivações, assim como, à Claudia pela amizade e momentos de aprendizado.

Aos colegas e amigos do Grupo de Pesquisa Insecta da UFRB pelo acolhimento e ensinamentos. Agradeço, em especial, a Daniel e a Marivalda, amigos importantes no início dessa etapa, fazendo parte dos diferentes momentos, durante a realização da pesquisa. À Cerilene e Irana pela atenção,

amizade, motivação, apoio, momentos de aprendizado e descontrações. À Maiara, Michele e Marcela pelo auxílio em laboratório e por terem participado dos períodos de análises, nos quais aprendemos a importância do trabalho em equipe. Também agradeço à Dona Gal pela convivência e atenção.

Agradeço aos amigos Juracy, Manoel e Josilda pela preocupação e incentivos.

A José, pelo companheirismo, amizade, paciência e incentivos na realização desse trabalho, fazendo-se presente nos momentos adversos e nas conquistas, apoiando as minhas decisões.

À minha família, por ser a base da minha persistência e motivação e compreender a ausência, acreditando no meu potencial. À minha mãe (Dita) pelos ensinamentos e carinho e aos meus irmãos (Rege, Reinaldo, Jane, Rita (*in memoriam*)) que apoiaram as minhas decisões e também me fizeram acreditar na possibilidade de crescer profissionalmente. Aos meus sobrinhos (Luiza e Eduardo) por tornarem os dias mais alegres.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e me motivaram com palavras positivas.

A Deus por permitir cada momento de aprendizado e mais uma conquista pessoal e profissional.

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
<b>ARTIGO 1</b>	
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MEL DE <i>Melipona subnitida</i> (HYMENOPTERA: APIDAE) .....	38
<b>ARTIGO 2</b>	
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MEL DE <i>Melipona fasciculata</i> (HYMENOPTERA: APIDAE) .....	77
<b>ARTIGO 3</b>	
COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS ENTRE OS MÉIS DE <i>Melipona subnitida</i> E <i>Melipona fasciculata</i> DA REGIÃO SEMIÁRIDA DO BRASIL .....	115
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>134</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>135</b>



## CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DOS MÉIS DE *Melipona subnitida* E *Melipona fasciculata* DO ESTADO DO PIAUÍ

Autora: Rosane da Silva Sant'Ana

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**RESUMO:** A caracterização físico-química e microbiológica do mel de meliponíneos é fundamental, pois fornece informações para a definição da sua qualidade. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo avaliar as características microbiológicas e físico-químicas do mel produzido por duas espécies de abelhas sem ferrão (*Melipona fasciculata* e *M. subnitida*). Foram coletadas 29 amostras de mel, analisadas para a presença de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35°C e a 45°C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, esporos de *Clostridium* sulfito redutor, *Bacillus* spp. e bolores e leveduras. Além disso, foram analisados os parâmetros físico-químicos: umidade, pH, acidez livre, hidroximetilfurfural, atividade diastásica, açúcares redutores, sacarose aparente, sólidos solúveis totais, cor, reação de Lugol, compostos fenólicos totais, flavonóides totais e ácidos carboxílicos. As amostras apresentaram contagem de mesófilos aeróbios ( $<10$  a  $2,3 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>), *Bacillus* spp. ( $<10$  a  $1,6 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup>) e bolores e leveduras ( $<10$  a  $2,0 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>), enquanto os demais microrganismos avaliados não foram detectados. Quanto às características físico-químicas foi observado que a umidade variou de 15,97 a 28,97%, o pH de 3,14 a 4,11, acidez livre entre 17,17 a 65,67 meq Kg<sup>-1</sup>, HMF de 0,37 a 18,78 mg Kg<sup>-1</sup>, atividade diastásica de 0,03 a 0,82 Gothe, SST de 67,20 a 81,0 °Brix, açúcares redutores entre 63,71 a 78,8%, sacarose de 0,39 a 3,44%, compostos fenólicos totais de 115,59 a 498,01 mg Kg<sup>-1</sup> e flavonóides totais de 34,81 a 123,7 mg Kg<sup>-1</sup>, a cor variou do branco ao âmbar, teste de Lugol negativo, além de ser identificado o ácido ascórbico, acético, tartárico, cítrico, succínico, maléico e fumárico. As amostras de mel apresentaram características microbiológicas e físico-químicas similares aos de outras espécies de *Melipona*, o que pode favorecer a formulação de uma legislação de qualidade para o mel desse Gênero.

**Palavras-chave:** Abelhas sem ferrão, Meliponini, legislação, ácidos carboxílicos.

# PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE HONEYS OF *Melipona subnitida* AND *Melipona fasciculata* FROM STATE PIAUI

Author: Rosane da Silva Sant'Ana

Adviser: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**ABSTRACT:** The physicochemical and microbiological characterization of Meliponini honey is fundamental, since it provides information for the definition of quality. In this sense, the present study aimed to evaluate the microbiological and physicochemical characteristics of honey produced by two species of stingless bees (*Melipona fasciculata* and *M. subnitida*). Twenty-nine honey samples were analyzed for the presence of mesophilic aerobic microorganisms, coliforms at 35°C and at 45°C, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus*, *Clostridium* sulfite reducing spores, *Bacillus* spp. and molds and yeasts. In addition, physical-chemical parameters were analyzed: moisture, pH, free acidity, hydroxymethylfurfural, diastase activity, reducing sugars, apparent sucrose, total soluble solids, color, Lugol's reaction, total phenolic compounds, total flavonoids and carboxylic acids. The samples had a count of aerobic mesophiles (<10 to  $2.3 \times 10^4$  CFU g<sup>-1</sup>), *Bacillus* spp. (<10 to  $1.6 \times 10^2$  CFU g<sup>-1</sup>) and molds and yeasts (<10 to  $2.0 \times 10^3$  CFU g<sup>-1</sup>), while the other microorganisms evaluated were not detected. Regarding the physicochemical characteristics, was observed that the moisture varied from 15.97 to 28.97%, pH from 3.14 to 4.11, free acidity from 17.17 to 65.67 meq Kg<sup>-1</sup>, HMF of 0.37 to 18.78 mg Kg<sup>-1</sup>, diastase activity of 0.03 to 0.82 Gothe, SST of 67.20 to 81.0 °Brix, reducing sugars between 63.71 to 78.8%, sucrose of 0.39 to 3.44%, total phenolic compounds from 115.59 to 498.01 mg Kg<sup>-1</sup> and total flavonoids from 34.81 to 123.7 mg Kg<sup>-1</sup>, the color varied from white to amber, Lugol's test negative, in addition to identifying ascorbic, acetic, tartaric, citric, succinic, maleic and fumaric acids. The honey samples presented microbiological and physicochemical characteristics similar to those of other *Melipona* species, which may favor the formulation of a quality legislation for honey of this Genus.

**Keywords:** Stingless bees, Meliponini, legislation, carboxylic acids.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### **Importância das abelhas na agricultura**

A produção agrícola constitui um dos setores econômicos mais importantes no cenário mundial. A produtividade para a maioria das espécies cultivadas é aumentada conforme o sucesso do processo de polinização, um serviço ecossistêmico importante (KLATT et al., 2014), realizado por agentes abióticos (vento e água) e/ ou bióticos (morcegos, aves, besouros, vespas, abelhas, entre outros) (POTTS et al., 2016).

A polinização animal beneficia mais de 75% das espécies cultivadas em todo o mundo (KLATT et al., 2014). Cerca de 70% das 124 espécies agrícolas mais cultivadas, depende de polinizadores, com maior importância para as abelhas (KLEIN et al., 2007; VIEIRA et al., 2010; MELATHOPOULOS, TYEDMERS, CUTLER, 2014).

Dentre os animais, as abelhas se destacam como polinizadores, promovendo diferentes benefícios, como a melhoria na qualidade dos frutos (tamanho, peso e sabor), maior produção de sementes de culturas agrícolas e a contribuição para a manutenção da diversidade de espécies vegetais (MARLEBO-SOUZA, HALAK, 2013; COBRA et al., 2015).

Com diversas espécies de hábito de comportamento solitário e social, cada vez mais as abelhas tem seu papel valorado no mundo (GARIBALDI et al., 2011; GARIBALDI et al., 2016; POTTS et al., 2016). Além da espécie cosmopolita, *Apis mellifera* (abelha social com ferrão), várias espécies de abelhas sociais sem ferrão são importantes polinizadores de culturas, destacando-se tanto pelos serviços ecossistêmicos (KERR, 1997; ALENCAR-CARVALHO et al., 2016), como na geração de produtos da colônia (pólen, própolis, mel), proporcionando rendimento financeiro e agregação de valor econômico à atividade meliponícola (MAIA et al., 2015; SOUSA et al., 2016).

### **Abelhas sociais sem ferrão (Meliponini)**

As abelhas sociais sem ferrão possuem um ferrão atrofiado, o que possibilita seu fácil manejo e viabiliza a sua criação (meliponicultura) (VENTURINI et al., 2008). Pertencentes à Ordem Hymenoptera, Família Apidae, Subfamília Apinae, estão distribuídas na Tribo Meliponini, destacando-se o Gênero

*Melipona* encontrado na América do Sul, Central e Ilhas do Caribe (MOURE, URBAN, MELO, 2013).

No Brasil, a maior parte das espécies de *Melipona* ocorre no Norte e Nordeste, com criação predominante em comunidades indígenas e rurais (KERR, 1997). Dentre as espécies importantes destacam-se *Melipona (Melipona) subnitida* Ducke, 1910 e *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (MOURE, URBAN, MELO, 2013). São espécies endêmicas do semiárido brasileiro com destaque no cenário regional, principalmente pelos produtos da colônia (NOGUEIRA-NETO, 1997; SILVA et al., 2013b).

### ***Melipona (Melipona) subnitida* Ducke, 1910**

A espécie *Melipona subnitida*, conhecida como abelha jandaíra, tem ocorrência nos estados nordestinos, desde o Maranhão até a Bahia (PEREIRA et al., 2011; LIMA et al., 2016). Seu habitat natural ocorre nas cavidades das árvores, típicas do semiárido, preferencialmente as espécies *Cammiphora leptophloeos* (Imburana) e a *Caesalpinia pyramidalis* (Catingueira) (MARTINS et al., 2004).

A criação da *M. subnitida* é comumente realizada em comunidades rurais, (NOGUEIRA-NETO, 1997). Está entre as espécies mais utilizadas, devido a possibilidade de multiplicação, comercialização de enxames e principalmente pelo valor comercial que o mel vem conquistando (MAIA et al., 2015). Considerando a sua importância econômica e socioambiental, estudos recentes têm abordado seu comportamento na natureza (OLIVEIRA et al., 2012b), distribuição geográfica e populacional (PEREIRA et al., 2011; LIMA et al., 2014; LIMA et al., 2016), hábitos alimentares (BARTH et al., 2013), nidificação (CARVALHO, KOEDAM, IMPERATRIZ-FONSECA, 2014), características físico-químicas e propriedades terapêuticas do mel (MONTE et al., 2013; SILVA et al., 2013a; SOUSA et al., 2016).

A produção de mel por colônia chega até cerca de dois litros ou mais, variando conforme o manejo, a estação do ano e disponibilidade de recursos florísticos (CAMARA et al., 2004; KOFFLER et al., 2015).

O mel de *M. subnitida* é utilizado e valorizado pela medicina popular, devido às suas propriedades terapêuticas, as quais estão relacionadas principalmente à presença de compostos fenólicos com potencial antioxidante e antimicrobiano

(SOUSA et al., 2016; SILVA et al., 2013a), além de atividade anti-inflamatória (ALVES et al., 2008).

### ***Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854**

A espécie *Melipona fasciculata*, conhecida popularmente por abelha tiúba, é natural de regiões onde ocorre transição entre a vegetação da floresta amazônica, cerrado, restinga e caatinga (BARROS, LUZ, ALBQUERQUE, 2013), mais especificamente no Maranhão (RIBEIRO, ALBUQUERQUE, LUZ, 2016), Pará e Piauí (SARAIVA et al., 2012). Essa abelha contribui para a perpetuação de espécies vegetais nativas do semiárido, de importância econômica para a agricultura familiar (MARTINS et al., 2011) e de culturas agrícolas cultivadas nas pequenas propriedades (BARROS, LUZ, ALBQUERQUE, 2013; ALENCAR-CARVALHO et al., 2016).

*Melipona fasciculata* destaca-se pela produção de mel e geoprópolis, os quais vêm conquistando aceitação no mercado devido às propriedades terapêuticas (CUNHA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012a; ARAÚJO, BOSCO, SFORCIN, 2016) e ao sabor diferenciado do mel, conferido especialmente pela acidez e doçura, distinta da observada em outras espécies de *Melipona* (HOLANDA et al., 2012).

### **Composição e características físico-químicas do mel de abelha sem ferrão**

O mel é um produto elaborado pelas abelhas a partir do néctar ou de excreções de insetos sugadores de secreções de plantas (BRASIL, 2000). Coletado e transportado para a colônia pelas abelhas, o néctar passa por processos físicos e químicos, sendo acrescido de enzimas das glândulas hipofaríngeas (á-amilase, invertase e glicose-oxidase) e evaporação da água, resultando num composto “maduro” o mel (CRANE, 1980).

O mel é composto basicamente por água e açúcares, entretanto, existe cerca de 200 outras diferentes substâncias, tais como: carboidratos, proteínas, enzimas, vitaminas, minerais, ácidos carboxílicos, componentes aromáticos, compostos nitrogenados e fenólicos (ácidos e flavonóides), pigmentos (carotenóides), grãos de pólen, além de resíduos de cera de abelha (BRASIL, 2000; HOSNY et al., 2009; KHALIL et al., 2012).

A composição química do mel pode variar conforme a origem floral, natureza do solo, espécie de abelha, condições climáticas e manejo do meliponicultor (SOUZA et al., 2013; SILVA et al., 2013a; BILUCA et al., 2014). Além disso, durante a coleta, manipulação e armazenamento, o mel passa por mudanças na sua composição, bem como adulterações (SILVA et al., 2016). Por esta razão, padrões e normas são estabelecidos para avaliar a sua qualidade e identidade (MEIRELES, CANÇADO, 2013; ANJOS et al., 2015).

Comparando os resultados de caracterizações físico-químicas realizadas no mel de meliponíneos com os padrões exigidos pela Legislação Brasileira para mel de *Apis mellifera* (Tabela 1) (MARCHINI et al., 2004; SODRÉ et al., 2011), observa-se, de modo geral, que as características dos méis produzidos pelas diferentes espécies de abelhas sem ferrão não são atendidas pelas normas existentes, principalmente em relação à elevada umidade (CARVALHO et al., 2005a).

A ausência de uma legislação específica e a diversidade de espécies de meliponíneos no Brasil, reforça a necessidade de investigar grupos de méis com vista a obter informações sobre suas características físico-químicas para o estabelecimento de padrões de qualidade e identidade (CARVALHO et al., 2013). Nesse sentido, foi criado o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de abelha social sem ferrão, Gênero *Melipona* do Estado da Bahia, estabelecido pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia, N° 207 de 21 de novembro de 2014, com base nos resultados encontrados em estudos realizados na região (ADAB, 2014). Essa normativa determina quais parâmetros devem ser considerados para avaliar a qualidade do mel, tais como a umidade, açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica, hidroximetilfurfural, acidez livre e cor.

### **Umidade**

A umidade representa a água contida no alimento e pode ser classificada em: umidade de superfície, relacionada a água livre, encontrada na superfície externa do alimento, de fácil evaporação e a umidade de absorção, referente a água ligada, presente no interior do alimento (IAL, 2008).

No mel, a umidade é uma das características mais importantes, influenciando a viscosidade, grau de maturação, cristalização e sabor, com implicações na sua conservação (SEEMANN, NEIRA, 1988; BILUCA et al 2014;

**Tabela 1.** Variações físico-químicas de méis de diferentes espécies de abelha sem ferrão (Meliponini) (adaptado de CARVALHO et al., 2005a), comparado aos padrões estabelecidos pela Legislação Brasileira, *Codex Alimentarius* e Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia.

Espécie de abelha	País/Estado	Umidade (%)	pH	Acidez (meq kg <sup>-1</sup> )	AR (%)	SA (%)	HMF (mg kg <sup>-1</sup> )	AD (Gothe)	Cor	SST (°Brix)	AT (%)	Fonte
<i>Melipona scutellaris</i>	Brasil/Nordeste	27,7	4,37	28,75	57,8	1,72	1,53	2,16				Carvalho et al. (2009)
<i>M. quadrifasciata</i>												
<i>Melipona</i> spp.	Brasil/Bahia	34,26	3,65	33,68	61,44	2,99	16,96		A.C.		69,27	Souza et al. (2009)
<i>M. flavovireata</i> , <i>M. tasciculata</i>	Brasil/Pará								E. A.C.			Oliveira et al. (2012a)
<i>M. compressipes</i> , <i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Brasil/Piauí	25,8	3,28	73,3			46,23		A.C.			Monte et al. (2012)
<i>M. fasciculata</i>	Brasil/Maranhão	23,8	3,6	31,88	60,68	2,65	27,38	1,43				Holanda et al. (2012)
<i>Melipona subnitida</i>	Brasil/Paraíba	24,8		32,49	50,97	4,86	7,56	ND	E. A.C.			Almeida-Murandian et al (2013)
<i>M. subnitida</i>	Brasil/Paraíba	22,92	2,99	41,22	51,17		13,67					Silva et al. (2013a)
<i>M. seminigra merrillae</i>	Brasil/Amazonas	28,23	3,69	48,31	62,83		10,88					Silva et al. (2013b)
Meliponini spp.	Brasil/ Santa Catiarina				52,9	0,0*	0,0*					Biluca et al. (2014)
<i>M. fasciculata</i>	Brasil/Maranhão	23,94	3,3	29	62,93	2,7	7,56	2,18	E. A.C.			Holanda et al. (2015)
<i>M. beechii</i>	México	22,8		38,6	53,1	8,3					61,4	Ramon-Sierra, Ruiz- Ruiz, Ortiz-Vazquez (2015)
<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Brasil/ PB, RN						ND					Costa, Maruga (2016)
<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Brasil/ Rio Grande do Norte	25,53	3,88			2,11	ND		A.C	72,68	67,47	Sousa et al. (2016)
<i>Melipona</i> spp.	Brasil/ Santa Catiarina	28,7	3,59	58,8	59,4	0,0*	0,0*	<3		65,5		Biluca et al. (2016)
<i>Melipona</i> spp.	Tailândia	33,08			36,93	ND	12,76	1,03			51,13	Chuttong et al. (2016)
<b>PADRÕES</b>												
<i>Melipona</i> spp.	Brasil/ Bahia	20-35	NR	Max 50	Min 60	Max 6	Max 10	Max 3	QI -PE	NR	NR	ADAB (2014)
<i>Apis mellifera</i>	Brasil	Max 20	NR	Max 50	Min 65	Max 6	Max 60	Min 8	QI -PE	NR	NR	Brasil (2000)
<i>Apis mellifera</i>	Europa	Max 20	NR	Max 50	Min 60	Max 5	Max 40	Min 9	NR	NR	NR	Codex Alimentarius (2001)

AR= açúcares redutores; SA= sacarose aparente; HMF= hidroximetilfurfural; AD= atividade diastásica; SST= sólidos solúveis totais; AT= açúcares totais; AC= âmbar claro; EAC= êtra âmbar claro; ND= não detectado; NR= não referenciado; 0,0\* = valor aproximado de zero; QI = Quase incolor; PE= Pardo escuro; umidade (%).

BILUCA et al., 2016), além disso, pode influenciar sua estabilidade.

O teor de umidade dos méis de meliponíneos é variado (média de 23,1% a 37,2%), podendo ser influenciado pela origem do néctar, região, época da coleta e manejo do meliponicultor (SOUZA et al., 2009; SILVA et al., 2013a; NASCIMENTO et al., 2015; CHUTTONG et al., 2016; BILUCA et al., 2016; SOUSA et al., 2016).

Durante a manipulação, o mel pode absorver água do ambiente e conseqüentemente elevar a sua umidade, estando sujeito a deterioração e fermentação por microrganismos osmofílicos (tolerantes à elevadas concentrações de soluto) (BRASIL, 2000).

### **Açúcares redutores e sacarose aparente**

Os açúcares são carboidratos, indicativos da qualidade do mel, influenciam na viscosidade, higroscopicidade, valor energético e atividade antibacteriana (MOREIRA, DE MARIA, 2001; ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013; KUROISHI et al., 2012). Quando em teores elevados, provocam alterações em suas características, assim como na cristalização (LAOS et al., 2011; ESCUREDO et al., 2014), sendo utilizado para atestar a maturidade do produto (BRASIL, 2000; CODEX, 2001).

Dentre os açúcares totais no mel, destacam-se os monossacarídeos (glicose e frutose), os quais são açúcares redutores, formados a partir da hidrólise da sacarose pela ação da enzima invertase, secretada pelas abelhas e sua concentração depende da fonte do néctar (WHITE JÚNIOR, 1979). Estão presentes em níveis elevados quando comparados aos demais açúcares, variando de 57,74 % a 62,83 % dos sólidos solúveis totais (SOUZA et al., 2009; SILVA et al., 2013a; SILVA et al., 2013b; NASCIMENTO et al., 2015).

A frutose, monossacarídeo predominante, pode variar, em média, entre 31,11 % a 40,20 % e a glicose com intervalo de 23,9 % a 31,0% (ESCUREDO et al., 2014; BILUCA et al., 2014). A frutose apresenta alta higroscopicidade e por isso confere a doçura no mel e quanto maior a sua concentração em relação a glicose, maior a fluidez, enquanto a glicose, devido a sua pouca solubilidade em água, determina a tendência de cristalização do mel (BILUCA et al., 2016). A conversão da glicose pela enzima invertase em ácido glucônico, resulta na



formação de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), capaz de inibir o desenvolvimento de microrganismos no mel (MOREIRA, DE MARIA, 2001).

Os dissacarídeos e trissacarídeos representam os demais açúcares do mel. Dentre os dissacarídeos (SOUSA et al., 2016), a sacarose, açúcar não redutor, é relatada com intervalo médio entre 0% a 4,99% (HOLANDA et al., 2012; ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013; CHUTTONG et al., 2016), no entanto, valores elevados (max. 6,0%, Legislação), considera-se que o mel sofreu adulteração por adição de açúcar ou foi colhido antes da maturação, considerado “mel verde” (BRASIL, 2000).

### **Atividade diastásica**

A diastase ou amilase é uma enzima secretada pelas glândulas hipofaringeanas das abelhas, não sendo influenciada pela origem botânica e sim pela espécie, sua função é quebrar a molécula de amido (MELO, DUARTE, MATA, 2003). Esta enzima tem comportamento instável quando submetida a temperaturas acima de 40° C (HOLANDA et al., 2015) por um período prolongado, cuja condição pode causar a redução da sua quantidade no mel, sendo um parâmetro importante na determinação da qualidade deste produto (AROUCHA, 2012).

A atividade diastásica de méis recém coletados de abelhas sem ferrão é relativamente baixa ou ausente (ver Tabela 1) (BRUIJN, SOMMEIJER, 1997; SOUZA et al., 2009; AROUCHA, 2012). Para o Gênero *Melipona* é frequente a presença da enzima em concentrações abaixo de três unidades (BILUCA et al., 2016; HOLANDA et al., 2012), sendo considerada uma característica inerente a esse tipo de abelha (SOUZA et al., 2009; CARVALHO et al., 2013).

Os valores normalmente encontrados nos méis de meliponíneos não se enquadram na Legislação Brasileira, que estabelece o mínimo de oito unidades (BRASIL, 2000). Por essa razão, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de abelha social sem ferrão, Gênero *Melipona* da Bahia estabelece o valor mínimo de 3 na escala Gothe (ADAB, 2014).

### **Hidroximetilfurfural (HMF)**

O hidroximetilfurfural é uma substância encontrada naturalmente no mel, formado a partir da reação de Maillard (processo não enzimático, envolvendo a

combinação de açúcares redutores com proteínas e/ou aminoácidos) ou pela desidratação de frutose e glicose, em meio ácido (TOSI et al., 2002; SILVA et al., 2016). Outros fatores que também influenciam na formação do HMF é o pH, atividade de água, além de temperaturas baixas (TORNUK, et al., 2013).

O HMF é um parâmetro utilizado para atestar sobre a frescura e idade do mel (SODRÉ et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2015), uma vez que este composto é encontrado em baixas concentrações em amostras recém coletadas, mas pode aumentar com o aquecimento (FREITAS et al., 2010), indicando a redução no valor nutritivo do mel pela degradação de algumas vitaminas e enzimas sensíveis ao calor (ARAUJO, SILVA, SOUSA, 2006).

O valor elevado de HMF pode também indicar possível falsificação por adição de xarope invertido (açúcar comercial e ácido cítrico), uma vez que, esse composto é formado com o aquecimento de açúcares na presença de um ácido (YÜCEL, SULTANOGLU, 2013).

De modo geral, os méis de abelhas sem ferrão apresentam baixas concentrações de HMF, sendo relatado em diferentes estudos, níveis variando de 5,4 a 13,6 mg kg<sup>-1</sup> nos méis recém coletados da Venezuela (VIT, 2013); região sul da Ásia (CHUTTONG et al., 2016); semiárido do Brasil (SILVA et al., 2013a; SILVA et al., 2013b; COSTA, MADRUGA, 2016). Em outros estudos realizados nas regiões Sul (BILUCA et al., 2014) e Nordeste do Brasil (SILVA et al., 2013b; SOUSA et al., 2016) o composto não foi detectado em méis frescos.

Testes *in vitro* demonstraram que o HMF pode apresentar efeitos nocivos tais como: citotóxico, carcinogênico, mutagênico e genotóxico (CAPUANO, FOGLIANO, 2011). A Legislação Brasileira estabelece o valor máximo de 60 mg Kg<sup>-1</sup> para o mel recém coletado, considerando a toxicidade do composto, acima do qual, é inadequado ao consumo humano (BRASIL, 2000).

### **Acidez e pH**

Contribuindo para a estabilidade do mel, a acidez é caracterizada pela presença de ácidos carboxílicos (MOREIRA et al., 2007). Sua concentração pode ser influenciada pela origem geográfica, época de coleta, diferentes fontes de néctar, atividade enzimática da glicose-oxidase, além da ação de leveduras (TERRAB et al., 2004; TORNUK et al., 2013), sendo um fator importante por influenciar no sabor característico do mel (BOGDANOV, 1997).

A Legislação Brasileira estabelece a determinação da acidez livre no mel como indicador de formas inadequadas de armazenamento e início de fermentação. Valores de acidez livre acima de 50 meq Kg<sup>-1</sup> podem estar associados à fermentação dos açúcares pela ação de leveduras presentes no mel (CODEX, 2001; ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013).

Os méis de meliponíneos apresentam grandes variações nos valores de acidez. Assim, estudando méis de seis espécies do Gênero *Melipona*, Sousa et al. (2013) observaram médias variando de 33,5 a 86,2 meq Kg<sup>-1</sup>, enquanto Holanda et al. (2012) encontraram valores de 22,78 a 41,48 meq Kg<sup>-1</sup> para *M. fasciculata*, cujos valores são menores que a acidez encontrada por Monte et al. (2013) para o mesmo gênero (52,0 a 85,0 meq Kg<sup>-1</sup>). Esses resultados indicam, além da variabilidade de valores, a elevada acidez como uma característica natural dos méis de abelha sem ferrão (BOGDANOV, VIT, KILCHENMANN, 1996).

Assim como a acidez, o pH também é utilizado para avaliar a qualidade do mel, pois é uma das condições relacionadas ao desenvolvimento de microrganismos (SILVA et al., 2010). É definido como potencial hidrogeniônico, refere-se aos íons hidrogênio presentes em uma solução, um fator importante na atividade antimicrobiana do mel (NOGUEIRA-NETO, 1997; SOUZA et al., 2009). Os méis de meliponíneos do Brasil apresentam valores de pH entre 2,99 a 4,37, cuja variação está relacionada à composição floral nas áreas de coleta, química do solo, bem como o pH do néctar (CARVALHO et al., 2009; CAMPOS, GOIS, CARNEIRO, 2010; SILVA et al., 2013a).

A Legislação não preconiza valores de pH, pois não considera um fator de qualidade do mel, mas é um parâmetro muito utilizado na determinação da acidez deste produto (CARVALHO et al., 2005a), além de sua avaliação pode ser correlacionada com outros parâmetros de autenticidade a fim de verificar adulterações (ex.: amostra de mel adicionado de xarope de milho rico em frutose, apresenta aumento significativo no valor de pH quando comparado ao mel puro) (RIBEIRO et al., 2014).

## **Cor**

A cor do mel é o principal atributo sensorial que atrai o consumidor, influenciando na aceitação, preferência e intenção de compra do produto

(CARVALHO et al., 2009; SOUSA et al., 2016), além de ser um dos parâmetros físico-químicos importantes na avaliação da qualidade e determinante na comercialização do produto (SOUZA et al., 2009; SILVA et al., 2016).

Estabelecida pela Legislação Brasileira e classificada de acordo com a escala de Pfund, a cor (Quadro 1) pode variar de quase incolor ao pardo escuro (BRASIL, 2000), sua intensidade varia conforme a origem do néctar, conteúdo de minerais e compostos fenólicos (GUERRINI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012a). Outros fatores também podem influenciar na cor, como a exposição à luz, calor e tempo de armazenamento (FREITAS et al., 2010; SOUSA et al., 2016).

**Quadro 1.** Escala de cores de Pfund para classificação de méis (adaptada de Vidal, Fregosi, 1984).

Cor	Escala de Pfund (mm)*	Faixa de coloração: absorvância (nm)*
Branco d'água	1 a 8	0,030 ou menos
Extra branco	8 a 17	0,030 a 0,060
Branco	17 a 34	0,060 a 0,120
Extra âmbar claro	34 a 50	0,120 a 0,188
Âmbar claro	50 a 85	0,188 a 0,440
Âmbar	85 a 114	0,440 a 0,945
Âmbar escuro	> 114	> 0,945

\*mm = milímetros; nm=nanômetros.

### Outros componentes da qualidade do mel

Além dos critérios físico-químicos estabelecidos pela Legislação Brasileira para a certificação da qualidade do mel, outros parâmetros são analisados com o propósito de fornecer mais informações e colaborar para o conhecimento das características de grupos de méis (SOUZA et al., 2009; SANCHO et al., 2013). Dentre os quais, destacam-se a reação de Lugol, sólidos solúveis totais, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos.

#### Reação de Lugol

A reação de Lugol consiste no teste qualitativo de importância comercial, pois indica possível adulteração pela adição de amido com fins fraudulentos

(BERA, ALMEIDA-MURANDIAN, 2007). Essa reação tem como base a reação de lugol com os polímeros de amido presentes no xarope de amido de milho hidrolisado (SCHLABITZ, SILVA, SOUZA, 2010). Quando o mel contém amido, ocorre uma reação na sua coloração a partir da adição de iodo e iodeto de potássio: o amido reage com o iodo, formando um complexo vermelho-violeta, indicando adulteração (MEIRELES, CANÇADO, 2013; PEREIRA, GOBBI, SARTOR, 2015).

Assim, o teste de Lugol tem sido utilizado para verificar a procedência de amostras de mel (condições de coleta, armazenamento e distribuição para o consumidor) e corroborar com resultados obtidos da determinação de hidroximetilfurfural, açúcares redutores e sacarose aparente (ALMEIDA – MURADIAN et al., 2013; PERICO et al., 2012; CRUZ et al., 2014), uma vez que essas características podem sofrer alterações por adulteração.

### **Sólidos solúveis totais**

Os sólidos solúveis, expressos em grau brix (°Brix), é um parâmetro útil na indicação de possível adulteração do mel (GUERRINI et al., 2009), além de ter correlação com atributos sensoriais como viscosidade e sabor (SOUSA et al., 2016).

O teor de sólidos solúveis totais consiste na medida indireta do teor de açúcares (CHITARRA, CHITARRA, 2005), além disso, são representados por outros componentes que encontram-se dissolvidos no mel, tais como vitaminas, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos, porém, os açúcares são mais representativos (SILVA et al., 2016).

Os valores de sólidos solúveis no mel de meliponíneos apresentam pouca relação com a origem do néctar e pode variar entre 65,5 e 74,5 °Brix (BILUCA et al., 2016; SOUSA et al., 2016). Geralmente, o mel das abelhas sem ferrão apresenta teor de sólidos solúveis inferior em relação ao mel de *A. mellifera* (76,07 a 85,0 °Brix) devido ao elevado teor de água e menor porcentagem de açúcares totais (MEIRELES, CANÇADO, 2013; HABIB et al., 2014).

### **Ácidos carboxílicos**

Os ácidos carboxílicos são substâncias compostas por átomos de carbono em sua fórmula, conferindo sabor azedo e, em alguns casos, odor característico

aos alimentos, estando distribuídos nas frutas e nos vegetais com concentração variando conforme a espécie vegetal e condições do solo (JONES, 1998).

Na indústria alimentícia os ácidos carboxílicos são utilizados como antioxidantes de sucos (exemplo: o ácido ascórbico), acidulantes e para realçar o sabor de bebidas à base de frutas, tais como o ácido cítrico e tartárico (SCHERER, RYBKA, GODOY, 2008).

No mel, os ácidos carboxílicos são diversificados, estão presentes em baixas concentrações, aproximadamente 0,5% da sua composição e influenciam na acidez total (KARABAGIAS et al., 2014). São provenientes de fontes florais ou derivados da decomposição de açúcares por enzimas secretadas pelas abelhas como a glicose-oxidase, durante o processo de transformação do néctar em mel (CHERCHI et al., 1994). Dentre os ácidos reportados em méis estão os ácidos butírico, acético, galacturônico, fórmico, glucônico, glutâmico, glutárico, butírico, glioxílico, 2-hidroxi-butírico,  $\alpha$ -hidroxglutárico, isocítrico, malônico, metilmalônico, 2-oxopentanóico, propiônico, pirúvico, quínico, shiquímico, succínico, tartárico, oxálico, fumárico, ascórbico, málico, cítrico, láctico e sucínico (SUAREZ-LUQUE et al., 2002; NOZAL et al., 2003; CHERCHI et al., 1994; HAROUN et al., 2012).

Dentre os ácidos carboxílicos, o glucônico é encontrado em maior quantidade no mel, representando 70% a 90% dessas substâncias. Sua presença e concentração possui relação com a ação da enzima glicose-oxidase, durante a maturação do mel (ODDO et al., 2008). O ácido cítrico é proveniente do néctar, sendo por isso considerado um parâmetro fundamental para distinguir o mel de melato (de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insectos sugadores de secreções das plantas) do mel floral (originado do néctar) (MATO et al., 2006). Os ácidos fórmico e levulínico são formados a partir de reações sucessivas de HMF com moléculas de água, contribuindo para o aumento da acidez (SILVA et al., 2016).

A presença dos ácidos carboxílicos no mel pode influenciar tanto nos aspectos sensoriais, sabor e aroma, como nas propriedades químicas, tais como acidez e pH (MATO et al., 2006). A dissolução dos ácidos contribui para a liberação de íons de hidrogênio e seu aumento eleva a acidez, conseqüentemente, promove a redução do valor de pH, favorecendo maior vida útil ao produto, por representar uma condição inibitória do crescimento microbiano (SANCHO et al., 2013).

A determinação de ácidos carboxílicos no mel é utilizada como indicativo de deterioração durante o armazenamento, fornecendo informações a respeito da acidez e o tempo de prateleira (SILVA et al., 2016). Por isso, considera-se um importante parâmetro para avaliar a qualidade do mel, apesar de não ser abordado com frequência em pesquisas sobre as abelhas sem ferrão (ODDO et al., 2008). Os ácidos carboxílicos também podem ser utilizados para fornecer maiores informações com relação à origem botânica e/ou geográfica do mel (HAROUN et al., 2012).

Estudo realizado por Cavia et al. (2007) constatou que o aumento da acidez livre no mel é proporcional ao tempo de armazenamento. Além disso, é influenciada pela presença de ácidos livres na solução, provenientes da transformação de açúcares e álcoois em ácidos pela ação de leveduras.

### **Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são um dos mais importantes grupos de substâncias que podem ser encontradas em diferentes tecidos vegetais, tais como folhas, flores e frutos. São produtos do metabolismo secundário das plantas, envolvidos no processo de adaptação e propagação de espécies vegetais, proteção contra patógenos, injúrias e inimigos naturais (ANSELMO, LIMA, 2014).

Os compostos fenólicos são formados por hidroxilas e anéis aromáticos e contribuem para as propriedades antioxidantes e sensoriais, cor e aroma de alimentos, dentre eles, pode-se destacar os flavonóides e os ácidos fenólicos como as classes mais importantes que apresentam essas características (MOURE et al., 2001; SILVA et al., 2016).

Os flavonóides representam uma ampla família de substâncias com propriedades diversificadas, dentre os quais, existem os pigmentos fenólicos, presentes nas plantas e alimentos, relacionados à coloração de algumas frutas e vegetais (COOK, SAMMAN, 1996).

A presença de compostos fenólicos vem sendo estudada em diversos produtos alimentícios. No mel de abelha sem ferrão, essas substâncias podem apresentar correlação com atividades biológicas, tais como antibacteriana e antioxidante, além de influenciar na variação da cor do produto, conforme a origem botânica (SUNTIPARAPOP, PRAPAIPONG, CHANTAWANNAKUL, 2012;

OLIVEIRA et al., 2012a; SOUSA et al., 2016). A concentração de compostos fenólicos totais pode variar entre 120 a 230 miligramas equivalente de ácido gálico por cem gramas de mel (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) (SILVA et al., 2013a).

Os compostos fenólicos contribuem para utilização do mel como fitoterápico, entretanto, para que este possa ser utilizado deve estar livre de contaminação microbiológica, assegurando ao consumidor um produto de qualidade.

### **Microbiologia do mel**

O controle de qualidade dos alimentos é uma forma de minimizar o impacto negativo ocasionado pela contaminação microbiológica na saúde do consumidor (TAFIDA et al., 2013), durante o processo de obtenção do produto: produção, embalagem, transporte e armazenamento (FORSYTHE, 2013).

O mel é elaborado e obtido em ambientes propícios a contaminações microbiológicas, sendo que os contaminantes podem estar presentes no ar, néctar, pólen ou aderidos a equipamentos e utensílios utilizados durante a coleta e armazenamento do produto (BOGDANOV, 2006; RISSATO et al., 2007; PEREIRA, GOBBI, SARTOR, 2015). Quanto à fonte de contaminação pode ser primária: caracterizada pelo difícil controle, pois está inerente às abelhas, incluindo o trato digestivo desses organismos, poeira, vento, pólen e néctar das flores (GOOD et al., 2014); secundária: relacionada aos manipuladores por meio de infecções da pele, espirros, saliva e contaminação de origem fecal e uso de embalagens e equipamentos (OLAITAN, ADELEKE, OLA, 2007; KUKITA et al., 2013).

As características físico-químicas do mel são desfavoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, tais como pH (2,99 a 4,37), atividade da água (Aw) (0,54 a 0,67) (Tabela 2), alta concentração de açúcares e pressão osmótica elevada, além da presença de compostos bioativos com capacidade antimicrobiana (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2013a; HABIB et al., 2014). Entretanto, existem microrganismos tolerantes às essas condições e utilizam os açúcares como fonte de energia, sobrevivendo em meio ácido, como alguns fungos e bactérias formadoras de esporos (ex.: Gênero *Bacillus* e *Clostridium* (SOUZA et al., 2009; PIMENTEL et al., 2013).



**Tabela 2.** Valores de pH e atividade de água do mel de meliponíneos e para o crescimento de microrganismos de importância nos alimentos (SOUZA et al., 2009; SILVA et al., 2010; MONTE et al., 2013).

Parâmetro	Mel	Microrganismos					
		<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Clostridium</i>	Bolores	Leveduras	<i>Bacillus</i>
pH	2,99 - 4,37	6,5 - 7,5	6,0 - 7,0	Min. 4,5	4,5 - 6,8	4,0 - 6,5	4,3 - 9,3
Aw	0,54 - 0,67	Min. 0,95	Min. 0,83	Min. 0,93	0,65 - 0,80	0,61 - 0,88	0,93

Min = mínimo; Aw: atividade de água.

A caracterização microbiológica do mel fornece informações a cerca das condições de coleta, armazenamento e distribuição para o consumo, indicando a vida útil e possíveis riscos à saúde dos consumidores (FRANCO, 2008; TCHOUMBOUE, et al., 2007). Apesar da importância da caracterização microbiológica, a Legislação Brasileira vigente não determina padrões de qualidade para mel, por considerá-lo um meio desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos, estabelecendo boas práticas de higiene, durante a coleta e armazenamento do produto (BRASIL, 2000).

Assim, a qualidade microbiológica do mel, em geral é comparada a outros alimentos correspondentes (geleia), seguindo os critérios e padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução - RDC nº 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

### **Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas**

A presença de bactérias nos alimentos possibilita a veiculação de patógenos, favorecendo a deterioração e/ou redução da vida útil de produtos e representando potenciais riscos à saúde do consumidor (CARVALHO et al., 2005b). As bactérias aeróbias mesófilas são constituídas por espécies de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus* (VALSECHI, 2006).

Os microrganismos heterotróficos mesófilos aeróbios multiplicam-se entre 20° C e 45° C, com ótimo de 36° C, são utilizados como indicadores da qualidade de alimentos. Embora sua contagem não seja estabelecida pela Legislação para alimentos, RDC nº 12, fornece informações sobre a contaminação microbiana total, possíveis falhas na higienização de utensílios e equipamentos, controle da

temperatura, armazenamento, assim como seu provável tempo de prateleira (CUNHA, SILVA, 2006).

A maioria dos alimentos apresenta alterações detectáveis a partir de  $10^6$  UFC  $g^{-1}$ , valor acima do qual, o produto analisado é considerado inadequado ao consumo humano (FRANCO, LANDGRAF, 2006). No mel, é comum encontrar valores não expressivos de até  $10^3$  UFC  $g^{-1}$  (PEREIRA, GOBBI, SARTOR, 2015).

### **Bolores e leveduras**

A determinação de bolores e leveduras é utilizado como indicador da eficiência de práticas de sanitização de ambientes, equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento de alimentos (MOURA et al., 2014).

Os bolores são fungos filamentosos, multicelulares, na sua maioria aeróbios, possuem hábitos de crescimento na superfície do alimento em contato com o ar. Normalmente, os alimentos são ricos em carboidratos, ácidos e com baixa atividade de água, nos quais podem alterar o pH com a produção de ácidos orgânicos, provocar deterioração e produzir micotoxinas (compostos secundários capazes de causar alterações no organismo humano) (VALSECHI, 2006). Dentre as espécies produtoras de toxinas, destacam-se as do Gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium*. Esses microrganismos estão distribuídos na natureza, podendo ser encontrados no solo, água, ar e superfícies de vegetais (CARVALHO, 2010; CAPPELLI et al., 2016).

As leveduras também são fungos, mas diferenciam-se dos bolores por serem unicelulares. Apresentam formato ovoide, triangular, esférico ou cilíndrico. De modo geral, requerem menor teor de umidade que a maioria das bactérias e mais umidade que a maioria dos bolores. A temperatura ideal para seu crescimento varia entre  $25^{\circ} C$  e  $30^{\circ} C$  (BAPTISTA, VENÂNCIO, 2003). O crescimento é favorecido pelo pH ácido e sua multiplicação ocorre melhor em aerobiose, mas os tipos fermentativos multiplicam-se bem também em anaerobiose. São encontradas no solo, na superfície de órgãos vegetais, principalmente flores e frutos, em líquidos açucarados, no trato intestinal de animais, entre outros (SILVA et al., 2010; MOURA et al., 2014).

As leveduras não representam um problema de segurança alimentar, pois normalmente, estão associadas à deterioração de alimentos onde se instalam, podendo causar redução no valor nutritivo e interferir no sabor e aroma (SILVA et

al., 2010). As principais espécies deteriorantes de alimentos pertencem aos Gêneros *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Thricosporum*, *Schizoasccharomyces* e *Zygosaccharomyces* (VALSECHI, 2006).

### **Esporos de *Clostridium* sulfito redutor**

Os clostrídios são bactérias na forma de bacilos, Gram-positivos retos ou levemente curvos, anaeróbios, formadores de esporos e apresentam flagelos peritríquios. O Gênero *Clostridium* pode ser encontrado no solo, frutas, legumes, intestino de bovino e equino e nas fezes humanas (SILVA et al., 2010). Além disso, agrupa diferentes espécies, destacando-se as do grupo *Clostridium* sulfito redutor, especificamente *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, capazes de reduzir sulfito a sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) a 46° C (FIGUEIREDO, DIAS, LUCENA, 2006; GOTTLIEB et al., 2007).

A espécie *C. botulinum* tem como habitat primário o solo, é saprofítico, esporula em condições adversas, o que lhe confere maior resistência. Produz a toxina botulínica com período de incubação entre 12 a 36 horas, limites de 2 horas a 6 dias. Sua produção ocorre em meio com pH superior a 4,5, atividade de água entre 0,94 a 0,98, baixa concentração de cloreto de sódio ou açúcar, com temperatura ótima de 37° C (JULIANO, CARDOSO, 2014).

Relacionada com a ingestão de alimentos contaminados pela toxina botulínica, o botulismo é uma doença grave, com ocorrência súbita, caracterizada por manifestações neurológicas, podendo levar à óbito (EDUARDO et al., 2007). A produção da toxina pode ser inibida a partir da refrigeração abaixo de 4° C, pela acidificação com pH menor que 4,5 ou destruída a uma temperatura de 83° C por cinco minutos, devido à sensibilidade ao calor (termolábil), além de que o armazenamento de alimentos em condições adequadas evita a germinação dos esporos *C. botulinum* e a sua multiplicação (CERESER et al., 2008).

Esporos de *Clostridium botulinum* podem germinar em abelhas adultas e pupas mortas na colônia, reforçando a necessidade de investigar a presença desse microrganismo no produto (NAKANO, KIZAKI, SAKAGUCWI, 1994; NEVAS et al., 2006). Além disso, deve ser evitado o fornecimento de mel para crianças com idade abaixo de um ano (RAGAZANI et al., 2008), visto que o botulismo infantil ocorre em crianças muito jovens, nas quais a ausência da microbiota de

proteção intestinal permite a germinação, multiplicação e produção de neurotoxina botulínica (CARDOSO et al., 2004).

### ***Bacillus* spp.**

*Bacillus* são bactérias Gram-positivas, aeróbias mesófilas, no formato de haste e produtoras de esporos, com desenvolvimento sob temperatura de 19° C a 48° C, intervalo ótimo de 23° C a 35° C. Multiplicam-se com atividade de água mínima de 0,95, apresentando faixa de pH ideal entre 4,9 a 9,3 (CARVALHO, 2010). Esse Gênero possui capacidade fisiológica que lhe permite viver em diferentes ambientes, além disso, seus esporos sobrevivem ao cozimento e à pasteurização de alimentos, resultando na germinação e multiplicação quando não é refrigerado de forma adequada (SIQUEIRA, 1995).

Dentre as suas espécies de importância alimentar, destaca-se *B. cereus*, por produzir enterotoxinas com dose mínima infectante de  $10^7$  a  $10^9$  unidade formadora de colônia por grama (UFC g<sup>-1</sup>), causadoras da síndrome diarréica e ou emética, com tempo de incubação variando de uma a 16 horas (CARVALHO, 2010).

### **Coliformes a 35 °C e a 45° C**

Os coliformes com crescimento a 35° C, ou coliformes totais, são bactérias na forma de bastonetes, Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não esporogênicos. Compõe esse grupo bactérias pertencentes à Família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose produzindo ácido e gás, ao serem incubadas à temperatura de 35° C a 37° C, com período de 24 a 48 horas. Os Gêneros de importância são *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citobacter* e *Klebsiella*, incluindo bactérias do trato gastrointestinal do homem e de animais homeotérmicos (FRANCO, LANDGRAF, 2006; SILVA et al., 2010).

O grupo dos coliformes a 45° C representado pela *Escherichia coli*, apresenta a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubada à temperatura de 44° C a 45° C (LANDGRAF, FRANCO, 1996). Os microrganismos desse grupo são encontrados no conteúdo intestinal do homem e animais homeotérmicos, assim como nas áreas de produção animal e, uma vez detectados no alimento pode indicar contaminação fecal durante o

processamento, evidenciando o risco da presença de organismos patogênicos (ALVES et al., 2009; CARVALHO, 2010).

### ***Salmonella* spp.**

As bactérias do Gênero *Salmonella* pertencem à Família Enterobacteriaceae, são bacilos Gram-negativos, não produtoras de esporos, anaeróbias facultativas, produzem gás a partir da glicose, sendo a maioria móvel. Sua multiplicação ocorre com pH ótimo igual a 7,0, quando menor que 4,0 tem efeito bactericida. Não toleram concentrações de cloreto de sódio (NaCl) superior a 9,0% e apresentam temperatura ótima de crescimento entre 35° C a 37° C (FRANCO, LANDGRAF, 2006), podendo sobreviver em alimentos com baixa atividade de água por período prolongado (AMAGLIANI, BRANDI, SCHIAVANO, 2012).

*Salmonella* spp. ocorrem nos ambientes de produção animal, constituindo-se em um potencial problema sanitário para a saúde pública, sendo transmitidas ao homem principalmente pela ingestão de alimentos de origem animal (EFSA, 2010; AMAGLIANI et al., 2016). Pode causar toxinfecção alimentar, com tempo de incubação entre 4 a 72 horas após a ingestão, sendo uma das mais importantes causas de doença de origem alimentar entre humanos, com estaque para a salmonelose (PELLEGRINI et al., 2015).

A salmonelose é caracterizada por febre, dor abdominal, diarréia, náuseas e vômitos ocasionais e, em alguns casos, nos jovens e idosos, ocorre a desidratação associada, com agravação do estado clínico e risco de vida (CHEN et al., 2016). Devido a importância da *Salmonella* spp. para a saúde pública, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece a ausência desse microrganismo em 25 gramas do alimento (BRASIL, 2001).

### ***Staphylococcus coagulase positiva***

As bactérias mesófilas do Gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, anaeróbias facultativas, não esporuladas. São encontradas na garganta, cabelos e pele de humanos saudáveis, em proporções menores que  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup>. Estão distribuídos em dois grupos, coagulase positiva, representado pelo *Staphylococcus aureus* e coagulase negativa, formado pelas bactérias *S.*

*epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, dentre outras (KATEETE et al., 2010).

Este microrganismo cresce em temperatura de 7° C a 47,8° C e produz enterotoxinas entre 10° C e 46° C, com ótimo de 40° C a 45° C. Em condições ótimas, a enterotoxina torna-se evidente entre quatro a seis horas. *Staphylococcus* spp. é o único microrganismo não esporulado capaz de crescer em atividade de água inferior a 0,86 (FRANCO, LANDGRAF, 2006). Além de apresentar grande capacidade de adaptação às condições ambientais adversas somado à sua patogenicidade, representando importante agente de toxinfecção alimentar. Quando detectado em alimentos indica deficiência na higiene do manipulador durante o processo de obtenção do produto (MEDEIROS et al., 2013).

A qualificação do mel é importante para a consolidação da criação racional das abelhas sem ferrão, especialmente para os pequenos produtores das diferentes localidades. Nessa perspectiva, a demanda crescente no mercado nacional e internacional por um mel de qualidade, aumenta a preocupação para o conhecimento da variação da composição química deste produto, assim como riscos de contaminação microbiológica. Diante disso, este estudo teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de méis produzidos por duas espécies de abelhas sem ferrão provenientes do Estado do Piauí.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAB. Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. Portaria nº 207 de 21 de novembro de 2014. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, Gênero *Melipona*. **Decreto nº 9.023 de março de 2004** e Art. 174, Parágrafo Único, 26 de nov. 2014.

ALENCAR-CARVALHO, G. C. et al. Flora de importância polínica utilizada por *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (hymenoptera: Apidae:Meliponini) em uma área de floresta amazônica na região da baixada maranhense, Brasil. **Oecologia Australis**. v. 20, n. 1, p. 58-68, 2016.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. et al. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.

ALVES, D. F. S. et al. Efeitos da aplicação tópica do mel de *Melipona subnitida* em feridas infectadas de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 3, p. 188-193, 2008.

ALVES, E. M. et al. Avaliação da presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto rio Paraná. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2222-2224, 2009.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 780-788, 2012.

ANJOS, O. et al. Neural networks applied to discriminate botanical origin of honeys. **Food Chemistry**, v. 175, p. 128-136, 2015.

ANSELMO, J. S.; LIMA, R. A. Identificação de classes de metabólitos secundários no extrato das folhas de *Solanum jamaicense* (Solanaceae) e seu potencial fungicida sobre *Candida albicans* in vitro. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 10, n. 1, p. 11-20, 2014.

ARAÚJO D, R.; SILVA R, H. D.; SOUSA J, S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, p. 51-56, 2006.

ARAÚJO, M. J. A. M.; BOSCO, S. DE M. G.; SFORCIN, J. M. *Pythium insidiosum*: inhibitory effects of propolis and geopropolis on hyphal growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 863-869, 2016.

AROUCHA, E. M. M. **Mel de abelha do Rio grande do Norte: qualidade física - química - sensorial - potencial antioxidante**. Mossoró, 2012. 80p.

BARROS, M. H. M. R.; LUZ, C. F. P.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Grana**, v. 52, n. 2, p. 81-92, 2013.

BARTH, O. M. et al. Palynological analysis of Brazilian stingless bee pot-honey. In: VIT, P.; ROUBIK D. W. (Eds.). **Stingless bee process honey and pollen in cerumen pots**. Venezuela: FFB, 1 ed., 2013, p. 1-8.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. Guimarães – Portugal: FORVISÃO, 1 ed., 2003. 109p.

BERA, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 49-52, 2007.

BILUCA, F. C. et al. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.

BILUCA, F. C., BRAGHINI, F., GONZAGA, L. V., COSTA, A. C. O., FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 50, p. 61-69, 2016.

BOGDANOV, S.; VIT, P.; KILCHENMANN, V. Sugar profiles and conductivity of stingless bee honeys from Venezuela. **Apidologie**, v. 26, p. 445-450, 1996.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLIMANN, C. Harmonised methods of the European Honey Commission. **Apidologie**, p. 1-59, 1997.



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

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, Seção 1, p. 16-17, 23 de out. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRUIJN, M. L. L.; SOMMEIJER, M. J. Colony foraging in different species of stingless bees (apidae: Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging. **Insectes Sociaux**, v. 44, p. 35-47, 1997.

CÂMARA, J. Q. et al. Estudos de meliponíneos com ênfase a *Melipona subnitida* D. no município de Jandaíra, RN. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 1, p. 20, 2004.

CAMPOS, F. S.; GOIS, G. C.; CARNEIRO, G. G. Parâmetros físico-químicos do mel de abelhas *Melipona scutellaris* produzido no Estado da Paraíba. **Zootecnia**, n. 7, p. 186-190, 2010.

CAPPELLI, S. et al. Avaliação química e microbiológica das rações secas para cães e gatos adultos comercializadas a granel. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n.1, p. 90-102, 2016.

CAPUANO, E.; FOGLIANO, V.; Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 793-810, 2011.

CARDOSO, T. et al. Botulismo alimentar: Estudo retrospectivo de cinco casos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 17, n. 1, p. 54-58, 2004.

CARVALHO, A. C. F. B. et al. Presença de microrganismos mesófilos, psicotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 3, p. 303-307, 2005b.

CARVALHO, C. A. L. et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Série Meliponicultura, n. 4, Cruz das Almas, Brasil: Nova Civilização, 2005a, 32p.

CARVALHO, C. A. L. et al. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 1, p. 143-149, 2009.

CARVALHO, C. A. L. et al. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In: VIT, P.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Venezuela: FFB, 2013, p. 1-9.

CARVALHO, A. T.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Register of a new nidification substrate for *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): The arboreal nest of the termite *Constrictotermes cyphergaster* Silvestri (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 428-434, 2014.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos alimentos**. Escola Técnica Aberta do Brasil, Recife: EDUFRPE/CODAI, 2010, 84p.

CAVIA, M. M. et al. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728-1733, 2007.

CERESER, N. D. et al. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

CHEN, Y. et al. *Salmonella* infection in middle-aged and older adults: incidence and risk factors from the 45 and up study. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 13, n. 12, p. 689-694, 2016.

CHERCHI, A. et al. Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. **Journal of Chromatography A**, v. 669, n. 1-2, p. 59-64, 1994.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed., revisado e ampliado. Lavras: UFLA, 2005, 783 p.

CHUTTONG, B. et al. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016.

COBRA, S. S. O. et al. Características florais e polinizadores na qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-azedo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 54-62, 2015.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Alinorm 41/10: revised standard for honey. Alinorm, n. 1, p. 19-26, 2001.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

COSTA, A.C.V.; MADRUGA, M. S. Volatil Profile of Monofloral Honeys Produced by Stingless Bees from the Brazilian Semi-arid Region. **International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v. 10, n. 5, p. 304-308, 2016.

CRANE, E. **A book of honey**. Oxford University Press, 1980, 193p.

CRUZ, L. C.; BATISTA, J. E. S.; ZEMOLIN, A. P. P.; NUNES, M. E. M.; LIPPERT, D. B.; ROYES, L. F. F.; FRANCO, J. L. A study on the quality and identity of Brazilian Pampa biome honey: evidences for its beneficial effects against oxidative stress and hyperglycemia. **International Journal of Food Science**, v. 2014, 2014.

CUNHA, M. A.; SILVA, M. R. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 1, n. 1, p. 9-13, 2006.

EDUARDO, M. B. P et al. Botulismo tipo A e B causado por torta comercial de frango com palmito e ervilhas no município de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 4, n. 38, p. 02-07, 2007.

EFSA - European Food Safety Authority. Scientific opinion on a quantitative microbiological risk assessment of *Salmonella* in slaughter and breeder pigs. **The EFSA Journal**, v. 8, p. 1547-1627, 2010.

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

FIGUEIREDO, M. A. A.; DIAS, J.; LUCENA, R. Considerações acerca de dois casos de botulismo ocorridos no Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Bahia**, v. 39, n. 3, p. 289-291, 2006.

FORSYTHE, S. J. **The Microbiology of Safe Food**. School of Science and Techonology, Nottingham Trent University. 2 ed., 2013, 606p.

FRANCO, B.D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microrganismos patogênicos de importância em alimentos**. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M (Eds.). Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2006.

FRANCO, B.D. G. M. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008, p. 149-154.

FREITAS, W. E. S. et al. Parâmetros físico-químicos do mel de abelha sem ferrão (*Melipona subnitida*) após tratamento térmico. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 3, p. 153-157, 2010.

GARIBALDI, L. A. et al. Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 14, p. 5909-5914, 2011.

GARIBALDI, L. A. et al. From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. **The Ecological Society of America**, v. 12, n. 8, p. 439-447, 2016.

GOOD, A. P. et al. Honey bees avoid nectar colonized by three bacterial species, but not by a yeast species, isolated from the bee gut. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. e86494, 2014.

GOTTLIEB, S. L. et al. Long-term outcomes of 217 botulism cases in the Republic of Georgia. *Clinical infectious diseases: an official publication of the infectious diseases. Society of America, Atlanta*, v. 45, n. 2, p. 174-180, 2007.

GUERRINI, A. et al. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: a chemical and functional profile of an ancient health product. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1413-1420, 2009.

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

HAROUN, M. I. et al. Phenolic acids and flavonoids profiles of some Turkish honeydew and floral honeys. **Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 39-45, 2012.

HOLANDA, C. A. et al. Quality and estimative of time-consuming of tiúba honey (*Melipona fasciculata* Smith) produced in cerrado region from Maranhão State, Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 3, p. 53, 2015.

HOLANDA, C. A. et al. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 55-58, 2012.

HOSNY, I. M.; ABDEL EL-GHANI, S.; NADIR, A. S.; Nutrient composition and microbiological quality of three unifloral honeys with emphasis on processing of honey probiotic youghurt. **Global Veterinaria**, v. 3, n. 2, p. 107-112, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. São Paulo, 3 ed., 2008, 1020p.

JONES, L. Organic acids in the rhizosphere—a critical review. **Plant and Soil**, v. 205, n. 1, p. 25-44, 1998.

JULIANO, J. A. F.; CARDOSO, A. M. *Clostridium botulinum* e suas toxinas: Uma reflexão sobre os aspectos relacionados ao botulismo de origem alimentar. **Estudos**, v. 41, n. 3, p. 657-670, 2014.

KHALIL, I. et al. Physicochemical and antioxidant properties of algerian honey. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 11199-11215, 2012.

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

KATEETE, D. P et al. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, v. 23, p. 1-7, 2010.

KERR, W. E. A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 1, n. 3, p. 42-44, 1997.

KLATT, B. K., et al. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. **Proceedings of The Royal Society Biological**, v. 281. n. 1775, p. 2013-2440, 2014.

KLEIN, A. M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KOFFLER, S. et al. Temporal variation in honey production by the stingless bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): long-term management reveals its potential as a commercial species in northeastern Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 858-867, 2015.

KUKITA, K. et al. *Staphylococcus aureus* SasA is responsible for binding to the salivary agglutinin gp340, derived from human saliva. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 6, p. 1870-1879, 2013.

KUROISHI, A. M. et al. Evaluation of honey crystallization from the colour and water activity parameters. **Brazilian Journal Food Technology**. Campinas, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.

LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. Doenças microbianas de origem alimentar provocadas por enteropatógenos. **Revista Ciências Farmacêuticas**, v. 17, p. 77-113, 1996.

LAOS, K.; KIRS, E.; PALL, R.; MARTVERK, K. The crystallization behaviour of Estonian honeys. **Agronomy Research**, v. 9, n. Special Issue II, p. 427-432, 2011.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; RIBEIRO, M. F.; CARVALHO, C. A. L. de. Population structure of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) at the southern limit of its distribution based on geometric morphometrics of forewings. **Sociobiology**, v. 61, p.478-482, 2014.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; CARVALHO, C. A. L. de; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, B. de A.; SILVA, C. S. B. Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke, 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n.4, p. 845-850, 2016.

MAIA, M. U.; JAFFE, R.; CARVALHO, A. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Diagnóstico da meliponicultura no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 4, p. 327-333, 2015.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Ribeirão Preto: ASP, 2004, 111p.

MARLEBO-SOUZA, D. T.; HALAK, A. L. Efeito da interação abelha-flor na produção de frutos em cultura de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Zootecnia Tropical**, v. 31, n. 1, p. 78-93, 2013.

MARTINS, C. F. et al. Espécies arbóreas utilizadas para nidificação or abelhas sem ferrão na Caatinga (Seridó PB; João Câmara, RN). **Biota Neotropica**, v.4, n. 2, p. 1-8. 2004.

MARTINS, A. C. L. RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L. M. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C. D. Espectro polínico de mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 2, p. 183–190, 2011.

MATO, I. S. et al. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 5, p. 1541-1550, 2006.

MEDEIROS, M. I. M. et al. Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* na produção de queijo minas frescal. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 98-105, 2013.

MEIRELES, S.; CANÇADO, I. A. C. Mel: parâmetros de qualidade e suas implicações para a saúde. **Revista Digital FAPAM**, v. 4, n. 4, p. 207-219, 2013.



MELATHOPOULOS, A. P.; TYEDMERS, P.; CUTLER, G. C. Contextualising pollination benefits: Effect of insecticide and fungicide use on fruit set and weight from bee pollination in lowbush blueberry. **Annals of Applied Biology**, v. 165, n. 3, p. 387-394, 2014.

MELO, Z. F. N.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C. Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 5, n.1, p. 89-99, 2003.

MONTE, A. M. et al. Qualidade de méis de abelhas nativas sem ferrão do estado do Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 48-54, 2013.

MOREIRA, R. F. A., et. al. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1236-1241, 2007.

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

MOURA, S. G. et al. Qualidade do mel de *Apis mellifera* L. relacionadas às boas práticas apícola. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 731-739, 2014.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants form residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version, 2013. Disponível no site: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acessado em: 06 de dezembro de 2016.

NASCIMENTO, A. S. et al. Physical-chemical parameters of honey of stingless

bee (Hymenoptera: Apidae). **American Chemical Science Journal**, v. 7, n. 3, p. 139-149, 2015.

NAKANO, H.; KIZAKI, H.; SAKAGUCHI, G. Multiplication of *Clostridium botulinum* in dead honey-bees and bee pupae, a likely source of heavy contamination of honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 247-252, 1994.

NEVAS, M. et al. Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. **Environmental Microbiology**, v. 8, n. 6, p. 1085-1094, 2006.

NOGUEIRA-NETO, P. **Criação racional de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997, 446 p.

NOZAL, M. J. et al. Determination of oxalic acid and other organic acids in honey and in some anatomic structures of bees. **Apidologie**, v. 34, n. 2, p. 181-188, 2003.

ODDO, L. P. et al. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. **Journal of medicinal food**, v. 11, n. 4, p. 789-94, 2008.

OLAITAN, P. B.; ADELEKE, O. E.; OLA, I. O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **African Health Sciences**, v. 7, p. 159-165. 2007.

OLIVEIRA, P. S. et al. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012a.

OLIVEIRA, F. L. et al. Influência das variações climáticas na atividade de voo das abelhas jandairas *Melipona subnitida* Ducke (Meliponinae). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 3, p. 598-603, 2012b.

PELLEGRINI, D. C. P. et al. Distribution of *Salmonella* clonal groups in four Brazilian feed mills. **Food Control**, v. 47, p. 672-678, 2015.

PEREIRA, D. S. et al. Abelhas indígenas criadas no Rio Grande do Norte. **Acta Veterinária Brasilica**. v. 5, n. 1, p. 81-91, 2011.

PEREIRA, J. D. M.; GOBBI, M. M.; SARTOR, C. F. P. Análise físico-química e microbiológica de amostras diferentes de mel comercializadas em Maringá (PR). **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 2, p. 356-369, 2015.

PÉRICO, E.; TIUMAN, T. S.; LAWICH, M. C.; KRUGER, R. L. Avaliação microbiológica e físico-química de méis comercializados no município de Toledo, PR. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 3, p. 365-382, 2011

PIMENTEL, R. B. Q. et al. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manaosensis* and commercial honey. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 151, 2013.

POTTS, S. G. et al. **The assessment report on pollinators, pollination and food production: summary for policymakers**. Germany: IPBES, 2016. 40p.

REGAZANI et al. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 396-399, 2008.

RIBEIRO, R. O. R., et al. Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LH 1H NMR). **Journal of Food Engineering**, v. 135, p. 39-43, 2014.

RIBEIRO, M. H. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; LUZ, C. F. P. Pollen profile of geopropolis samples collected of "Tiúba" *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854) in areas of cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 3, p. 895-912, 2016.

RISSATO et al. Multiresidue determination of pesticides in honey samples by gas chromatography-mass spectrometry and application in environmental contamination. **Food Chemistry**, n.101, p. 1719-1726, 2007.

SANCHO M. T. et al. Nonaromatic organic acids of honeys. In: VIT, P. et al. (Eds.). **Pot-honey: A legacy of stingless bees**. New York, 2013, p. 447-458.

SARAIVA, A. M. et al. Influência das alterações climáticas sobre a distribuição de algumas espécies de *Melipona* no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. (Eds.) **Polinizadores no Brasil: Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: EDUSP, cap 18, 2012, p. 349-359.

SCHERER, R.; RYBKA, A. C. P.; GODOY, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1137-1140, 2008.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S. A. F.; SOUZA, C. F. V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 80-90, 2010.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de la producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988. 202 p.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo, 4 ed, 2010, 624p.

SILVA, T. M. S. et al. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaira (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10-18, 2013a.

SILVA, I. A. A. et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**,

v. 114, n. 1, p. 353–358, 2013b.

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

SILVEIRA, F. A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte, 2002, 253p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. EMBRAPA-SPI/Rio de Janeiro, 1995, 159p.

SNOWDON, J. A; CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. **International of Food Microbiology**. v.31, n. 1, p. 1-26, 1996.

SODRÉ, G. S. et al. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1837-1843, 2011.

SOUSA, J. M. B. et al. Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de abelhas sem ferrão da região do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1765-1774, 2013.

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

SOUZA, B. de A. et al. Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona Illiger*, 1806 (Apidae: Meliponini) da região nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 303-308, 2009.

SUAREZ-LUQUE, S. et al. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 955, n. 2, p. 207-214, 2002.

SUNTIPARAPOP, K., PRAPAIPONG, P., CHANTAWANNAKUL, P. Chemical and biological properties of honey from Thai stingless bee (*Tetragonula leviceps*). **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n.1, p. 45-52, 2012.

TAFIDA, S. Y. et al. Occurrence of *Salmonella* in retail beef and related meat products in Zaria, Nigeria. **Food Control**, v. 32, p. 119-124, 2013.

TCHOUMBOE, J. et al. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, p. 908-913, 2007.

TERRAB, A. et al. Characterization of Spanish thyme honey by their physicochemical characteristics and mineral contents. **Food Chemistry**, v. 88, n. 4, p. 537-542, 2004.

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

TOSI, E. M.; CIAPPINI, M.; RE, E.; LUCERO, H. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 71-74, 2002.

VALSECHI, O. A. **Microbiologia dos alimentos**. Araras: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2006, 49p.

VENTURINI, G. C. et al. **Caracterização de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2 ed., versão atual, 2008. 60p.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V.; **Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações**, ITC Roberto Rios: Barretos, 1984, p. 95.

VIEIRA, P. F. S. P. et al. Valor econômico da polinização por abelhas mamangavas no cultivo do maracujá-amarelo. **Revista de la Red Iberoamericana**

**de Economía Ecológica**, v. 15, p. 43-53, 2010.

VIT, P. *Melipona favosa* pot-honey from Venezuela. In P. VIT et al. (Eds.). **Pot-honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 2013, p. 363-373.

WHITE JR, J. W. Methods for determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural, and proline in honey in honey: collaborative study. **Journal-Association of Official Analytical Chemists**, v. 62, n. 3, p. 515-526, 1979.

YÜCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay egion by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience**, n. 1, p. 16-25, 2013.

**ARTIGO 1****CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MEL DE  
*Melipona subnitida* (HYMENOPTERA: APIDAE)<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico LWT-*Food Science and Technology*, em versão na língua inglesa.



## CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MEL DE *Melipona subnitida* (HYMENOPTERA: APIDAE)

**Resumo:** O presente estudo teve por objetivo caracterizar os méis produzidos pela espécie *M. subnitida*, provenientes do Piauí, Brasil, quanto aos aspectos microbiológicos e físico-químicos. Utilizando 11 amostras de mel, foi avaliado a presença de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, esporos de *Clostridium* sulfito redutor, *Bacillus* spp. e bolores e leveduras. Os parâmetros físico-químicos analisados foram: umidade, pH, acidez livre, hidroximetilfurfural, atividade diastásica, açúcares redutores, sacarose aparente, sólidos solúveis totais, cor, reação de Lugol, compostos fenólicos e flavonóides totais e ácidos carboxílicos. Bactérias mesófilas foram detectadas em 27,27% (3/11), *Bacillus* spp. em 9% (1/11) e bolores e leveduras em 18,18% (2/11) das amostras. Coliformes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e esporos de *Clostridium* sulfito redutor não foram detectados nos méis analisados. Em 72% das amostras avaliadas os parâmetros físico-químicos apresentaram-se em conformidade com a Legislação, observando média de 27,21% (umidade); 3,60 (pH); 30,88 meq Kg<sup>-1</sup> (acidez livre); 6,52 mg Kg<sup>-1</sup> (HMF); 0,05 unidades Gothe (atividade diastásica); 71,99 °Brix (SST); 73,20% (açúcares redutores); 1,83% (sacarose); 238,65 mg EAG Kg<sup>-1</sup> (compostos fenólicos totais); 83,97 mg EQ Kg<sup>-1</sup> (flavonóides totais); predominância da cor âmbar, resultado negativo no teste de Lugol e identificação do ácido ascórbico, acético, cítrico, fumárico, tartárico, succínico e maléico. As amostras de méis de *M. subnitida* apresentaram condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo. Entretanto, os parâmetros físico-químicos avaliados reforçam a necessidade de uma legislação específica, visto as peculiaridades dos méis de abelhas de sem ferrão.

**Palavras-chave:** Abelha jandaíra, compostos fenólicos, ácidos orgânicos.

## PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE HONEY *Melipona subnitida* (HYMENOPTERA: APIDAE)

**Abstract:** The present work aimed to characterize the honeys produced by the *M. subnitida* specie from Piauí, Brazil, regarding microbiological and physicochemical aspects. Using 11 honey samples, was evaluated the presence of mesophilic and psychrophilous aerobic microorganisms, coliforms at 35° C and at 45° C, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus*, *Clostridium* sulphite reducing spores, *Bacillus* spp. and molds and yeasts. The physicochemical parameters analyzed were: moisture, pH, free acidity, hydroxymethylfurfural, diastase activity, reducing sugars, apparent sucrose, total soluble solids, color, Lugol's reaction, phenolic compounds and total flavonoids and carboxylic acids. Mesophilic bacteria were detected in 27.27% (3/11), *Bacillus* spp. in 9% (1/11) and mold and yeast in 18.18% (2/11) of the samples. Coliforms, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus* and *Clostridium* sulfite reducing spores were not detected in the honeys analyzed. In 72% of the samples evaluated the physicochemical parameters were in compliance with the Legislation, observing to an average of 27.21% (moisture); 3.60 (pH); 30.88 meq kg<sup>-1</sup> (free acidity); 6.52 mg Kg<sup>-1</sup> (HMF); 0.05 Gothe units (diastase activity); 71.99 °Brix (SST); 73.20% (reducing sugars); 1.83% (sucrose); 238.65 mg EAG Kg<sup>-1</sup>(total phenolic compounds); 83.97 mg EQ Kg<sup>-1</sup> (total flavonoids); predominance of the amber color, negative result in the Lugol's test and identification of ascorbic, acetic, citric, fumaric, tartaric, succinic and maleic acid. The samples of honeys of *M. subnitida* presented hygienic-sanitary conditions suitable for the consumption. However, the physicochemical parameters evaluated reinforce the need for a specific legislation, considering the peculiarities of stingless bee honeys.

**Keywords:** Jandaíra bee, phenolic compounds, organic acids.

## Introdução

O mel é considerado um dos mais importantes produtos das abelhas sociais sem ferrão (meliponíneos), destacando-se pelo sabor e aroma peculiares, que lhe confere valor comercial elevado (MAIA et al., 2015). Um produto alimentício energético que pode substituir outras fontes de adoçantes na dieta (ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013), além disso estão presentes vitaminas, enzimas, minerais, ácidos orgânicos, compostos fenólicos que influenciam no sabor e cor do mel (SILVA et al., 2013a; CHUTTONG et al., 2016).

Em virtude da sua composição, o mel vem sendo utilizado pela medicina popular como fitoterápico e despertando interesse de indústrias farmacêuticas, por seu valor energético (ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013), propriedade antioxidante e atividade antimicrobiana (SILVA et al., 2016b; SOUSA et al., 2016). Entretanto, está sujeito a contaminação por microrganismos de importância alimentar. A contaminação microbiológica pode ser causada pela microbiota da própria abelha, ou por falhas na higiene do manipulador durante o processamento do produto, podendo causar alterações indesejáveis nas características físico-químicas e sensoriais do mel, além de riscos à saúde dos consumidores, principalmente idosos, crianças e gestantes (BUBA, GIDADO, SHUGABA, 2013; GOOD et al., 2014).

A caracterização físico-química do mel é utilizada para fornecer informações sobre a sua qualidade, detectar adulterações e conhecer a variação na sua composição (BILUCA et al., 2016). A avaliação microbiológica do mel pode fornecer informações a respeito das condições de colheita, armazenamento e distribuição para o consumo, o tempo de prateleira e quanto à presença de microrganismos de importância alimentar (FRANCO, 2008).

Apesar da importância do mel e do conhecimento empírico a ele relacionado, observa-se a escassez de estudos a respeito das características físico-químicas e microbiológicas do mel de meliponíneos, que possam contribuir na definição dos padrões de qualidade para fins de comercialização (HOLANDA et al., 2012).

Dentre a diversidade de espécies de abelhas nativas distribuídas no território brasileiro (KERR, 1997; MARTINS et al., 2004; MARTINS et al., 2011), os meliponíneos, mais especificamente as espécies do Gênero *Melipona*, são

potenciais produtoras de mel no Nordeste brasileiro (CAMARA et al., 2004; CARVALHO et al., 2005; BILUCA et al., 2016). Dentre estas, destaca-se *Melipona subnitida* Ducke, 1910, cujo mel é bastante consumido na sua área de distribuição geográfica (ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013; KOFFLER et al., 2015), embora ainda é pouco estudado em algumas regiões, como no Estado do Piauí. Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo caracterizar os méis produzidos por *M. subnitida*, provenientes de diferentes locais do Estado do Piauí, Brasil, quanto aos aspectos microbiológicos e físico-químicos.

## Material e métodos

Onze amostras de mel (aproximadamente 300 mL cada) de *M. subnitida* foram coletadas nos meses de julho de 2015 e março de 2016, nos municípios de Parnaíba (2° 46' 054" S e 41° 56' 224" W) e Cajueiro da Praia (3° 00' 633" S e 41° 19' 274" W) situados próximos à região litorânea no Estado do Piauí, Brasil. As amostras foram obtidas diretamente de meliponicultores, em quatro meliponários distintos, coletadas de forma asséptica, armazenadas em recipientes plásticos estéreis, transportados em caixa térmica refrigerada e encaminhados para o Núcleo de Estudos dos Insetos - INSECTA, na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no Centro de Ciências, Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), no campus de Cruz das Almas.

## Análises microbiológicas

A qualidade microbiológica das amostras de mel foi obtida a partir da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras, utilizando metodologia do Bacteriological Analytical Manual – BAM, descrita por Silva et al. (2010), *Bacillus* spp., descrito por Amarante et al. (2015) e esporos de *Clostridium* sulfito redutor, conforme metodologia da ISO:15213 (2003).

### Preparo das amostras

Para a contagem dos microrganismos foi pesado 25 g de mel, posterior-

mente homogeneizando em 225 mL de água peptonada a 0,1% correspondendo à diluição  $10^{-1}$ , a partir desta foi realizada diluições decimais até  $10^{-3}$  em tubos com 9 mL de água peptonada a 0,1%. Para contagem de colônias típicas foram selecionadas placas contendo entre 10 e 100 unidades formadoras de colônia por grama de mel (UFC  $g^{-1}$ ).

#### Contagem de microrganismos mesófilos

A contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada a partir da adição da alíquota de 1 mL de cada diluição decimal em placas de Petri estéreis, vertido o meio Agar Padrão para Contagem (PCA) e incubadas a  $35^{\circ} C \pm 2/ 48h$ . Os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônias por grama de mel (UFC  $g^{-1}$ ).

#### Contagem de coliformes a $35^{\circ} C$ a $45^{\circ} C$

A quantificação de coliformes a  $35^{\circ} C$  e a  $45^{\circ} C$  foi realizada a partir do teste presuntivo, com inoculação de 1 mL de cada diluição em 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em série de três tubos, contendo tubos de *Durham* invertidos e incubados a  $35^{\circ} C \pm 2/ 48h$ . A positividade do teste foi verificada pela turvação do meio e a presença de gás nos tubos de *Durham*.

A partir dos tubos positivos em caldo LST, uma alçada foi transferida para os meios seletivos Caldo Bile Verde Brilhante (CVBV) para coliformes a  $35^{\circ} C$  ( $35^{\circ} C \pm 2/ 48h$ ) e Caldo *Escherichia coli* (EC) para coliformes a  $45^{\circ} C$  ( $45^{\circ} C \pm 2/ 24 h$ ). Os resultados foram expressos a partir da combinação de tubos positivos utilizando a Tabela de Hoskins e determinado os valores em Número Mais Provável (NMP) por grama da amostra.

#### Detecção de *Salmonella* spp.

A detecção de *Salmonella* spp. nas amostras de mel foi realizada a partir do pré-enriquecimento, para o qual foi pesado assepticamente 25g de mel, adicionado a 225 mL de água peptonada tamponada (APT) e incubado a  $35^{\circ} C \pm 2$  por 24 horas. Após esse período, uma alíquota de 1mL foi transferida para o

meio seletivo caldo Tetrionato (TT) e 0,1mL para o caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), com respectiva incubação a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$  em estufa bacteriológica e a  $42^{\circ}\text{C}$  em banho maria durante 24 horas. Em seguida, a partir de cada tubo foi semeado um inóculo em placas contendo agar MacConkey (colônias de coloração transparente), Agar *Salmonella Shigella* (colônias de cor transparente ou com centro negro) e Agar Verde Brilhante (colônias de cor avermelhada) para o isolamento da bactéria.

As colônias com características típicas de *Salmonella* foram submetidas à triagem bioquímica através dos testes Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Agar Lisina Ferro (LIA), Agar Citrato de Simmons, caldo uréia, caldo malonato e indol.

#### Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva

A determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada a partir da semeadura de uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição na superfície do meio agar Baird Parker em placas de Petri com o auxílio da alça de *Drigalski*. As placas foram incubadas  $35^{\circ}\text{C} \pm 2/ 48\text{h}$ . As colônias que apresentaram características típicas (centro negro e halo transparente) foram transferidas para caldo BHI e incubadas em estufa por  $35^{\circ}\text{C} \pm 2/ 24\text{h}$ , na sequência foram submetidas às provas bioquímicas de coagulase e catalase.

#### Contagem de *Bacillus* spp.

Tubos com as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  da amostra foram mantidos em banho maria ( $70^{\circ}\text{C}/ 1\text{h}$ ). Posteriormente, foi realizado a semeadura de uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição na superfície do meio de cultura agar nutriente acrescido de 1,5% de NaCl e incubados em estufa a  $30^{\circ}\text{C} \pm 2/ 48\text{h}$ . As colônias características foram repicadas e isoladas em agar triptona de soja (TSA), sendo observado a morfologia das culturas e confirmada por microscopia utilizando a técnica de coloração de Gram e coloração de esporo.

#### Contagem de esporos *Clostridium* sulfito redutor

As diluições decimais ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) foram mantidas em banho maria a  $80^{\circ}\text{C}/$

10 minutos. Na sequência, uma alíquota de Agar *Clostridium* sulfito redutor foi vertido em placas de Petri estéreis e transferido alíquotas de 1 mL, 0,1 mL e 0,01mL das diluições, sendo espalhadas com a alça de *Drigalski* e vertido uma segunda camada de agar *Clostridium* sulfito redutor. As placas foram vedadas com parafilm e incubadas a  $35^{\circ} \text{C} \pm 2/ 48\text{h}$ .

#### Contagem de bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras foi adicionado 0,1 mL das diluições em placas de Petri contendo agar DG18 e incubadas a  $25^{\circ} \text{C} \pm 2$  por 5 dias. A contagem foi expressa em unidades formadoras de colônias por grama de mel ( $\text{UFC g}^{-1}$ ) (ISO, 2006).

#### Análises físico-químicas

A caracterização físico-química dos méis foi realizada a partir da determinação dos parâmetros: umidade, açúcares redutores e sacarose aparente, sólidos solúveis totais, acidez livre e pH, hidroximetilfurfural (HMF), atividade diastásica, reação de Lugol e cor, além da determinação dos compostos fenólicos totais, flavonóides totais e ácidos carboxílicos. As análises foram realizadas em triplicatas.

#### Umidade

A umidade dos méis foi registrada a partir de leitura direta da amostra em refratômetro digital portátil (modelo Atago PAL-22S), sob temperatura ambiente e expressa em percentagem (%) (ATAGO Co, 1988).

#### Açúcares redutores e sacarose aparente

Os açúcares redutores e a sacarose aparente foram determinados conforme o método descrito por Lane; Eyon (1934), com modificações de Marchini et al. (2004). Para isso, 2,5 g da amostra de mel foi diluída em 50 mL de água destilada, desta solução foi retirado 10 mL e diluída em 200 mL de água destilada, a solução

foi posteriormente titulada em 10 mL do licor de Fehling. A determinação do açúcar redutor envolveu a redução da solução de Fehling (cobre alcalino) com uma solução de açúcares redutores do mel. Para a determinação da sacarose 10 mL da solução inicial (2,5g de mel/ 50 mL água destilada) foi transferida para um balão volumétrico de 200 mL contendo 20 mL de ácido clorídrico (0,75 M) e colocado em banho maria a 65° C/ 30 min.. Na sequência a amostra foi neutralizada com hidróxido de sódio (0,75 M) e o volume do balão completado com água destilada. A amostra neutralizada foi submetida à titulação em erlenmeyer contendo 10 mL do licor de Fehling.

#### Acidez livre e pH

A acidez livre foi quantificada com titulação da amostra de mel com hidróxido de sódio a 0,1 mol L<sup>-1</sup>, utilizando o indicador fenolftaleína a 1% até obtenção da cor rosa por 10 segundos. Os resultados foram expressos em miliequivalentes e obtidos por meio da equação:

$$\text{Acidez} = V_{(\text{NaOH})} \times P_A;$$

$$V_{(\text{NaOH})} = \text{volume gasto de NaOH (mL)};$$

$$P_A = \text{peso da amostra (g)}.$$

O pH foi determinado com base na A.O.A.C (1990), utilizando-se potenciômetro digital em uma solução preparada com 10 g de amostra de mel diluída em 75 mL de água destilada.

#### Hidroximetilfurfural

O hidroximetilfurfural foi determinado conforme o método A.O.A.C (1990) baseado na leitura da absorvância em espectrofotômetro (WPA). Uma alíquota de 5 g de mel foi dissolvida em 25 mL de água destilada e adicionado às soluções Carrez I (0,5 mL) e Carrez II (0,5 mL), a solução foi filtrada e descartada os primeiros 10 mL. A partir do filtrado foi lido a absorvância em 284 e 336 nm tendo como branco uma alíquota da solução filtrada com bissulfito de sódio 0,2%.



O HMF foi determinado por meio da equação:  $\text{HMF}/100 \text{ g de mel} = (\text{Abs}_{284} - \text{Abs}_{336}) \times 14,97 \times 5\text{g}$  da amostra. Os resultados foram obtidos em miligrama da substância por quilo de mel ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ).

#### Atividade diastásica

Avaliou-se a atividade diastásica por espectrofotometria conforme método da A.O.A.C (2005), utilizando uma solução tamponada de amido e mel, mantida em banho maria a  $40^\circ \text{C}$  até obter uma absorvância inferior a 0,235 em comprimento de onda de 660 nm. O índice de diastase foi calculado usando o tempo necessário para que a absorvância alcançasse a leitura de 0,235 nm e expresso em graus *Göthe* como a quantidade (mL) de 1% de amido hidrolisado por enzima, 1g de mel em uma 1 hora.

#### Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais foram determinados de acordo com a A.O.A.C (2005), baseando-se na leitura da amostra de mel em refratômetro, modelo Abbe, à temperatura ambiente, expressos em  $^\circ\text{Brix}$ .

#### Reação de Lugol

A reação com solução de Lugol é utilizada para pesquisar a presença de amido e dextrinas no mel, cujo princípio é baseado na reação de iodo com iodeto de potássio na presença de glicose, resultando numa solução de coloração vermelho-violeta a azul (IAL, 2008).

#### Cor

A classificação da cor dos méis foi realizada por leitura direta em espectrofotômetro (WPA) no comprimento de 560 nm, utilizando a glicerina como branco e convertida por meio da escala de Pfund (VIDAL, FREGOSI, 1984).

#### Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado por espectrofotometria, utilizando o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton, Orthofer, Lamuela-Raventos (1999). Alíquotas de 0,5 mL de solução de mel (100 mg L<sup>-1</sup>, preparada com água destilada) foi transferida para tubos de ensaio, adicionando 2,5 mL de solução Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de carbonato de sódio (75 g L<sup>-1</sup>). A mistura foi agitada e deixada em repouso por 30 min a 40°C, posteriormente a absorvância foi avaliada no comprimento de onda de 760 nm. Para obter o conteúdo de compostos fenólicos totais foi definida a curva de calibração utilizando o ácido gálico como padrão com concentrações variando de 10 a 80 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por quilo de amostra de mel (mg EAG Kg<sup>-1</sup>).

#### Determinação de flavonóides totais

O conteúdo de flavonóides totais foi determinado por espectrofotometria, conforme o método colorimétrico com cloreto de alumínio (WOISKY, SALATINO, 1998). Foi preparada uma solução de mel com água destilada, da qual uma alíquota de 0,5 mL (1:10) foi transferida para tubo de ensaio (triplicata), adicionando 2 mL de água destilada e 0,15 mL de nitrito de sódio (5%). Após seis minutos foi adicionado 0,15 mL de cloreto de alumínio (10%), deixando em repouso por seis minutos, na sequência foi adicionado 2 mL da solução de hidróxido de sódio (4%) e água destilada até o volume final de 5 mL. A leitura da solução foi realizada em espectrofotômetro (WPA) a 510 nm de absorvância.

Para construção da curva de calibração foi utilizado a quercetina como padrão. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de quercetina por quilo de amostra de mel (mg EQ Kg<sup>-1</sup>).

## Determinação de ácidos carboxílicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

### Preparo de soluções dos padrões e amostras de mel

A determinação e quantificação dos ácidos carboxílicos foram efetuadas conforme descrito por Santos, Santos, Azevedo (2014). Para isso, foram utilizados os padrões ácidos ascórbico, tartárico, acético, succínico, maléico, fumárico e cítrico (Synth®, Vertec®, Merck®) com grau de pureza até 99%. A partir dos quais foram preparadas respectivas soluções para análises cromatográficas, individualmente e, posteriormente, avaliadas em misturas (solução estoque), com concentrações entre 10 e 60 mg L<sup>-1</sup>, variando de acordo com o padrão. A partir da diluição seriada da solução estoque, foram preparadas soluções referências, correspondendo a nove pontos para obtenção das curvas analíticas de calibração.

As soluções dos méis foram preparadas a uma proporção de 1:5 (mel: água), posteriormente filtradas com filtros de seringa-membrana PES, modelo K18-230 ® e analisadas no sistema cromatográfico.

### Condições cromatográficas

A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo Agilent 1260 Infinity, acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD), com uma coluna de fase reversa C18 (150 mm x 4,6 mm, 5µm) a 30° C. A fase móvel foi composta por uma solução de metanol e água Mili-Q (5:95, v/ v), com pH ajustado para 2,1 utilizando ácido clorídrico, eluição isocrática a 1 mL min<sup>-1</sup>, durante 10 min. e volume de injeção de 20 µL. As injeções das amostras e padrões foram realizadas em triplicata e os cromatogramas obtidos foram registrados por meio do Software Open Lab. O monitoramento dos perfis cromatográficos foi realizado a 215 nm.

A identificação dos ácidos carboxílicos foi realizada a partir da comparação entre o tempo de retenção das amostras e dos padrões avaliados. As concentrações de ácidos nos méis foram obtidas a partir das curvas de calibração padrão e expressas em mg kg<sup>-1</sup> de ácido (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tempo de retenção dos ácidos carboxílicos analisados com média, desvio padrão de três determinações e equação da reta.

Ácido carboxílico	Tempo de retenção	Equação da reta
Ácido ascórbico	2,36 ± 0,001	$y = 161,63x - 24,191$
Ácido tartárico	1,96 ± 0,002	$y = 18,22x - 22,717$
Ácido acético	2,95 ± 0,001	$y = 0,3422x + 9,1192$
Ácido maléico	3,15 ± 0,003	$y = 1318,3x - 129,77$
Ácido fumárico	4,43 ± 0,004	$y = 1055,4x - 79,395$
Ácido cítrico	3,64 ± 0,004	$y = 5,789x + 11,462$
Ácido succínico	4,16 ± 0,002	$y = 703,23x + 1,1807$

### Análises estatísticas

O tratamento estatístico foi realizado aplicando-se a análise descritiva para os resultados das características físico-químicas. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para verificar possíveis associações entre variáveis quantitativas estudadas, para o valor  $p$  menor que 0,05, as diferenças encontradas foram consideradas significativas. Todas as análises estatísticas foram realizadas no Software Statistica (DELL INC., 2016).

## Resultados e discussão

### Análise microbiológica

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos das análises microbiológicas, onde pode-se verificar que as amostras de méis de *M. subnitida* analisadas apresentaram-se aptas ao consumo, visto estarem em conformidade com a portaria estadual da ADAB (2014), indicando assim que a coleta, beneficiamento e armazenamento foram realizadas em condições higiênicas-sanitárias satisfatórias. A Resolução nº 12 da ANVISA que estabelece parâmetros de qualidade para alimentos, não determina padrões de qualidade para o mel, entretanto, em alguns casos, este é comparando a alimentos com características semelhantes (geleia de frutas) que neste caso também qualificaria as amostras

como adequadas ao consumo (BRASIL, 2001). Além disso, o efeito antimicrobiano do mel, conferido por suas propriedades físico-químicas o torna desfavorável ao crescimento de alguns microrganismos (DÁRDON, ENRIQUEZ, 2008).

Bactérias mesófilas foram detectadas em 27,27% das amostras de mel, com contagem entre  $1,5 \times 10^2$  e  $7,1 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup>. A Legislação Brasileira não determina parâmetros para estes microrganismos, entretanto, sua contagem fornece uma estimativa da contaminação microbiana total. Além disso, os mesófilos tem sido utilizados como indicadores de qualidade higiênica dos alimentos e, quando presentes em grande número, indica falhas durante a produção (CARDOSO et al., 2010), sendo que para estes microrganismos a contagem limite é de até  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup> (FRANCO, LANDGRAF, 2006). Gomes et al. (2010) detectaram contaminação por mesófilos aeróbios em 20% das amostras de mel avaliadas, com contagem igual a  $2 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup>.

Coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e esporos de *Clostridium* sulfito redutor não foram detectados nas amostras de mel, estando em conformidade com a legislação. Esses microrganismos são indicadores de deficiências na higiene durante a manipulação, embalagem e armazenamento do produto (SILVA et al., 2010), por isso são importantes na avaliação da qualidade do mel.

Resultados semelhantes foram encontrados por Schlabit, Silva, Sousa (2010) avaliando amostras de mel da região do Vale do Taquari/ RS e Gomes et al. (2010) caracterizando amostras de mel de Portugal.

Matos et al. (2011) observaram a presença de coliformes a 35° C e a 45° C em 33,33% das amostras de mel de *Melipona* spp. no Estado do Amazonas, sendo constatado maior quantificação nos méis coletados durante o período de escassez de flores. Os autores sugeriram que além da época, outro fator que influencia na qualidade microbiológica do mel é a higiene das áreas de vôo e forrageio das abelhas.

*Bacillus* spp. foi detectado em 9% das amostras, com contagem igual a  $1,6 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup>, correspondendo a uma amostra, na qual foi observado o maior valor de pH (4,11) e menor acidez (17,17 meq Kg<sup>-1</sup>), dentre os diferentes méis analisados (Anexo-1), cujas características podem ter influenciado no

desenvolvimento destes microrganismos, que por sua vez ocorre em meios com baixa acidez (SILVA et al., 2010).

A contagem de *Bacillus* spp., não é um parâmetro determinado pela normativa brasileira (ADAB, 2014). Sua presença no mel está relacionada ao hábito de alimentação das abelhas e à coleta de material como argila e excrementos de animais para a manutenção da estrutura do ninho (SILVA et al., 2016b). Densidade superior para este Gênero (200 a 260 UFC g<sup>-1</sup>) foi detectada por Silva et al. (2016b) nos méis de *Melipona* spp., dos quais obtiveram alguns isolados de bacilos que apresentaram potencial antagonista a outras bactérias patogênicas, inclusive as que são comumente pesquisadas no mel, como *Staphylococcus aureus*.

Bolores e leveduras foram detectados em 18,18% das amostras (Tabela 2), entretanto estiveram abaixo do limite estabelecido pela legislação (10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>) (ADAB, 2014) variando entre 1,1 x 10<sup>2</sup> e 2,0 x 10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup>. Comparando com estudos anteriores, os resultados relatados foram superiores à contagem observada por Monte et al. (2013) nas amostras de mel de *M. subnitida* no Estado do Piauí (1,77 Log UFC g<sup>-1</sup>). Caracterizando méis de *Melipona* spp., coletados em diferentes períodos no Amazonas, Matos et al. (2011) observaram contaminação por bolores em 80% das amostras, com contagem média de 2,8 x 10<sup>2</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, enquanto as leveduras ocorreram em todas as amostras, apresentando média igual a 62,2 x 10<sup>2</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

A presença de bolores em amostras de mel é preocupante, principalmente devido a presença de espécie produtora de micotoxinas (BAPTISTA, VENÂNCIO, 2003). Além disso, a detecção desses microrganismos no mel pode ter relação com alguns gêneros envolvidos na produção de ácidos carboxílicos, como o ácido acético (VALSECHI, 2006). O ácido acético, dentre os ácidos carboxílicos encontrados no mel, pode atuar como uma barreira no desenvolvimento de microrganismos patogênicos (POPPI et al., 2015). Isso evidencia que além dos fatores externos ao mel que influenciam na sua composição, alguns microrganismos presentes podem atuar na alteração das suas propriedades físico-químicas, conseqüentemente nas características microbiológicas.

**Tabela 2.** Contagem padrão de mesófilos (UFC g<sup>-1</sup>), número mais provável de coliformes a 35 °C e a 45 °C (NMP g<sup>-1</sup>), *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC g<sup>-1</sup>), bolores e leveduras (UFC g<sup>-1</sup>), esporos de *Clostridium* sulfito redutor, *Bacillus* spp. (UFC g<sup>-1</sup>) determinados em amostras de mel de *Melipona subnitida* do Piauí, Brasil, além dos limites estabelecidos pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB, 2014).

Amostras	Mesófilos	Coliformes		<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> coagulase Positiva	Bolores e Leveduras	<i>Clostridium sulfito</i>	<i>Bacillus</i> spp.
		35° C	45° C					
1	1,5 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
2	7,1 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
3	2,3 x 10 <sup>4</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
4	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
5	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
6	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	1,6 x 10 <sup>2</sup>
7	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	2,0 x 10 <sup>3</sup>	Ausente	<10
8	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	1,1 x 10 <sup>2</sup>	Ausente	<10
9	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
10	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
11	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
<b>(ADAB, 2014)</b>	-	-	Max.100	Ausente	-	Max. 10 <sup>4</sup>	-	-

(-): Não preconizado; Max.: máximo.

## Análises físico-químicas

As variações médias obtidas das análises físico-químicas dos méis de *M. subnitida* estão representados na Tabela 3. Setenta e dois percento das amostras analisadas atenderam aos pré-requisitos determinados pela portaria da ADAB (2014) (Anexo-1). Em virtude do pouco conhecimento acerca do mel de abelhas sem ferrão (SILVA et al., 2013a), o mesmo não está incluso na legislação brasileira e internacional para o mel (BRASIL, 2000; CODEX, 2001). Isso reforça a necessidade da caracterização de méis produzidos por abelhas sem ferrão para definir padrões específicos de qualidade, visto a diversidade de espécies de meliponíneos com peculiaridades no comportamento e preferências, que conferem características distintas ao produto (CARVALHO et al., 2013).

**Tabela 3.** Análise descritiva dos parâmetros físico-químicos referentes às amostras de mel de *Melipona subnitida* produzidas no Piauí, Brasil e os padrões estabelecidos pela Legislação da ADAB (2014) para o mel de *Melipona* da Bahia.

Parâmetros	Variação	Média ± desvio padrão	ADAB, 2014
Umidade (%)	25,63 - 28,97	27,21 ± 0,82	20-35
pH	3,14 - 4,11	3,60 ± 0,32	-
Acidez (meq Kg <sup>-1</sup> )	17,17 - 65,67	30,88 ± 13,22	Max. 50
Hidroximetilfufural (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,55 - 18,78	6,52 ± 6,38	Max. 10
Atividade diastásica (Gothe)	0,03 - 0,10	0,05 ± 0,02	Max 3
Açúcar redutor (%)	68,41 - 79,38	73,20 ± 3,25	Min.60
Sacarose aparente (%)	0,65 - 3,44	1,83 ± 1,10	Max. 6
Cor	0,11 - 0,89	0.37 ± 0.25	QI – PE
SST (°Brix)	67,20 - 78,80	71,99 ± 3,62	-
Reação de Lugol	Negativo	-	-
FENT (mg GAE Kg <sup>-1</sup> )	144,53 - 498,01	238,65 ± 95,86	-
FLAT (mgQE Kg <sup>-1</sup> )	53,33 - 123,70	83,97 ± 22,60	-

SST: sólidos solúveis totais; FENT: fenóis totais; FLAT: flavonóides totais; QI: quase incolor; PE: pardo escuro; Max.: máximo; Min.: mínimo; (-): não preconizado pela legislação.

Os resultados observados neste estudo estão de acordo com o encontrado em outras caracterizações do mel de *Melipona* spp. (SOUZA et al., 2006; SOUZA



et al., 2009), relacionadas à espécie *M. asilvai* (SOUZA et al., 2004), *M. mandacaia* (ALVES et al., 2005), *M. scutellaris* (CARVALHO et al., 2009), *M. quadrifasciata* e *M. bicolor* (BILUCA et al., 2016).

#### Umidade

O nível de umidade das amostras variou entre 25,63% e 28,97% (Tabela 3). É fundamental a determinação deste parâmetro pois o seu conhecimento pode contribuir para melhorar as condições de coleta e armazenamento do mel, uma vez que influencia em algumas características como cristalização, viscosidade, maturidade e sabor (BILUCA et al., 2016) e também no desenvolvimento de microrganismos. Valores acima de 20% são considerados favoráveis à fermentação pela ação de leveduras (BRASIL, 2000).

Resultados semelhantes foram descritos por Sousa et al. (2016) (23,9 a 28,9%) ao caracterizarem méis produzidos por abelha sem ferrão de alguns estados do Nordeste brasileiro, além disso os autores sugeriram a existência de uma relação intrínseca dessa característica com a espécie entomológica, visto as especificidades no comportamento e preferências florais.

A variação do conteúdo de água no mel tem sido relacionada à origem botânica por influenciar na composição do néctar, à época de coleta e processamento, em virtude das mudanças climáticas (SILVANO et al., 2014). Esta observação foi constatada por diferentes autores na avaliação de méis (22,30% a 28,9%) produzidos pelas espécies *M. subnitida* e *M. scutellaris*, coletadas em diferentes períodos e locais da região Nordeste do Brasil (SOUZA et al., 2006; SILVA et al., 2013a; SOUSA et al., 2013).

#### Acidez livre e pH

Os méis apresentaram valores de acidez livre entre 17,17 a 65,67 meq Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3), estando em conformidade com a Portaria da ADAB (máximo de 50 meq Kg<sup>-1</sup>) (MATO et al., 2006; ADAB, 2014). Esse parâmetro pode estar associado à presença de ácidos orgânicos no mel e apresenta relação com a origem botânica e a espécie de abelha (CAVIA et al., 2007; SOUSA et al., 2016).

O pH dos méis variou entre 3,14 a 4,11. Esse parâmetro não é preconizado pela legislação vigente, mas é utilizado na caracterização de méis por ser uma das condições que influenciam no desenvolvimento microbiano (SOUZA et al., 2009). Além disso, é importante para indicar as condições de armazenamento do mel, pois influencia na sua textura, estabilidade e tempo de prateleira (GOMES et al., 2011). Intervalo superior (3,1 a 5,3) foi constatado por SOUSA et al. (2016) nos méis de *M. subnitida*.

#### Hidroximetilfurfural (HMF)

A concentração de HMF nas amostras variou de 0,55 a 18,78 mg Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3), cuja quantidade é considerada baixa, de modo geral, estando adequado ao consumo humano, desde que o mel seja armazenado na ausência do calor até o seu consumo. Esse parâmetro é utilizado como indicativo da frescura do mel, visto que pode estar ausente ou em baixas concentrações em méis recém coletados, no entanto, tende a aumentar durante o processamento e/ou envelhecimento do produto (BILUCA et al., 2014). A ausência ou baixas concentrações de HMF representam uma característica inerente aos meliponíneos, principalmente ao Gênero *Melipona* (HOLANDA et al., 2015), assim como observado no presente estudo.

Em um estudo realizado por Costa, Madruga (2016) não foi detectado HMF em méis de *M. subnitida* da Paraíba e Rio Grande do Norte. Por outro lado, os resultados do presente estudo são próximos aos observados para diferentes espécies de abelhas sem ferrão no Nordeste brasileiro (0,4 a 78, 5 mg Kg<sup>-1</sup>) (SOUZA et al., 2004; ANACLETO et al., 2009; SOUZA et al., 2009; SILVA et al., 2013b). Silva et al. (2013a) observaram concentrações entre 10,80 a 15,76 mg Kg<sup>-1</sup>, esses autores relacionaram a concentração de HMF ao clima da região de produção, visto que regiões tropicais apresentam temperaturas elevadas, favoráveis à formação da substância.

Segundo Souza et al. (2009), outros fatores tais como pH, acidez e quantidade de água no mel podem influenciar na formação de HMF, além das condições de armazenamento.

Estudos recentes não observaram quantidade crescente de HMF no mel de abelhas do Gênero *Melipona* durante o período de armazenamento e sob

temperaturas elevadas, para os quais os autores relacionaram ao elevado teor de umidade do mel que poderia retardar a formação desse composto (BILUCA et al., 2014).

#### Atividade diastásica

Os méis avaliados apresentaram baixas concentrações de atividade diastásica (0,03 a 0,10 unidades Gothe) (Tabela 3). A ausência ou baixa concentração de diastase é considerada uma característica das abelhas do Gênero *Melipona*, demonstrando que a presença dessa enzima no mel é influenciada pela espécie de abelha (CHUTTONG et al., 2016).

Resultados superiores foram relatados em amostras de mel recém coletadas de *Melipona scutellaris* e *M. quadrifasciata* (1,34 a 3,01 unidades Gothe) produzidos no Nordeste do Brasil (CARVALHO et al., 2009); média de 1,60 em méis de meliponíneos provenientes do Equador (GUERRINI et al., 2009) e variação de 0,6 a 2,18 unidades nas amostras de *M. fasciculata* do Maranhão (HOLANDA et al., 2012; HOLANDA et al., 2015). Tais resultados foram considerados pelos autores como uma condição natural dos méis analisados. Além disso, foram relatados casos em que a atividade diastásica não foi detectada como observado por Souza et al. (2009) nos méis de *Melipona* spp..

#### Açúcares redutores e sacarose aparente

Os açúcares redutores nos méis avaliados apresentaram variação de 68,41% a 79,38% (Tabela 3), estando de acordo com a normativa estadual da Bahia para méis de abelha sem ferrão que estabelece o valor mínimo de 50%(ADAB, 2014). Esses açúcares influenciam nas características físico-químicas e sensoriais do mel. A predominância da frutose em relação à glicose, confere ao mel das abelhas sem ferrão, maior doçura e viscosidade, inibindo a cristalização, devido a sua solubilidade em água (ALVES et al., 2005).

Pesquisa realizada por Biluca et al. (2014) revelou uma variação significativa da concentração de açúcares redutores entre treze amostras de mel de diferentes espécies de meliponas no Sudeste brasileiro (48,59% a 69,36%) a qual foi justificada pela variabilidade de clima, floração e espécie de abelha.

Os valores obtidos para a sacarose aparente variaram de 0,65% a 3,44% (Tabela 3) estando em conformidade com a legislação. A sacarose é utilizada como indicativo da maturidade e possível adulteração do mel (CHUTTONG et al., 2016). Conteúdo acima de 6%, representa uma coleta precoce do produto, antes de finalizar o processo de hidrólise da sacarose ou mel adulterado com xarope de açúcar invertido (CARVALHO et al., 2005).

Resultados reportados na literatura demonstram a variação da concentração de açúcares redutores e sacarose aparente para o mel de *Melipona* spp.: Souza et al. (2009) verificaram intervalo de 61,7 a 75,5% para açúcares redutores e 1,8 a 3,3% para sacarose aparente, em grupos de méis produzidos por diferentes espécies, incluindo a *M. asilvai* e *M. mandacaia*; Sousa et al. (2013) descreveram intervalo médio de 42,2 a 52,7% de açúcares redutores e 3,7 a 10,2% de sacarose aparente, em amostras de mel produzidas por cinco espécies do Gênero *Melipona*. No mesmo estudo, o mel da espécie *M. subnitida* obteve média de 42,2% e 10,2% para açúcares redutores e sacarose aparente, respectivamente.

## Cor

A cor do mel é o principal atributo sensorial que atrai a atenção do consumidor, influenciando na aceitação, preferência e intenção de compra do produto (CARVALHO et al., 2009; SOUSA et al., 2016). Os méis de *M. subnitida* apresentaram a cor variando do branco ao âmbar, cujo parâmetro pode estar relacionado à origem botânica (GUERRINI et al. 2009), pH, flora diversificada, bem como a concentração de compostos fenólicos (OLIVEIRA et al., 2012). Além disso, essa característica pode ser afetada por outros fatores, tais como a reação de Maillard, a partir da qual forma-se o hidroximetilfurfural e promove o escurecimento, a concentração de açúcares, devido a sua relação com a formação desse composto, a exposição à luz e o tempo de armazenamento do produto (SILVA et al., 2016a).

Estudos realizados em diferentes locais, obtiveram resultados distintos: Sousa et al. (2016) descreveram variação significativa na intensidade da cor (extra âmbar claro ao âmbar) de grupos de méis produzidos por *M. scutellaris* e *M. subnitida* do semiárido brasileiro, enquanto Moo-Hucin et al. (2015) avaliando

méis de *M. becheei* da América Central, observaram variação do branco ao âmbar escuro, cuja característica, segundo os autores, pode ser influenciada pela presença de pólen, origem geográfica, práticas de coleta e armazenamento.

#### Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais das amostras variaram de 67,20 °Brix a 78,80 °Brix (Tabela 3). Os valores de °Brix tem relação direta com o conteúdo de açúcares no mel, sendo utilizado como um importante indicador de possíveis adulterações (ex.: adição de açúcar comercial com fins fraudulentos) (GUERRINI et al., 2009).

No mel de abelhas sem ferrão, os níveis de sólidos solúveis são geralmente menores que no mel produzido por *Apis mellífera* (75,00 °Brix) em virtude do teor elevado de umidade e menor porcentagem de açúcares totais (GUERRINI et al., 2009, HABIB et al., 2014).

Os resultados detectados nesse estudo se assemelham aos encontrados em trabalhos anteriores, nos méis produzidos pelas abelhas *M. subnitida* e *M. scutellaris* nos estados do Rio Grande do Norte e da Paraíba, Brasil (intervalo de 71,1 a 74,7 °Brix) (SOUSA et al., 2016) e para méis de uruçú provenientes da Paraíba com média de 72,00 °Brix (CAMPOS, GOIS, CARNEIRO, 2010), por outro lado, maior que o intervalo (57,5 a 75 °Brix) observado nos méis de abelhas sem ferrão em países sul-americanos (SOUZA et al., 2006).

#### Reação de Lugol

Todas as amostras de mel foram negativas para a reação de Lugol, demonstrando a autenticidade dos méis avaliados e corroborando com os resultados obtidos para HMF, açúcar redutor, sacarose e atividade diastásica. Conforme a Portaria da ADAB (2014) os méis de meliponíneos não são caracterizados quanto a este parâmetro.

Resultados semelhantes foram relatados por Almeida - Muradian et al. (2013) avaliando méis de *Melipona subnitida* do Nordeste, Cruz et al. (2014) avaliando amostras (10) provenientes do Sul e Perico et al. (2012) ao caracterizarem amostras de mel (30) obtidas de estabelecimentos comerciais do norte do Brasil.

## Compostos fenólicos totais e flavonóides totais

O teor de compostos fenólicos e flavonóides totais variaram de 144,53 a 498,01 mg EAG Kg<sup>-1</sup> e 53,33 a 123,70 mg EQ Kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 3). O menor conteúdo de compostos fenólicos totais (184,09 mg EQ Kg<sup>-1</sup>) foi constatado na amostra de mel com a coloração mais clara (branco), enquanto algumas amostras com maior concentração destes, apresentaram cores tendendo ao mais escuro (Anexo-1), indicando assim, uma provável influência destas substâncias na intensidade da cor do mel. A variação observada nestas características pode estar relacionada à origem botânica e geográfica dos méis, visto que foram coletados em diferentes meliponários, situados em municípios distintos do Piauí.

Outros estudos demonstraram correlação entre os compostos fenólicos totais do mel com atividades biológicas, tais como antibacteriana e antioxidante, além de influenciar na variação da cor do produto (SUNTIPARAPOP, PRAPAIPONG, CHANTAWANNAKUL, 2012; OLIVEIRA et al., 2012a; SOUSA et al., 2016).

Gutierrez et al. (2008) constataram diferenças nos teores de compostos fenólicos e flavonóides totais entre méis de duas espécies de abelhas, *Melipona beecheii* (1.073,5 mg EAG Kg<sup>-1</sup> e 360,0 mg EQ Kg<sup>-1</sup>) e *Melipona solani* (686,0 mg EAG Kg<sup>-1</sup> e 188 EQ mg Kg<sup>-1</sup>), apresentando relação com a intensidade da cor e com a atividade antioxidante.

Valores superiores de compostos fenólicos totais foram observados nos méis de *M. seminigra merrillae* (170 a 660 mg EAG Kg<sup>-1</sup>), os quais variaram com a origem do néctar (SOUSA et al., 2016) e nas amostras de mel produzidas por *M. subnitida* (intervalo entre 802 a 1.160 mg EAG Kg<sup>-1</sup>), nas quais foi verificado similaridade na composição quando provenientes de mesma localização geográfica (SILVA et al., 2013a).

## Ácidos carboxílicos

Do total de onze amostras avaliadas, apenas 9,09% apresentaram um perfil composto por todos os ácidos avaliados: ácido ascórbico, acético, tartárico, succínico, maléico, fumárico e cítrico (Tabela 4). Dentre estes, os ácidos acético e

ascórbico apresentaram destaque, sendo detectados em 90,9% das amostras, seguidos dos ácidos tartárico e succínico em 81,8%. A presença desses ácidos nas amostras de mel pode estar relacionada principalmente à composição florística nos locais de coleta e à ação de microrganismos.

O ácido acético (475,1 a 8.694,3 mg Kg<sup>-1</sup>), tartárico (758,93 a 18.112,8 mg Kg<sup>-1</sup>), cítrico (313,0 a 2.739,4 mg Kg<sup>-1</sup>) e ascórbico (10,56 a 188,07 mg Kg<sup>-1</sup>) foram detectados em concentrações superiores, com variação entre as amostras, sendo observados independentemente do local e época de coleta, indicando que esses fatores não foram determinantes para a sua presença. O ácido acético pode ser utilizado como parâmetro indicativo de deterioração do mel, visto ser formado a partir da transformação de açúcares pela ação de alguns fungos e bactérias acéticas e está associado a alterações no aroma e sabor (SVECOVÁ et al., 2015). Já o ácido tartárico tem potencial de inibir o crescimento de alguns microrganismos (SILVA et al., 2010).

O ácido cítrico, por ser proveniente do néctar, é considerado um parâmetro fundamental para distinguir o mel de melato (de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de partes vivas das plantas) do mel floral (originado do néctar) (MATO et al., 2006). Também proveniente do néctar, o ácido ascórbico é naturalmente encontrado em frutos e vegetais, além disso possui ação antioxidante (PENICAUD et al., 2010).

Daniele, Maitre, Casabianca (2012) identificaram 14 ácidos carboxílicos em méis de diferentes origens botânicas, com concentrações variando entre 2 a 12.725 mg Kg<sup>-1</sup>, dentre os quais o ácido cítrico apresentou valor médio entre 44 a 434 mg Kg<sup>-1</sup>, constatando relação positiva entre o conteúdo dessas substâncias, a acidez e origem botânica. Essa constatação é condizente com os resultados do presente estudo, no qual o maior valor de acidez livre foi observada no mel com maior teor de ácido ascórbico e acético (Anexo-1), indicando que a presença desses ácidos pode influenciar nessa característica.

Haroun et al. (2012) observaram que a presença e concentração de ácidos carboxílicos nos méis de abelha com ferrão, variaram conforme a espécie floral e região de coleta, dentre os ácidos analisados, o ácido cítrico apresentou os maiores níveis (872,2 a 1.394,2 mg Kg<sup>-1</sup>). Em estudo semelhante, Oddo et al. (2008) observaram média igual a 230 mg Kg<sup>-1</sup> da mesma substância nos méis de

**Tabela 4.** Ácidos carboxílicos identificados nas amostras de mel de *Melipona subnitida* coletadas em diferente períodos e locais do Piauí, Brasil.

Ácidos carboxílicos (mg Kg <sup>-1</sup> ) ± IC								
Amostra	Ano	AcAs	AcAc	AcS	AcT	AcM	AcC	AcF
P 1	2015	10,56 ± 1,18	3.620,97 ± 520,4	0,15 ± 0,01	9.095,94 ± 31,6	nd	nd	2,42 ± 0,38
P 2	2015	37,81 ± 2,10	1.006,45 ± 56,9	0,45 ± 0,06	9.864,71 ± 121,3	13,07 ± 0,27	2.739,45 ± 57,3	6,82 ± 0,41
P 3	2015	33,62 ± 0,58	8.079,17 ± 640,3	0,57 ± 0,01	10.234,61 ± 62,0	nd	nd	9,44 ± 0,33
P 4	2015	154,48 ± 3,12	8.694,33 ± 144,3	nd	8.072,25 ± 31,1	nd	nd	50,72 ± 2,35
P 5	2015	83,15 ± 1,36	6.410,85 ± 657,6	nd	18.112,88 ± 2369,8	nd	1.381,79 ± 111,4	5,26 ± 0,40
P 6	2015	116,98 ± 6,57	1.724,69 ± 372,7	0,49 ± 0,10	17.537,65 ± 765,8	nd	313,0 ± 7,8	nd
P 7	2015	92,60 ± 4,99	nd	0,49 ± 0,13	12.508,01 ± 0,07	nd	nd	nd
P 8	2015	nd	8.169,08 ± 446,9	0,52 ± 0,06	Nd	nd	nd	nd
P 9	2015	50,12 ± 2,73	475,1 ± 35,4	0,50 ± 0,07	16.470,47 ± 0,09	2,64 ± 0,14	nd	nd
CP 10	2016	75,06 ± 3,80	1.368,82 ± 56,7	0,14 ± 0,02	759,66 ± 27,5	nd	nd	0,42 ± 0,01
CP 11	2016	188,07 ± 4,44	3.584,30 ± 108,0	0,43 ± 0,04	758,93 ± 17,3	0,89 ± 0,03	nd	0,80 ± 0,01
<b>Varição</b>		10,56 - 88,07	475,1 - 8.694,33	0,14 - 0,57	758,93 - 18.112,88	0,89 - 13,07	313,0 - 2.739,45	0,42 - 50,72
<b>Média</b>		76,59	3.928,49	0,34	9.401,37	1,51	403,11	6,90
<b>Desvio padrão ±</b>		58,91	3.335,57	0,22	6.650,10	3,92	878,89	14,90

IC: intervalo de confiança; P: Parnaíba; CP: Cajueiro da Praia – locais de coleta; nd: não detectado AcAs: ácido ascórbico; AcAc: ácido acético; AcS: ácido succínico; AcF: ácido fumárico; AcC: ácido cítrico; AcT: ácido tartárico.



meliponíneos, sugerindo que além da relação com a origem botânica, a presença de ácidos orgânicos no mel pode conferir ação antioxidante, cuja atividade também foi observada.

#### Correlação entre os parâmetros físico-químicos

Avaliando a correlação entre os parâmetros físico-químicos das amostras de mel, esta foi identificada como significativamente positiva entre: pH e hidroximetilfurfural, pH e ácido tartárico e sólidos solúveis totais e atividade diastásica (Tabela 5). Estas características estão diretamente relacionadas, ou seja, os valores de duas variáveis aumentam proporcionalmente.

Os resultados observados indicam que as amostras que apresentaram elevado pH possuíam maior conteúdo de hidroximetilfurfural, indicando que no mel de abelha sem ferrão, este composto também pode ser formado em condições de baixa acidez e maior pH. Contrário ao verificado neste estudo, Holanda et al. (2015) analisaram amostras de mel recém coletadas de abelhas sem ferrão, constatando que a elevação da concentração de íons hidrogênio na solução (correspondendo a diminuição do pH) potencializa a formação do HMF.

As amostras com elevado teor de ácido tartárico apresentaram os maiores valores de pH. Isso pode ser atribuído à presença de alguns componentes no mel, tais como fosfatos, carbonatos e outros sais minerais, favorecendo a sua capacidade de tamponamento, bem como reduzindo a possibilidade de alteração do pH pela adição de pequenas quantidades de ácidos e bases (BOGDANOV, 2011).

A correlação positiva entre a atividade diastásica e os sólidos solúveis pode estar relacionada ao aumento na concentração de açúcares, em virtude da decomposição do amido (BOGDANOV et al., 2008) pela amilase em unidades menores de açúcares que compõem a maior parte dos sólidos solúveis totais (MELO, DUARTE, MATA, 2003).

Correlação negativa significativa foi observada entre os parâmetros pH e acidez, pH e flavonóides totais, acidez e HMF e, entre umidade e açúcares redutores. Esse tipo de correlação ocorre quando o valor de uma variável é alto em detrimento de outra, ou seja, são inversamente relacionadas.

**Tabela 5.** Coeficientes de correlação de Spearman entre os parâmetros físico-químicos de amostras de mel da *Melipona subnitida*, provenientes do Piauí, Brasil.

Variável	UMI	pH	ACI	HMF	DIA	BRIX	ARED	SAC	FEN	FLA	AcAs	AcAc	AcM	AcS	AcF	AcC	AcT	COR
UMI	-																	
pH	-0,41 <sup>NS</sup>	-																
ACI	0,26 <sup>NS</sup>	<b>-0,60*</b>	-															
HMF	-0,31 <sup>NS</sup>	<b>0,78**</b>	<b>-0,67*</b>	-														
DIA	-0,08 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	-0,44 <sup>NS</sup>	0,45 <sup>NS</sup>	-													
BRIX	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,43 <sup>NS</sup>	0,36 <sup>NS</sup>	<b>0,64*</b>	-												
ARED	<b>-0,65*</b>	0,46 <sup>NS</sup>	-0,29 <sup>NS</sup>	0,26 <sup>NS</sup>	-0,35 <sup>NS</sup>	-0,37 <sup>NS</sup>	-											
SAC	-0,39 <sup>NS</sup>	0,33 <sup>NS</sup>	0,06 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>	-0,22 <sup>NS</sup>	0,19 <sup>NS</sup>	-										
FEN	-0,17 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	0,51 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	-									
FLA	0,23 <sup>NS</sup>	<b>-0,70**</b>	0,18 <sup>NS</sup>	-0,50 <sup>NS</sup>	-0,48 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	-0,55 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	-								
AcAs	0,17 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	0,13 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	0,35 <sup>NS</sup>	0,48 <sup>NS</sup>	-							
AcAc	-0,28 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,31 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	-0,58 <sup>NS</sup>	-0,27 <sup>NS</sup>	0,45 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	0,30 <sup>NS</sup>	0,31 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>	-						
AcM	-0,05 <sup>NS</sup>	-0,24 <sup>NS</sup>	0,36 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	-0,23 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,34 <sup>NS</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	-0,48 <sup>NS</sup>	-					
AcS	-0,12 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	0,20 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,40 <sup>NS</sup>	0,47 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	-0,55 <sup>NS</sup>	-0,46 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	-				
AcF	-0,34 <sup>NS</sup>	-0,32 <sup>NS</sup>	0,43 <sup>NS</sup>	-0,44 <sup>NS</sup>	-0,27 <sup>NS</sup>	-0,21 <sup>NS</sup>	0,45 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	0,59 <sup>NS</sup>	0,29 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	0,52 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,42 <sup>NS</sup>	-			
AcC	-0,23 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	-0,37 <sup>NS</sup>	-0,53 <sup>NS</sup>	0,60 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	0,26 <sup>NS</sup>	-0,23 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	-		
AcT	-0,17 <sup>NS</sup>	<b>0,70**</b>	-0,47 <sup>NS</sup>	0,37 <sup>NS</sup>	0,19 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	0,41 <sup>NS</sup>	0,35 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	-0,37 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>	-0,35 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>	0,53 <sup>NS</sup>	-	
COR	-0,05 <sup>NS</sup>	-0,44 <sup>NS</sup>	0,39 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	0,12 <sup>NS</sup>	0,45 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	0,28 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-0,28 <sup>NS</sup>	0,44 <sup>NS</sup>	-0,38 <sup>NS</sup>	-0,61*	-

NS - não significativo, \* significativo a 5%, \*\* significativo a 1%;

UMI: umidade (%), pH: pH; ACI: acidez; HMF: Hidroximetilfurfural; DIA: atividade diastásica; SST: sólidos solúveis totais (°Brix); ARED: açúcar redutor; SAC: sacarose aparente; FEN: fenóis totais; FLA: flavonóides totais; AcAs: ac. ascorbico; AcAc: ac. Acético; AcM: a. maléico; AcS: ac. succínico; AcF: ac. fumárico; AcC: ac. cítrico; AcT: ac. tartarico.

A dissolução de íons hidrogênio a partir dos ácidos carboxílicos (MATO et al., 2006) e a protonação de alguns compostos fenólicos tais como flavonóides influenciam na redução do valor de pH e conseqüentemente no aumento da acidez (CORNEJO, 1988; A-RAHAMAN et al., 2013). Dardon et al. (2008) demonstraram que os méis de *Melipona* spp. com maior acidez, apresentaram valores baixos de pH. Essa observação também foi descrita por Lage et al. (2012) caracterizando méis de *Melipona* spp.

Quanto à relação inversa entre acidez e HMF, esta pode ser atribuída à redução da velocidade da reação de Maillard, quando o mel apresenta elevada acidez (BILUCA et al., 2014), ou pela influência do elevado teor de umidade observado nas amostras, visto que nessas condições ocorre inibição da formação de hidroximetilfurfural (GUERRINI et al., 2009).

A relação indireta entre umidade e açúcares redutores nos méis analisados indica que a percentagem mais baixa de umidade está relacionada à maior concentração desses açúcares. Os açúcares no mel, principalmente a frutose, interagem com as moléculas de água e, quando em elevada concentração, reduzem a disponibilidade de água livre (VERISSIMO, 1987), além disso, o mel pode absorver a umidade relativa durante o processamento, devido a sua higroscopicidade (SILVA, QUEIROZ, FIGUEIREDO, 2004). Corroborando com os resultados obtidos, Anupama, Bhat, Sapna (2003) e Moo-Huchin et al. (2015) verificaram que as amostras com menor teor de umidade apresentavam elevados valores de açúcares redutores.

## **Conclusão**

As amostras de mel de *M. subnitida* apresentaram condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo. Entretanto, a avaliação dos parâmetros físico-químicos reforça a necessidade de uma legislação específica, visto as peculiaridades dos méis de *M. subnitida* e a ausência de padrões de qualidade. Além disso, as correlações observadas demonstram que os parâmetros avaliados não devem ser observados isoladamente, visto a influência entre si e interferência direta na qualidade do produto.

## Referências

ADAB. Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. Portaria nº 207 de 21 de novembro de 2014. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, gênero *Melipona*. **Decreto nº 9.023 de março de 2004** e Art. 174, Parágrafo Único, 26 de nov. 2014.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Council. **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 2 ed., 1990, 1018p.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemist In: W. HORWITZ. (Ed.) Gaithersburg, MD, USA: **Association of Official Analytical Chemists**, 18 ed., 2005,

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. S; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.

AMARANTE, D. O.; SILVA, J. L. S.; ROCHA, R. S.; MENEZES, F. G. R.; SOUSA, O. V. **Protocolo de isolamento e seleção de estirpes bacterianas do gênero *Bacillus* com potencial probiótico para uso em carcinicultura**. In: Encontros Universitários UFC. VIII Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação, 2015.

ALVES, R.M. O.; CARVALHO, C.A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L.C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 644-650, 2005.

ANACELETO, D.A.; SOUZA, B.A.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.D.C.C. Composition of the honey of samples originated from Jataí bees (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Food Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 535-541, 2009.

ANUPAMA, D.; BHAT, K. K.; SAPNA, V. K. Sensory and physico-chemical porpe-

ties of commercial samples of honeys. **Food Research International**, v. 36, n. 2, p. 183-191, 2003.

A-RAHAMAN, N. L.; CHUA, L. S.; SARMIDI, M. R.; AZIZ, R. Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia. **Agricultural Sciences**, v. 4, n. 5, p. 46-51, 2013.

ATAGO Co. Refratômetro para mel. **Abelhas**. Porto, v. 31, n. 362/363, p. 9,11-12, 41, 44, 1988.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. Guimarães – Portugal: FORVISÃO, 1 ed., 2003. 109p.

BILUCA, F. C.; DELLA BETTA, F.; OLIVEIRA, G. P.; PEREIRA, L. M.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61-69, 2016.

BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R.; GALLMANN, P. Honey for nutrition and health: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 27, n. 6, p. 677- 689, 2008.

BOGDANOV, S. Honey Composition. In: BOGDANOV, S. (Ed.). **The Honey Book**. Bee product Science, 2011, cap. 5, p. 1-10.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, Seção 1, p. 16-17, 23 de out. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA

Resolução – RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BUBA, F. GIDADO, A.; SHUGABA, A. Physicochemical and microbiological properties of honey from North East Nigeria. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 2, n. 142, p. 1-7 2013.

CÂMARA, J. Q.; SOUSA, A. D.; VASCONCELOS, W. D.; FREITAS, R. S.; MAIA, P. H. S.; ALMEIDA, J. C.; MARACAJÁ, P. B. Estudos de meliponíneos, com ênfase a *Melipona subnitida* D., no município de Jandaíra, RN. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 4, n. 1, p. 1519-5228, 2004.

CAMPOS, F. S.; GOIS, G. C.; CARNEIRO, G. G. Physico-chemical parameters of the honey of stingless bee *Melipona scutellaris* produced in the Paraíba. **Zootecnia**, n. 7, p. 186-190, 2010.

CARDOSO, R. D. C. V.; ALMAIDA, R. C. D. C.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, J. Â. W.; SANTANA, A. A. C.; SILVA, S. A. D.; FIGUEIREDO, K. V. N. D. A. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso), v. 69, n. 2, p. 208-213, 2010.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, Da S.; G., MARCHINI, L. C.; ALVES, O. R. M. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Série Meliponicultura, n. 4. Cruz das Almas, Brasil: Nova civilização, 2005, 32p.

CARVALHO, C. A. L., SODRÉ, G. S., FONSECA, A. A., ALVES, R. M., SOUZA, B. A.; CLARTON, L. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 1, p. 143-149, 2009.

CARVALHO C. A. L.; ALVES R. M. O.; SOUZA B.A.; VÉRAS S. O.; ALVES, E, M.; SODRÉ, G. S. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In.: VIT, P.;

ROUBIK, D. W. (Eds.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Venezuela: FFB, 2013, p. 1-9.

CHUTTONG, B.; CHANBANG, Y.; SRINGARM, K.; BURGETT, M. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Alinorm 41/10: revised standard for honey. Alinorm, n. 1, p. 19-26, 2001.

CORNEJO, L. G. Tecnología de miel. In: SEEMANN, P. NEIRA, M. (Eds.). **Tecnología de la producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, 1988, p. 145-171.

COSTA, A. C. V.; MADRUGA, M. S. Volatile profile of monofloral honeys produced by stingless bees from the Brazilian semiarid region. **International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v. 10, n. 5, p. 304-308, 2016.

CRUZ, L. C.; BATISTA, J. E. S.; ZEMOLIN, A. P. P.; NUNES, M. E. M.; LIPPERT, D. B.; ROYES, L. F. F.; FRANCO, J. L. A study on the quality and identity of Brazilian Pampa biome honey: evidences for its beneficial effects against oxidative stress and hyperglycemia. **International Journal of Food Science**, v. 2014, 2014.

DANIELE, G.; MAITRE, D.; CASABIANCA, H. Identification, quantification and carbon stable isotopes determination of organic acids in monofloral honeys. A powerful tool for botanical and authenticity control. **Rapid Communications in Mass spectrometry**, v. 26, n. 17, p. 1993-1998, 2012.

DARDÓN, M. J.; ENRÍQUEZ, E. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala, **Interciencia**, v. 33, n. 12, p. 916-922, 2008.

DELL STATISTICA (Data Analysis Software System), version 13. software.dell.com, 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microorganismos patogênicos de importância em alimentos**. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M (Eds.). Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2006.

FRANCO, B. D. G. M. Critérios microbiológicos para avaliação da qualidade de alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008, p.149-154.

GOMES, S.; DIAS, L. G.; MOREIRA, L. L.; RODRIGUES, P.; ESTEVINHO, L. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 2, p. 544-548, 2010.

GOMES, T.; FEA' S, X.; IGLESIAS, A.; ESTEVINHO, L.M. Study of organic honey from the Northeast of Portugal. **Molecules**, v. 16, n. 7, p. 5374-5386, 2011.

GOOD, A. P.; GAUTHIER, M. P. L.; VANNETTE, R. L.; FUKAMI, T. Honey bees avoid nectar colonized by three bacterial species, but not by a yeast species, isolated from the bee gut. **Plos One**, v. 9, n.1, p. e86494, 2014.

GUERRINI, A., BRUNI, R., MAIETTI, S., POLI, F., ROSSI, D., PAGANETTO, G. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: a chemical and functional profile of an ancient health product. **Food Chemistry**, v. 114, n. 14, p. 1413-1420, 2009.

GUTIÉRREZ, M. G.; ENRÍQUEZ, E.; LUSCO, L.; RODRÍGUEZ-MALAVAR, A.; PERSANO ODDO, L.; VIT, P. Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. **Revista de la Facultad de Farmacia**, v. 50, n. 1, p. 2-6, 2008.

HABIB, H. M.; AL MEQBALI, F. T.; KAMAL, H.; SOUKA, U. D. IBRAHIM, W. H. Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. **Food Chemistry**, n. 153, p. 35-43, 2014.

HAROUN, M. I.; POYRAZOGLU, E. S.; KONAR, N.; ARTIK, N. Phenolic acids and flavonoids profiles of some Turkish honeydew and floral honeys. **Journal Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 39-45, 2012.



HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 55-58, 2012.

HOLANDA, C. A., BRANDÃO, C. M., SOUZA, J. L., DE SOUZA RIBEIRO, M. N., ALVES, L. M. C., & COSTA, M. C. P. Quality and Estimative of Time-Consuming of Tiúba Honey (*Melipona fasciculata* Smith) Produced in Cerrado Region from Maranhão State, Brasil. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 53-64, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, 3 ed., 2008, 1020p.

ISO15213. Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions. In: **International Standards Organization**: Winterthur, Switzerland, 2003.

ISO 21527-2. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 2: Colony Count Technique in Products with Water Activity Less Than or Equal to 0.95. In 21527-2; **International Standards Organization**: Winterthur, Switzerland, 2006.

KERR, W. E. A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 1, n. 2, p. 42-44, 1997.

KOFFLER, S.; MENEZES, C.; MENEZES, P. R.; KLEINERT, A. D. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; POPE, N.; JAFFÉ, R. Temporal variation in honey production by the stingless bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): long-term management reveals its potential as a commercial species in Northeastern Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 858–867, 2015.

LAGE, L. G.; COELHO, L. L.; RESENDE, H. C.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. A.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Honey physicochemical properties of three

species of the brazilian *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 3, p. 605-608, 2012.

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by fehling's solution with methylene blue**. London: Normam Rodge, 1934. 8p.

MAIA, M. U.; JAFFE, R.; CARVALHO, A. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Diagnóstico da Meliponicultura no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 4, p. 327-333, 2015.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. da S.; MORETI, A. C. C. C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Ribeirão Preto: ASP, 2004, 111p.

MARTINS, C. F.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Espécies arbóreas utilizadas para nidificação por abelhas sem ferrão na caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-8, 2004.

MARTINS, A. C. L. RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L. M. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C. D. Espectro polínico de mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidade). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 2, p. 183–190, 2011.

MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M. T. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 5, p.1541-1550, 2006.

MATOS, I. T. S. R.; NUNES, M. T.; MOTA, D. A.; LAUREANO, M. M. M.; HOSHIBA, M. A et al. Qualidade microbiológica do mel de *Melipona* sp. produzido na Amazônia Central (Parintins-AM, Brasil). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p. 91-95, 2011.

MELO, Z. F. N.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C.; Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 5, n. 1, p. 89-99, 2003.

MONTE, A. M.; AZEVEDO, M. L. X.; CARDOSO FILHO, F. das C.; RODRIGUES, A. M. D. de.; MOURA, S. G. de; MURATORI, M. C. S. Qualidade de méis de abelhas nativas sem ferrão do estado do Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 48-54, 2013.

MOO-HUCHIN, V. M.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A.; LIRA-MAAS, J. D.; PEREZ-PACHECO, E.; ESTRADA-LEÓN, R.; MOO-HUCHIN, M. I.; SAURI-DUCH, E. Physicochemical Properties of *Melipona beecheii* honey of the yucatan peninsula. **Journal of Food Research**, v. 4, n. 5, p. 25, 2015.

ODDO, L. P.; HEARD, T. A.; RODRÍGUEZ-MALAVÉ, A.; PÉREZ, R. A.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M.; SANCHO, M. T.; VIT, P. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 4, p. 789-794, 2008.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C S.; DANTAS, K. D. G. F.; ALVES, C. N. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

PENICAUD, C.; PEYRON, S.; BOHUON, P.; GONTARD, N.; GUILLARD, V. Ascórbico acid in food: Development of a rapid analysis technique and application to diffusivity determinatio. **Food Research International**, v. 43, p. 838-847, 2010.

PÉRICO, E.; TIUMAN, T. S.; LAWICH, M. C.; KRUGER, R. L. Avaliação microbiológica e físico-química de méis comercializados no município de Toledo, PR. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 3, p. 365-382, 2011.

POPPI, L. B.; RIVALDI, J.D ; COUTINHO, T. S.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, A. J. P.; MANCILHA, I. M. Effect of *Lactobacillus* sp. isolates supernatant on *Escherichia coli* O157:H7 enhances the role of organic acids production as a factor for pathogen control. **Pesquisa Veterinária Brasileira (Online)**, v. 35, n. 4, p. 353-359, 2015.

SANTOS, J. S., SANTOS, M. L. P., AZEVEDO, A. S. Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia

líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. **Química Nova**, v. 37. n. 3, p. 540-544, 2014.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S. A. F.; SOUZA, C. F. V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 80-90, 2010.

SILVA, C. L. D.; QUEIROZ, A. J. D. M.; FIGUEIREDO, R. M. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado de Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n. 2, p. 260-265, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo, 4 ed., 2010, 624p.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; De NOVAIS, J. S.; CAMARA, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and analysis**, v. 29, n. 1, p. 10-18, 2013a.

SILVA, I. A. A.; SOUZA, A. L.; CORDEIRO, A. M. T. M.; SOLEDADE, L. E. B.; QUEIROZ, N.; SOUZA, A. G. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 114, n. 1, p. 353-358, 2013b.

SILVA, P. M. GAUCHE, C.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016a.

SILVA, K. D. N. D.; BARBOSA, R. DO N.; OLIVEIRA, P. D. A. D.; CAVALCANTE, M. C.; MELO, H. F. D. Inhibition of pathogens by sporogenic bacteria isolated from Honey of *Melipona* sp. (Apidae: Apinae: Meliponini). **Revista Caatinga**, v. 29, n. 4, p. 1021-1027, 2016b.

SILVANO, M. F.; VARELA, M. S.; PALACIO, M. A.; RUFFINENGO, S.; YAMUL, D.

K. Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. **Food Chemistry**, v. 152, p. 500-507, 2014.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA AQUINO, I.; MAGNANI, M.; ALBUQUERQUE, J. R.; SANTOS, G. G.; SOUZA, E. L. Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de abelhas sem ferrão da região do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1765-1774, 2013.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; TOLEDO BENASSI, M.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in brazilian semi-arid region. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 645-651, 2016.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.

SOUZA, B.; ROUBIK, D.; BARTH, O. M.; HEARD, T.; ENRIQUEZ, E.; CARVALHO, C.; VILLAS-BOAS, J.; MARCHINI, L. C.; LOCATELLI, J.; ODDO, L. P.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BOGDANOV, S.; VIT, P.; SOUZA, R. C. S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L. Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, n. 12, p. 867-875, 2006.

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

SUNTIPARAPOP, K.; PRAPAIPONG, P.; CHANTAWANNAKUL, P. Chemical and biological porperties of honey from Thai stingless bee (*Tetragonula leaviceps*). **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 45-52, 2012.

ŠVECOVÁ, B.; BORDOVSKÁ, M.; KALVACHOVÁ, D.; HÁJEK, T. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 80-88, 2015.

WOISKY, R. G., SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, p. 99-105, 1998.

VALSECHI, O. A. **Microbiologia dos alimentos**. Araras: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2006, 49p.

VERISSIMO, M. T. L. Por que o mel cristaliza?. **Apicultura no Brasil**, v. 3, n. 18, p. 14, 1987.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V. **Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações**. ITC Roberto Rios: Barretos, 1984, 95p.

**ARTIGO 2****CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGIA DO  
MEL DE *Melipona fasciculata* (HYMENOPTERA: APIDAE)<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico LWT-*Food Science and Technology*, em versão na língua inglesa.

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGIA DO MEL DE  
*Melipona fasciculata* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

**Resumo:** No presente estudo foi realizado uma caracterização físico-química e microbiológica do mel de *Melipona fasciculata* do Estado do Piauí, Brasil, bem como a comparação da qualidade desse produto com os padrões estabelecidos pelas normas vigentes. Dezoito amostras de mel foram coletadas para avaliar a presença de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, esporos de *Clostridium* sulfito redutor, *Bacillus* spp. e bolores e leveduras. Para a avaliação físico-química foram determinados os parâmetros: umidade, pH e acidez livre, hidroximetilfurfural, atividade diastásica, açúcares redutores e sacarose aparente, cor, reação de Lugol, sólidos solúveis totais, além de compostos fenólicos e flavonóides totais e ácidos carboxílicos. Dentre os microrganismos avaliados, as bactérias heterotróficas mesófilas foram quantificados em 33,33% (<10 a  $1,45 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>) e bolores e leveduras em 16,66% ( $4,7 \times 10^2$  a  $2,35 \times 10^3$  UFCg<sup>-1</sup>) das amostras, enquanto os demais microrganismos não foram detectados. Nas análises físico-químicas foi observado os valores médios de 26,56% (umidade), 3,51 (pH), 25,06 meq Kg<sup>-1</sup> (acidez livre), 2,65 mg Kg<sup>-1</sup>(HMF), 0,10 unidades (atividade diastásica); 73,64 °Brix (SST); 69,79% (açúcares redutores); 1,89% (sacarose aparente); 199,05 mg EAG Kg<sup>-1</sup> (compostos fenólicos totais) e 109,30 mg EQ Kg<sup>-1</sup> (flavonóides totais); além disso foi observado predominância da cor âmbar e detectado o ácido ascórbico, acético, fumárico, tartárico, succínico, maleico e cítrico nos méis. A maioria das amostras de mel de tiúba responderam positivamente aos testes de qualidade, indicando que estas foram coletadas, envasadas e armazenadas em condições higiênicas sanitárias e ambientais adequadas, validando o seu consumo como alimento, bem como fitoterápico.

**Palavras-chave:** Qualidade de mel, microrganismos, segurança alimentar.



**PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF  
THE HONEY *Melipona fasciculata* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

**Abstract:** In the present work was carried out a physicochemical and microbiological characterization of *Melipona fasciculata* honey from State of Piauí, Brazil, as well as the comparison of the quality of this product with the standards established by the current regulations. Eighteen honey samples were collected to evaluate the presence of mesophilic aerobic microorganisms, coliforms at 35° C and at 45° C, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus*, *Clostridium* sulfite reducing spores, *Bacillus* spp. and molds and yeasts. For the physicochemical evaluation the parameters were determined: moisture, pH and free acidity, hydroxymethylfurfural acid, diastase activity, reducing sugars and apparent sucrose, color, Lugol's reaction, total soluble solids, phenolic compounds and total flavonoids and carboxylic acids. Among the microorganisms evaluated, mesophilic heterotrophic bacteria were quantified in 33.33% (<10 to  $1.45 \times 10^3$  CFU g<sup>-1</sup>) and mold and yeast in 16.66% ( $4.7 \times 10^2$  to  $2.35 \times 10^3$  CFU g<sup>-1</sup>) of the samples, while the other microorganisms were not detected. In the physicochemical analysis was observed the mean values of 26.56% (moisture), 3.51 (pH), 25.06 meq kg<sup>-1</sup> (acidity free), 2.65 mg kg<sup>-1</sup> (HMF) , 0.10 units (diastase activity); 73.64 °Brix (SST); 69.79% (reducing sugars); 1.89% (apparent sucrose); 199.05 mg EAG Kg<sup>-1</sup> (total phenolic compounds) and 109.30 mg EQ kg<sup>-1</sup> (total flavonoids); in addition, was observed predominance of ambar color and the ascorbic, acetic, fumaric, tartaric, succinic, maleic and citric acids were detected in the honey. Most of the samples of tiuba honey responded positively to the quality tests, indicating that they were collected, bottled and stored under adequate sanitary and environmental conditions, validating their consumption as food, as well as phytotherapeutic.

**Keywords:** Quality honey, microorganisms, food safety.

## Introdução

O mel é um produto alimentício apreciado e utilizado desde a antiguidade como adoçante natural, fonte de energia e devido as suas propriedades medicinais (ALMEIDA-MURANDIAN et. al., 2013; SILVA et al., 2013b). Produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar ou de secreções de plantas ou excreções de insetos (BRASIL, 2000), é composto por água e açúcares em maior quantidade, além de proteínas, vitaminas, minerais, pigmentos, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, cera, pólen, entre outros (SILVA et al., 2016a).

A composição do mel pode variar de acordo com a espécie de abelha, origem botânica, solo, região de produção, manejo e condições climáticas (ESCUREDO et al., 2016). A frequente manipulação, desde a transformação do néctar em mel até o processo de coleta e armazenamento, pode favorecer mudanças na sua composição natural, a partir de adulterações ou contaminação por microrganismos patogênicos (SOUZA et al., 2009; SOUSA et al., 2016).

Dessa forma é importante avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do mel, obtendo informações sobre a sua procedência, possíveis fraudes e presença de microrganismos, que podem causar alterações nos aspectos sensoriais, na sua composição natural e conseqüentemente interferir no tempo de prateleira (PIMENTEL et al., 2013). Para ser considerado adequado ao consumo, o mel deve atender a critérios de qualidade físico-química (BILUCA et al., 2016) e microbiológica (BUBA, GIDADO, SHUGABA, 2013) de acordo com parâmetros estabelecidos pela Legislação Brasileira (BRASIL, 2000), baseada na normativa internacional para o mel (CODEX, 2001) e padrões microbiológicos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA para a qualidade microbiológica de alimentos (BRASIL, 2001).

O mel produzido por abelhas sociais sem ferrão do Brasil apresenta características físico-químicas e microbiológicas diferenciadas do mel produzido por *A. mellifera*, principal produtora nacional (BILUCA et al., 2014). Entretanto, a ausência de uma legislação específica requer a condução de estudos sobre as características do mel de meliponíneos para definir parâmetros de qualidade, considerando a diversidade na flora e de espécies de abelhas existente em cada região do país (CARVALHO et al., 2013). Nesse aspecto, a Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) estabeleceram parâmetros de qualidade de mel

para o Gênero *Melipona* no Estado da Bahia, Brasil (ADAB, 2014), em vista das particularidades observadas nas diversas espécies de *Melipona* existentes no Estado. Contudo, não há padrões para *Melipona* spp. importantes em outras regiões do Brasil, como *Melipona fasciculata* Smith, 1854, uma das espécies mais importantes na produção de mel no Nordeste brasileiro, muito apreciado pelo sabor diferenciado e pelos efeitos medicinais ao organismo humano (HOLANDA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012).

Diante do exposto, este estudo teve por objetivo contribuir no fornecimento de informações para a caracterização físico-química e microbiológica do mel produzido pela espécie *Melipona fasciculata* no Estado do Piauí, Brasil e comparar a qualidade desse produto com os padrões já estabelecidos.

## **Material e métodos**

### Amostras de mel

Dezoito amostras, compostas por 300 mL de mel, produzidas por *M. fasciculata* foram coletadas nos meses de julho de 2015 e março de 2016, sendo obtidas diretamente de meliponicultores, em quatro meliponários distintos de comunidades rurais, nos municípios de Murici dos Portelas (03°03'902" S e 41° 22'707" W) e Guadalupe (7°36'309" S e 44°35'048" W), situados na região de cerrado do Estado do Piauí, Brasil.

De forma asséptica, os méis foram coletados e armazenados em recipientes plásticos estéreis devidamente identificados, transportados em caixa térmica refrigerada e encaminhados para o Núcleo de Estudos dos Insetos - INSECTA, na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no Centro de Ciências, Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), no campus de Cruz das Almas.

### Análises microbiológicas

Para avaliar a qualidade microbiológica foi realizada análise dos méis quanto à presença de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras, utilizando metodologia do Bacteriological Analytical Manual-BAM descrita por

Silva et al. (2010), *Bacillus* spp. conforme descrição de Amarante et al. (2015) e esporos de *Clostridium* sulfito redutor, segundo metodologia da ISO:15213 (2003).

#### Preparo das amostras

Para a contagem dos microrganismos, uma massa de 25g de mel foi homogeneizado em 225 mL de água peptonada 0,1% correspondendo à diluição  $10^{-1}$ , a partir desta uma alíquota de 1 mL foi transferida para um tubo contendo 9 mL do mesmo diluente, até a diluição  $10^{-3}$ . A contagem de colônias típicas foi realizada, selecionando as placas contendo entre 10 e 100 UFC  $g^{-1}$ .

#### Contagem de microrganismos mesófilos

A contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada com adição de alíquotas de 1 mL de cada diluição decimal em placas de Petri estéreis e vertido o meio de Agar Padrão para Contagem (PCA) e incubadas a  $35^{\circ} C \pm 2/ 48h$ . Os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônias por grama de mel (UFC  $g^{-1}$ ).

#### Contagem de Coliformes a $35^{\circ} C$ a $45^{\circ} C$

A quantificação de coliformes coliformes a  $35^{\circ} C$  e  $45^{\circ} C$  foi realizada a partir do teste presuntivo, com inoculação de 1 mL de cada diluição em 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em série de três tubos, contendo tubos de *Durham* invertidos. Os tubos foram incubados a  $35^{\circ} C \pm 2/ 48h$ . A positividade do teste foi verificada pela turvação do meio e a presença de gás nos tubos de *Durham*.

A partir dos tubos positivos em caldo LST, uma alçada foi transferida para os meios seletivos Caldo Bile Verde Brilhante (CVBV) para coliformes a  $35^{\circ} C$  ( $35^{\circ} C \pm 2 / 24 h$ ) e Caldo *Escherichia coli* (EC) para coliformes a  $45^{\circ} C$  ( $45^{\circ} C \pm 2/ 24 h$ ). Os resultados foram expressos a partir da combinação de tubos positivos utilizando a Tabela de Hoskins e determinado os valores em Número Mais Provável (NMP) por grama da amostra.

#### Detecção de *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada o pré-enriquecimento de 25g de mel adicionado a 225 mL de água peptonada tamponada (APT) e incubado a 35° C  $\pm$  2/ 24h. Após esse período uma alíquota de 1mL foi transferida para o meio seletivo caldo Tetrionato (TT) e 0,1mL para o caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), com respectiva incubação a 35° C  $\pm$  2 em estufa bacteriológica e a 42° C em banho maria durante 24 h. Em seguida, a partir de cada tubo foi semeado um inócuo em placas contendo agar MacConkey (colônias de coloração transparente), Agar *Salmonella Shigella* (colônias de cor transparente ou com centro negro) e Agar Verde Brilhante (colônias de cor avermelhada) para o isolamento da bactéria.

As colônias com características típicas de *Salmonella* foram submetidas à triagem bioquímica através dos testes Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Agar Lisina Ferro (LIA), Agar Citrato de Simmons, caldo uréia, caldo malonato e indol.

#### Contagem *Staphylococcus* coagulase positiva

A presença de *Staphylococcus* foi determinada a partir da semeadura de uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição na superfície do meio agar Baird Parker em placas de Petri com o auxílio da alça de *Drigalski*, sendo incubado a 35° C  $\pm$  2 por 48 h. As colônias que apresentaram características típicas (centro negro e halo transparente) foram transferidas para caldo BHI e incubadas em estufa por 37° C/ 24 h, na sequência, foram submetidas às provas bioquímicas de coagulase e catalase.

#### Contagem de *Bacillus* spp.

Tubos com as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  da amostra foram mantidos em banho maria (70° C/ 1 h). Posteriormente, foi realizado a semeadura de uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição na superfície do meio de cultura agar nutriente (Himedia) acrescido de 1,5% de NaCl e incubados em estufa a 30° C/ 48 h. As colônias características foram repicadas e isoladas em agar triptona de soja (TSA), sendo observado a morfologia das culturas e confirmada por microscopia utilizando a técnica de Coloração de Gram e coloração de esporo.

### Contagem de esporos *Clostridium* sulfito redutor

Inicialmente, as diluições ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) foram submetidos a temperatura de 80° C por 10 minutos, em seguida, foi colocado uma camada do Agar *Clostridium* sulfito redutor em placas de Petri estéreis, após solidificação do agar, procedeu-se com a semeadura de alíquotas de 1,0 mL, 0,1 mL e 0,01 mL, espalhando com a alça de *Drigalski* na superfície do meio. Uma nova camada de agar foi adicionada com posterior vedação das placas com parafilm, favorecendo uma atmosfera de anaerobiose, com incubação a 35° C  $\pm$  2 por 48 h.

### Contagem de bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada com a semeadura de 0,1 mL de cada diluição em placas de Petri contendo agar DG18 e incubadas a 25° C durante 5 dias. A contagem foi expressa em unidades formadoras de colônias por grama de mel (UFC g<sup>-1</sup>) (ISO, 2006).

### Análises físico-químicas

A caracterização físico-química dos méis foi realizada a partir da determinação dos parâmetros: umidade, açúcares redutores e sacarose aparente, sólidos solúveis totais, pH e acidez livre, hidroximetilfurfural (HMF), atividade diastásica, reação de Lugol e cor. Também foram determinados os compostos fenólicos totais e flavonóides totais e perfil de ácidos carboxílicos. Para determinar essas características, as amostras foram analisadas em triplicata.

### Umidade

Esse parâmetro foi determinado a partir de leitura direta da amostra em refratômetro portátil, (modelo Atago PAL-22S) em temperatura ambiente, baseado no fenômeno da refração, com valor expresso em percentagem (%) (ATAGO Co, 1988).

### Açúcares redutores e sacarose aparente

Esse parâmetro foi determinado conforme o método descrito por Lane, Eyon (1934), com modificações de Marchini et al. (2004). Os açúcares redutores

foram determinados a partir da redução do licor de Fehling (cobre alcalino) a óxido cuproso, durante a titulação. A sacarose foi quantificada por titulação do licor de Fehling, utilizando uma solução de mel acidificada com ácido clorídrico, posteriormente, neutralizada com hidróxido de sódio. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

#### Acidez livre e pH

O pH foi determinado com base na A.O.A.C (1990), utilizando-se potenciômetro digital em uma solução preparada com 10 mL de amostra de mel diluída em 75 mL de água destilada. Para determinar a acidez livre, a mesma solução foi titulada com hidróxido de sódio a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando o indicador fenolftaleína, com resultado expresso em miliequivalente por quilo ( $\text{meq Kg}^{-1}$ ).

#### Hidroximetilfurfural

O hidroximetilfurfural foi determinado conforme o método A.O.A.C (1990), baseado na leitura da solução de mel (preparada com soluções Carrez I e Carrez II e filtrada) em espectrofotômetro (WPA), atuando nos comprimentos de onda de 284 a 336 nm, utilizando uma solução de bissulfito de sódio como branco. Os resultados foram expressos em miligrama por quilo ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ).

#### Atividade diastásica

A atividade diastásica das amostras foi avaliada utilizando uma solução tamponada de amido e mel, mantidos em banho maria a  $40^\circ \text{ C}$  até obter uma absorvância inferior a 0,235 em espectrofotômetro (WPA), atuando em comprimento de onda de 660 nm, cujos resultados foram expressos em unidades da escala *Gothe*, conforme metodologia da A.O.A.C (2005).

#### Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais foram determinados com leitura direta da amostra de mel refratômetro, (modelo Abbe) à temperatura ambiente e expressos em grau brix ( $^\circ\text{Brix}$ ) (AOAC, 2005).

### Reação de Lugol

A reação com solução de Lugol é utilizada para pesquisar a presença de amido e dextrinas no mel, cujo princípio é baseado na reação de iodo com iodeto de potássio na presença de glicose, resultando numa solução de coloração vermelho-violeta a azul. Quando essa alteração ocorre, considera-se resultado positivo, ou seja, o mel sofreu adulteração (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

### Cor

A classificação da cor dos méis foi realizada por leitura direta da amostra em espectrofotômetro (WPA) a 560 nm, utilizando como branco a glicerina e estabelecida de acordo com a escala de Pfund (VIDAL, FREGOSI, 1984).

### Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado por espectrofotometria, utilizando o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton, Orthofer, Lamuela-Raventos (1999). Alíquotas de 0,5 mL de solução de mel (100 mg L<sup>-1</sup>, preparada com água destilada) foi transferida para tubos de ensaio, adicionando 2,5 mL de solução Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de carbonato de sódio (75 g L<sup>-1</sup>). A mistura foi agitada e deixada em repouso por 30 min a 40°C, posteriormente a absorvância foi avaliada no comprimento de onda de 760 nm. Para obter o conteúdo de compostos fenólicos totais foi definida a curva de calibração utilizando o ácido gálico como padrão com concentrações variando de 10 a 80 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por quilo de amostra de mel (mg EAG Kg<sup>-1</sup>).

### Determinação de flavonóides totais

O conteúdo de flavonóides totais foi determinado conforme o método colorimétrico com cloreto de alumínio (WOISKY, SALATINO, 1998). Foi preparada uma solução de mel com água destilada, da qual uma alíquota de 0,5 mL (1:10) foi transferida para tubo de ensaio (triplicata), adicionando 2 mL de água destilada e 0,15 mL de nitrito de sódio (5%). Após seis minutos foi adicionado 0,15 mL de cloreto de alumínio (10%), deixando em repouso por seis minutos, na sequência



foi adicionado 2 mL da solução de hidróxido de sódio (4%) e água destilada até o volume final de 5 mL. A leitura da solução foi realizada em espectrofotômetro (WPA) a 510 nm de absorvância. O conteúdo de compostos fenólicos na amostra foi obtido a partir da construção de uma curva de calibração, utilizando a quercetina como padrão. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de quercetina por quilo de amostra de mel ( $\text{mg EQ Kg}^{-1}$ ).

Determinação de ácidos carboxílicos em mel por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Preparo de soluções dos padrões e amostras de mel

A determinação e quantificação dos ácidos carboxílicos foram efetuadas conforme descrito por Santos, Santos, Azevedo (2014). Para isso, foram utilizados os padrões ácidos ascórbico, tartárico, acético, succínico, maléico, fumárico e cítrico (Synth®, Vertec®, Merck®) com grau de pureza até 99%. A partir dos quais foram preparadas respectivas soluções para análises cromatográficas, individualmente e, posteriormente, avaliadas em misturas (solução estoque), com concentrações entre 10 e 60  $\text{mg L}^{-1}$ , variando de acordo com o padrão. A partir da diluição seriada da solução estoque, foram preparadas soluções referências, correspondendo a nove pontos para obtenção das curvas analíticas de calibração.

As soluções dos méis foram preparadas a uma proporção de 1:5 (mel: água), posteriormente filtradas com filtros de seringa-membrana PES, modelo K18-230 ® e analisadas no sistema cromatográfico.

Condições cromatográficas

A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo Agilent 1260 Infinity, acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD), com uma coluna de fase reversa C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 $\mu\text{m}$ ) a 30° C. A fase móvel foi composta por uma solução de metanol e água Mili-Q (5:95, v/v), com pH ajustado para 2,1 utilizando ácido clorídrico, eluição isocrática a 1  $\text{mL min}^{-1}$ , durante 10 min. e volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ . As injeções das amostras e padrões foram realizadas em triplicata e os cromatogramas obtidos

foram registrados por meio do Software Open Lab. O monitoramento dos perfis cromatográficos foi realizado a 215 nm.

A identificação dos ácidos foi realizada a partir da comparação entre o tempo de retenção das amostras e dos padrões avaliados. As concentrações de ácidos carboxílicos nos méis foram obtidas a partir das curvas de calibração padrão e expressas em  $\text{mg kg}^{-1}$  de ácido (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tempos de retenção dos ácidos carboxílicos analisados, com média, desvio padrão de três determinações e equação da reta.

Ácido carboxílico	Tempo de retenção	Equação da reta
Ácido ascórbico	$2,36 \pm 0,001$	$y = 161,63x - 24,191$
Ácido tartárico	$1,96 \pm 0,002$	$y = 18,22x - 22,717$
Ácido acético	$2,95 \pm 0,001$	$y = 0,3422x + 9,1192$
Ácido maléico	$3,15 \pm 0,003$	$y = 1318,3x - 129,77$
Ácido fumárico	$4,43 \pm 0,004$	$y = 1055,4x - 79,395$
Ácido cítrico	$3,64 \pm 0,004$	$y = 5,789x + 11,462$
Ácido succínico	$4,16 \pm 0,002$	$y = 703,23x + 1,1807$

#### Análises estatísticas

O tratamento estatístico foi realizado aplicando-se a análise descritiva para os resultados das características físico-químicas. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para verificar possíveis associações entre variáveis quantitativas estudadas, para o valor  $p$  menor que 0,05, as diferenças encontradas foram consideradas significativas. Todas as análises estatísticas foram realizadas no Software Statistica (DELL INC., 2016).

## Resultados e discussão

#### Análise microbiológica

Dentre as 18 amostras de mel de *M. fasciculata* analisadas, apenas 44,44% apresentaram algum tipo de contaminação microbiana (Tabela 2), entretanto, todas as amostras estavam dentro dos padrões estabelecidos pela

portaria da ADAB (2014) para o mel de *Melipona* spp. que, para efeito de qualidade, considera apenas coliformes a 45 °C (100 NMP g<sup>-1</sup>), *Salmonella* spp. (ausente) e bolores e leveduras (10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>). A ausência ou a baixa contagem de microrganismos relatados neste estudo, pode estar associado às características físico-químicas dos méis, tais como pH ácido e concentração elevada de açúcares que aumenta a pressão osmótica, inibindo assim o crescimento microbiano (NWEZE et al., 2016), condições higiênico-sanitárias na coleta, armazenamento adequado e o potencial antimicrobiano do mel, possivelmente pela presença de compostos fenólicos (SILVA et al., 2016b) e ácidos carboxílicos.

Bactérias aeróbias mesófilas foram detectadas em 33,33% (1,4 x 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> e 7,8 x 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup>) das amostras de mel, estando dentro do limite reportado na literatura (10<sup>6</sup> UFC g<sup>-1</sup>) (FRANCO, LANDGRAF, 2006). Porém, a regulamentação do mel de *Melipona* (ADAB, 2014) e para a qualidade de alimentos no geral (BRASIL, 2001) não estabelecem limites com relação a este grupo de microrganismos, embora seja um parâmetro importante por indicar possíveis deficiências na higiene, durante o processamento. A contaminação do mel de *M. fasciculata* ocorre, na maioria das vezes, em virtude da distribuição dos meliponários próximos a galinheiros, pocilgas e córregos, uma vez que, as abelhas podem coletar materiais desses locais (OLIVEIRA et al., 2005). No entanto, com relação ao presente estudo, não foi observado a existência de estabelecimentos de produção animal próximos aos meliponários onde foram coletados os méis.

Coliformes a 35° C e a 45° C, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Bacillus* spp. não foram detectados nas amostras de méis de *M. fasciculata*. Isso indica ser um produto seguro ao consumo e comercialização, visto estar isento dos principais contaminantes de alimentos e causadores de doenças veiculadas por estes.

A ausência de coliformes a 35° C e a 45° C foi relatado por Holanda et al. (2015) na análise de qualidade dos méis de *M. fasciculata* no Estado do Maranhão, cuja característica, os autores associaram ao hábito higiênico da espécie e à localização dos meliponários em áreas afastadas de cidades, bem como de locais contaminados. Para Barros, Batista (2008) os coliformes não são encontrados no mel dessa espécie, a menos que ocorra falhas na higiene ou

**Tabela 2.** Determinação da presença de microrganismos nos méis de *M. fasciculata*, Piauí, Brasil e os padrões microbiológicos estabelecidos para o mel de *Melipona* da Bahia (ADAB, 2014).

Amostra	Mesófilos (UFC g <sup>-1</sup> )	Coliformes		<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Bolors e leveduras (UFC g <sup>-1</sup> )	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i> spp. (UFC g <sup>-1</sup> )
		35° C (NMP g <sup>-1</sup> )	45° C (NMP g <sup>-1</sup> )					
1	1,45 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
2	2,43 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	4,7 x 10 <sup>2</sup>	Ausente	<10
3	7,8 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
4	6,95 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
5	1,35 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
6	1,9 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
7	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
8	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	7,5 x 10 <sup>2</sup>	Ausente	<10
9	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
10	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	2,35 x 10 <sup>3</sup>	Ausente	<10
11	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
12	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
13	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
14	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
15	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
16	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
17	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
18	<10	<3	<3	Ausente	Ausente	<10	Ausente	<10
<b>ADAB (2014)</b>	-	-	Max. 100	Ausente	-	Max. 10 <sup>4</sup>	-	-

(-): não preconizado; Max.: máximo.

ausência de boas práticas por parte do produtor, durante a coleta e armazenamento do produto.

Ao avaliarem amostras de méis de *Melipona* spp. provenientes da Nigéria, Nweze et al. (2016) verificaram ação inibitória de microrganismos importantes no mel, como *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Alves et al. (2011) avaliando méis de *Melipona* spp. provenientes de três estados do Nordeste, não constataram presença de *Salmonella* spp. e coliformes a 35° C e a 45° C.

*Clostridium* é encontrado principalmente no solo, podendo ocorrer nos ambientes de coleta e processamento do mel (FINOLA, LASAGNO, MARIOLI, 2007). Além disso, sua presença pode ser associada ao botulismo infantil em bebês com idade inferior a um ano (MONETTO et al., 1999). Ragazzani et al. (2008) relataram a presença de bactérias do Gênero *Clostridium* em 11% das amostras de mel estudadas, das quais 7% apresentaram esporos de *Clostridium botulinum*.

Bolores e leveduras foram detectados em 16,16% das amostras ( $<10$  a  $2,35 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>) (Tabela 2). Esses microrganismos podem ser veiculados pelas abelhas, uma vez que alguns fungos são encontrados nos nectários das flores (GOOD et al., 2014) e algumas bactérias, como acéticas e lácticas estão presentes no intestino destes insetos (VÁSQUEZ et al., 2012). Os bolores e leveduras são importantes na avaliação da qualidade do mel por estarem associados a espécies deteriorantes, produtoras de micotoxinas (VALSECHI, 2006) e/ou de ácidos carboxílicos, utilizando os açúcares como fonte de energia (POPPI et al., 2015).

Monte et al. (2013) analisando méis de *M. fasciculata* produzidos no Piauí, relataram contagens inferiores ( $1,88 \pm 0,29$  Log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>). Gois et al. (2010) avaliando méis de *M. scutellaris* constataram a presença de bolores (*Penicillium* e *Aspergillus*) e leveduras, além de alguns tipos bacterianos. Alves et al. (2011) avaliando méis de *Melipona* spp. provenientes de três estados do Nordeste, observaram contagem inferior a 10 UFC g<sup>-1</sup> para bolores e leveduras.

## Análises físico-químicas

Na Tabela 3 são apresentados as variações médias dos parâmetros físico-químicos avaliados para os méis de *M. fasciculata* e no Anexo 2 os valores médios obtidos para cada amostra, com relação aos parâmetros físico-químicos observados. Em relação ao total de amostras analisadas 11,11% não atenderam aos padrões (umidade e HMF) estabelecidos pela portaria da ADAB (2014), podendo sinalizar grau de maturação insuficiente e/ou condições de coleta e armazenamento do produto inadequados.

**Tabela 3.** Análise descritiva dos parâmetros físico-químicos de 18 amostras de mel produzidos pela espécie *Melipona fasciculata* do Piauí, Brasil e padrões estabelecidos para a qualidade do mel de *Melipona* da Bahia (ADAB, 2014).

Parâmetros	Varição (mínimo e máximo)	Média ± desvio padrão	ADAB, 2014
Umidade (%)	15,97- 28,73	26,56 ± 2,79	20-35
pH	3,21 - 3,75	3,51 ± 0,14	-
Acidez (meq Kg <sup>-1</sup> )	12,33 - 43,50	25,06 ± 9,85	Max. 50
HMF (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,37-13,32	2,65 ± 3,19	Max. 10
Atividade diastásica (Gothe)	0,03 - 0,82	0,10 ± 0,19	Max 3
Açúcar redutor (%)	63,71 - 77,26	69,79 ± 3,72	Min.60
Sacarose aparente (%)	0,39 - 3,81	1,89 ± 1,15	Max. 6
Cor (nm, Pfund)	0.34 - 0.98	0.55 ± 0.16	QI – PE
SST (°Brix)	69,20 - 81,00	73,64 ± 3,86	-
Reação de Lugol	Negativo	-	-
Fenóis totais (mg EAG Kg <sup>-1</sup> )	115,59 - 287,24	199,05 ± 45,34	-
Flavonóides totais (mg EQ Kg <sup>-1</sup> )	34,81-175,56	109,30 ± 41,78	-

HMF: hidroximetilfurfural; SST= sólidos solúveis totais (°Brix); nm: nanômetro; (-) não preconizado pela legislação.

## Umidade

A umidade dos méis variou entre 15,97% e 28,73% (Tabela 3). A menor quantidade de água corresponde à amostra que apresentou maior acidez e conteúdo de HMF (Anexo-2) que pode estar associado à composição do néctar, à perda de água do mel, durante o seu processamento (devido à temperatura e umidade relativa na época e local de coleta) ou pela formação de hidroximetilfurfural, reduzindo o nível da água, uma vez que este composto é originado a partir de moléculas de água em condições ácidas (SILVA et al., 2016a). Por outro lado, a elevada umidade no mel de meliponíneos, assim como foi observado na maioria das amostras do presente estudo, pode ser devido a baixa taxa de desidratação do néctar (processo de evaporação de água) durante o processo de transformação em mel (ALVES et al., 2005). Essa característica influencia no sabor diferenciado do mel de *M. fasciculata* (HOLANDA et al., 2013), além de tornar o produto favorável ao processo de fermentação pela ação de leveduras (SOUZA et al., 2009), razão pela qual o produto deve ser mantido sob refrigeração, após ser coletado (CARVALHO et al., 2013).

Teores de umidade próximos aos encontrados neste estudo foram relatados em diferentes pesquisas, com intervalo entre 16,7% e 45,0% nos méis de *Melipona* spp., *M. asilvai*, *M. quadrifasciata*, *M. scutellaris* produzidos em diferentes regiões do Brasil (SOUZA et al., 2004; ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA; BASTOS, 2007; SOUZA et al., 2006; SOUSA et al., 2013). A heterogeneidade observada nestes trabalhos evidencia a influência das características de cada espécie e região nas propriedades físico-químicas dos méis.

Analisando méis de *M. fasciculata*, Kerr (1996); Holanda et al. (2012) e Holanda et al. (2015) constataram variação da umidade conforme a região de distribuição: intervalo de 21,44 a 27,51% (Maranhão); valores entre 23,33% a 25,33% no Pará (SILVA et al., 2013a) e teor médio de 29,6% no Rio Grande do Norte (SOUSA et al., 2013).

Considerando as descrições de diferentes estudos, as condições ambientais influenciam no conteúdo de água do mel, visto que quando produzido por espécies distribuídas em habitats úmidos apresentam maior teor de umidade, fato que foi observado para o mel de *M. flavoneata* do Pará (19,0 a

28,0%) (SILVA et al., 2013a) e nos méis de *M. seminigra merrilae* do Acre (23,38% a 33,12%) (SILVA et al., 2013b). No entanto, o presente estudo verificou valores elevados de umidade, apesar do clima seco característico das regiões de coleta (Piauí). Resultados semelhantes foram encontrados na *M. subnitida* (26,4%) e *M. scutellaris* (25,1%) distribuídas no Estado do Piauí (MONTE et al., 2013).

#### Acidez livre e pH

Foi observado uma variação de 12,33 meq Kg<sup>-1</sup> a 43,50 meq Kg<sup>-1</sup> nas amostras de mel avaliadas (Tabela 3). Os diferentes valores de acidez livre constatados, expressam a relação com a composição do néctar, uma vez que esse material é proveniente de diferentes espécies florais e tem influência edafoclimáticas. Fatores estes, que em conjunto, interferem principalmente na presença e concentração de ácidos carboxílicos e minerais (SOUSA et al., 2016).

Diferentes autores relataram valores de acidez variando conforme a espécie de *Melipona* e a região de distribuição: média de 43,48 meq Kg<sup>-1</sup> encontrada na espécie *M. mandacaia* (ALVES et al., 2005) e 37,8 meq Kg<sup>-1</sup> na *M. fasciculata* (SOUSA et al., 2013); 24,66 meq Kg<sup>-1</sup> a 58,33 meq Kg<sup>-1</sup> nos méis de *M. subnitida* (SILVA et al., 2016), provenientes do Nordeste brasileiro; intervalo de 16,2 a 139 meq Kg<sup>-1</sup> em amostras de mel de *M. mondury* e *M. Bicolor*, no Sul do Brasil (BILUCA et al., 2016); e 8,24 a 21,45 meq Kg<sup>-1</sup> nos méis de *M. fasciculata* e 16,85 a 76,72 meq Kg<sup>-1</sup> *M. flavoneata* da região Norte (SILVA et al., 2013a).

Quanto ao pH, este apresentou valores entre 3,21 e 3,75, com média de 3,51 (Tabela 3). Os menores valores de pH constatados nos méis (Anexo-2) estão associados ao crescimento de bolores e leveduras (Tabela 2). Apesar de não ser um parâmetro estabelecido pela legislação, a determinação do pH é utilizada na caracterização de mel por estar associado à estabilidade do produto frente à ação de microrganismos tais como alguns fungos (CAVIA et al., 2007). Esses resultados estão incluídos no intervalo (3,2 a 5,3) relatado por Sousa et al. (2016) na caracterização de méis de *M. subnitida* e *M. scutellaris* e nas variações médias (3,12 a 5,33 e 4,0 a 5,67) encontradas nos méis de *M. fasciculata* e *M. flavoneata* (SILVA et al. 2013a). Esse caráter ácido, típico dos méis de abelhas sem ferrão foi relatado por Biluca et al. (2016) observando intervalo médio de 3,37 a 6,56 nos



méis de diferentes espécies de *Melipona*, com a menor média encontrada na *M. bicolor* e o maior valor na *M. rufivestris mondory* (BILUCA et al., 2016).

#### Hidroximetilfurfural

Os valores de HMF variaram entre 0,37 mg Kg<sup>-1</sup> e 13,31 mg Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3). A maior concentração observada (acima do limite de 10 mg Kg<sup>-1</sup>) pode estar relacionado à influência dos fatores em conjunto (local de coleta, temperatura e maior acidez) (Anexo-2) na formação desta substância. Os resultados demonstraram que, de modo geral, o hidroximetilfurfural ocorre em pequenas quantidades nos méis de abelhas do Gênero *Melipona*, recém coletados, cuja informação pode ser importante na fixação de padrões de qualidade para o produto do Estado do Piauí. O conteúdo de HMF pode variar conforme a espécie de abelha, condições climáticas e região de produção, podendo aumentar quando o mel é armazenado por período prolongado (SILVA et al., 2016a). Além disso, a formação do composto também tem relação com o tipo de açúcar presente no mel, visto que amostras quando submetidas a tratamento térmico sofrem alterações na concentração de HMF e na quantidade de açúcares (monossacarídeos) (BILUCA et al., 2014).

Estudos em diferentes épocas e locais do Brasil demonstraram variação na concentração de HMF em amostras de mel recém coletadas: na região Norte, na estação chuvosa, Silva et al. (2013a) observaram valores de 0,86 a 9,21 mg Kg<sup>-1</sup> nos méis de *M. fasciculata* e 0,27 a 29,33 mg Kg<sup>-1</sup> em méis de *M. flavoneata*; na região Nordeste, Evagelista-Rodrigues et al. (2005) detectaram a concentração média de 18,92 mg Kg<sup>-1</sup> em méis de *M. scutellaris*; Silva et al. (2013c) avaliaram méis de *M. subnitida*, durante a estação seca e observaram uma concentração de HMF entre 10,80 mg Kg<sup>-1</sup> a 15,71 mg Kg<sup>-1</sup>; enquanto Biluca et al. (2014), avaliando méis de diferentes espécies do Gênero *Melipona* de Santa Catarina, observaram quantidades inferiores a 0,035 mg L<sup>-1</sup> em 100% nas amostras caracterizadas.

Outros estudos demonstraram que mesmo em regiões com temperaturas mais quentes (condição que possibilita a formação de HMF), característico do Nordeste brasileiro, essa substância não foi detectada em méis frescos produzidos por *Melipona* spp., como verificado por Sousa et al. (2016) ou quando

essa substância está presente, ocorre em baixas concentrações (média de 5,79 mg Kg<sup>-1</sup>) (ALVES et al., 2005).

#### Atividade diastásica

Observando os resultados da atividade diastásica (0,03 a 0,82 unidades Gothe), todas as amostras analisadas apresentaram valores inferiores a 3 unidades, estando de acordo com a portaria da ADAB (2014). A atividade diastásica é um parâmetro utilizado como indicativo do frescor do mel, uma vez que baixas concentrações podem apontar perda enzimática por aquecimento do produto (SILVA et al., 2016a). Entretanto, estudos recentes relatam a aplicação desse parâmetro na distinção de espécies de abelhas, observando que a presença e concentração de diastase varia conforme a espécie entomológica, por ser produzida nas glândulas hipofaringeanas da abelha (SOUZA et al., 2009; ALMEIDA-MURANDIAN et al., 2013; AHMED et al., 2013; YÜCEL, SULTANOGLU, 2013). Além disso, méis de *Melipona* recém coletados já apresentam baixas concentrações desta enzima (NASCIMENTO et al., 2015), assim como observado no presente estudo.

Biluca et al. (2016) ao caracterizarem méis de *Melipona* spp., encontraram valores semelhantes nas amostras de mel de 77% das espécies de abelhas estudadas. Valores superiores foram relatados nos méis de *M. fasciculata*, produzidos no Estado do Maranhão (0,60 a 3,01 unidades) (HOLANDA et al., 2012; HOLANDA et al., 2015).

#### Açúcares redutores e sacarose aparente

O teor de açúcares redutores nas amostras de mel analisadas variou de 63,71% a 77, 26% e sacarose aparente de 0,39% a 3,81%, valores em conformidade com a Portaria da ADAB (2014). Os açúcares redutores apresentaram-se próximos aos valores de sólidos solúveis totais, indicando dessa forma, a relação entre esses dois parâmetros. Os açúcares representam os principais componentes do mel, dependem principalmente da origem botânica, geográfica e hábito alimentar das abelhas (ESCUREDO et al., 2014). Quanto ao teor de sacarose, este pode indicar a presença de adulteração ou coleta prematura do mel quando ocorre valor acima de 6% (BRASIL, 2000).

Valores próximos aos resultados relatados foram descritos em outros estudos com méis de *Melipona* spp.: 64,29% a 82,10% para açúcares redutores e 0,61% a 6,19% para sacarose nos méis de *M. mandacaia* na região Nordeste (ALVES et al., 2005); variação de 50,67% a 69,64% de açúcares redutores e 2,08% a 5,4% de sacarose aparente em amostras produzidas por *M. fasciculata* da região Norte (SILVA et al., 2013a) e intervalo médio de 50,67% a 72,77% para açúcares nos méis de *M. subnitida* do Nordeste (SOUSA et al., 2013).

## Cor

A intensidade da cor nos méis variou do âmbar claro ao âmbar escuro (0,340 nm a 0,980 nm) respectivamente, com predominância da cor âmbar em 66,66% das amostras, dentre as quais, estão as que foram coletadas no período de 2016 (Anexo-2), possivelmente devido à origem botânica associada ao local e época de coleta. Lacerda et al. (2010) ressaltaram sobre a relação da cor com a espécie floral e nível de maturação do mel, cujos fatores influenciam na concentração de açúcares, os quais, por sua vez, estão envolvidos na formação de compostos interferentes na cor (ex.: hidroximetilfurfural).

A predominância de tonalidades claras no mel de *Melipona* spp. é relatada por diferentes autores (VIT et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2015). Uma variação do branco ao âmbar foi observada entre grupos de méis produzidos por *Melipona* spp. em diferentes municípios da Bahia, sendo que 48,5% das amostras foram classificadas como extra âmbar claro, seguidas de 36,4% representadas pela cor âmbar claro e 12,1% classificadas como âmbar (SOUZA et al., 2009).

Nascimento et al. (2015) avaliando méis de *Melipona* spp. da região Norte, constatou predominância da cor âmbar nas amostras analisadas, ressaltando que essa característica está associada à espécie floral, bem como ao conteúdo de minerais no mel. Vit et al. (2012) encontraram variação na intensidade da cor (branco ao âmbar claro) nos méis de *M. favosa*. Sousa et al. (2016) avaliaram méis uniflorais produzidos por *M. subnitida* e *M. scutellaris* do Rio Grande do Norte e da Paraíba, observando variação do extra âmbar claro ao âmbar, com diferença na tonalidade conforme a origem botânica, valor de pH e conteúdo de minerais.

A cor é um importante parâmetro na caracterização do mel, pois consiste em um dos principais critérios adotados pelo mercado consumidor na avaliação da qualidade do produto. A variação na intensidade da cor é o principal fator de influência acerca da preferência do mel pelo consumidor, determinando a aceitação e o valor comercial (SOUZA et al., 2009). Kumul et al. (2015) considera que os méis com tonalidades escuras são os mais adequados ao consumo humano, por estar associado a concentrações superiores de minerais e vitaminas, comparando com amostras de cor mais clara.

Além dos parâmetros físico-químicos definidos pela legislação para certificar a qualidade do mel, outras análises complementares são geralmente realizadas com o propósito de fornecer maiores informações a cerca das características deste produto, tais como reação de Lugol, sólidos solúveis totais, compostos fenólicos totais, flavonóides totais (Tabela 3) e ácidos carboxílicos (Tabela 4).

#### Reação de Lugol

Todas as amostras analisadas apresentaram resultado negativo para o teste de Lugol, corroborando com os demais parâmetros físico-químicos atribuídos à qualidade (sacarose aparente e HMF).

Bera, Almeida-Murandian (2007) constataram resultado negativo para reação de Lugol em 11 amostras de mel obtidas de estabelecimentos comerciais. Analisando amostras de mel comercializados no sul do Brasil, Dias et al. (2009) observaram resultado positivo em 33,3% dos méis, corroborando com a determinação de sacarose aparente, cujo índice estava acima do estabelecido pelas normas nacionais.

#### Sólidos solúveis totais

Os valores de sólidos solúveis totais variaram de 69,20 °Brix a 81,00 °Brix com média de 73,64 °Brix (Tabela 3). Os sólidos solúveis correspondem ao conteúdo de sólidos presentes na solução de mel, principalmente à concentração de açúcares, o que explica a proximidade entre os valores de °Brix e açúcares redutores observados neste estudo (ver Anexo-2).

Sousa et al. (2016) avaliando méis de abelhas do Gênero *Melipona* do semiárido brasileiro, detectaram o conteúdo de sólidos solúveis variando entre 71,1 °Brix a 74,7 °Brix. Os méis produzidos na região sul do Brasil, apresentaram variação entre 60,10 °Brix a 72,90 °Brix (BILUCA et al., 2016), sendo próximo do resultado constatado nas amostras produzidas por *M. fasciculata* (72,67 °Brix a 74,0 °Brix) (SILVA et al., 2013a).

#### Compostos fenólicos totais e flavonóides totais

As amostras de mel apresentaram conteúdo de compostos fenólicos totais variando entre 115,59e 287,24 mg EAG Kg<sup>-1</sup> e flavonóides totais de 34,81 a 175, mg EQ Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3). As variações podem estar relacionadas ao período e local de coleta, bem como à floração de espécies vegetais distintas e preferências da espécie de abelha. O conteúdo de compostos fenólicos varia conforme a associação de espécies florais visitadas pelas abelhas (AHMED et al., 2013).

Um estudo realizado por Biluca et al. (2016) demonstrou variação superior na composição de compostos fenólicos totais (103,0 mg EAG Kg<sup>-1</sup> a 980,0 mg EAG Kg<sup>-1</sup>), cujo resultado foi associado à influência da distribuição geográfica das diferentes espécies de *Melipona*. Pesquisas semelhantes também descreveram valores superiores de compostos fenólicos totais (1.100 mg EAG Kg<sup>-1</sup> a 1.300 mg EAG Kg<sup>-1</sup>) para *M. subnitida*, cuja variação apresentou relação com o potencial antioxidante e com as espécies florais identificadas no estudo.

Avaliando 13 amostras de mel multiflorais, produzidas por *Melipona favosa* da América do Sul, Vit et al. (2012) relataram teor de compostos fenólicos totais (515 a 2.171 mg EAG Kg<sup>-1</sup>) e flavonóides totais (1 a 815 mg EQ Kg<sup>-1</sup>). Ahmed et al. (2013) encontraram conteúdo de compostos fenólicos totais (639,3 a 953,6 mg GAE Kg<sup>-1</sup>) e flavonóides totais (541,0 a 994,0 mg EQ Kg<sup>-1</sup>). Méis monoflorais estudados por A-Rahaman et al. (2013) apresentaram teor de compostos fenólicos totais (383.79 a 606.17 mg EAG Kg<sup>-1</sup>) e flavonóides totais (49,04 a 183,43 mg EQ Kg<sup>-1</sup>).

#### Ácidos carboxílicos

A determinação de ácidos carboxílicos no mel de abelha sem ferrão consiste em uma abordagem recente, mas pode ser um importante parâmetro

para avaliar a qualidade e indicar o tempo de prateleira deste produto (SILVA et al., 2016a).

Nas amostras de mel analisados foram identificados sete tipos de ácidos carboxílicos, apresentando diferentes concentrações (Tabela 4). No mel, os ácidos carboxílicos equivale a aproximadamente 0,5% da sua composição (KARABGIAS et al., 2014), podendo estar associado à origem do néctar (são encontrados em frutas e vegetais) e/ou à presença de alguns microrganismos (ex.: alguns fungos) (CAVIA et al., 2007).

Vinte e oito percento das ácidos carboxílicos identificados foram detectados em todas as amostras, sendo eles os ácido ascórbico (26,31 e 28,39 mg Kg<sup>-1</sup>) e tartárico (653,82 a 27.280 mg Kg<sup>-1</sup>); 14,4% foram detectados em 94,4% das amostras, representado pelo ácido acético (148,19 a 10.935 mg K<sup>-1</sup>). Além destes, foram encontrados o ácido cítrico (6,79 a 1.718,3 mg Kg<sup>-1</sup>), fumárico (0,44 a 17,52 mg Kg<sup>-1</sup>), maléico (0,55 a 13,52) e succínico (0,11 a 2,47 mg Kg<sup>-1</sup>) (Tabela 4).

O ácido ascórbico possui ação antioxidante (PENICAUD et al., 2010), enquanto o tartárico pode inibir o crescimento de alguns microrganismos (SILVA et al., 2010). O ácido acético indica o nível de fermentação do mel, uma vez que sua presença está relacionada principalmente à ação de leveduras que causam deterioração do produto, conferindo odor e sabor característicos (MATO et al., 2006).

Os valores superiores de ácido ascórbico, tartárico e acético foram constatados nas amostras que apresentaram crescimento de bactérias mesófilas (Tabela 2) e maior acidez (Anexo-2), coletadas no período de 2015. Isso pode ser um indicativo da influência do local e época de coleta, bem como da contaminação microbiológica e da origem floral na composição do néctar (CAMPO et al., 2016), principalmente com relação à concentração de açúcares, componentes envolvidos na formação de ácido acético pela ação de microrganismos (CAVIA et al., 2007). Além disso, o período de armazenamento do mel na colméia pode interferir no conteúdo do ácido acético.

Méis provenientes de diferentes regiões apresentam conteúdo de ácidos carboxílicos diversificado: ácido cítrico (44 a 465 mg kg<sup>-1</sup>) ácido succínico (23,4 a 232 mg Kg<sup>-1</sup>), conforme a origem botânica (DANIELE, MAITRE, CASABIANCA, 2012; SUA'REZ-LUQUE et al., 2002a, 2002b; TEZCAN et al., 2011).

**Tabela 4.** Ácidos carboxílicos identificados nos méis de *Melipona fasciculata* coletados no período de 2015 e 2016 em diferentes locais do Piauí, Brasil.

Ácidos carboxílicos (mg Kg <sup>-1</sup> ) ± IC							
Amostra	AcAs	AcAc	AcS	AcT	AcM	AcC	AcF
MP 1	128,68 ± 0,06	1.145,5 ± 4,73	0,54 ± 0,09	10.671,1 ± 322,8	13,52 ± 0,63	nd	7,75 ± 1,72
MP 2	27,01 ± 0,08	10.935,2 ± 1161,28	0,61 ± 0,03	15.720,4 ± 353,1	nd	577,22 ± 4,76	2,63 ± 0,02
MP 3	79,25 ± 7,13	6.290,0 ± 548,40	nd	9.969,4 ± 296,9	nd	nd	2,93 ± 0,02
MP 4	54,28 ± 2,18	2.741,6 ± 68,26	0,65 ± 0,11	12.370,3 ± 149,4	nd	1.718,3 ± 44,61	nd
MP 5	74,65 ± 3,65	2.772,8 ± 56,70	0,58 ± 0,10	10.871 ± 189,2	nd	nd	5,27 ± 0,93
MP 6	74,82 ± 0,92	527,58 ± 3,31	0,44 ± 0,06	27.280,6 ± 300,1	2,09 ± 0,20	nd	17,52 ± 7,29
GD 7	95,27 ± 0,50	821,69 ± 174,17	0,46 ± 0,03	6.299,5 ± 54,7	nd	nd	2,44 ± 0,28
MP 8	51,45 ± 1,03	544,43 ± 4,64	0,15 ± 0,02	653,82 ± 8,42	0,62 ± 0,01	nd	nd
MP 9	26,31 ± 0,18	nd	0,16 ± 0,02	735,01 ± 5,55	0,57 ± 0,03	nd	0,53 ± 0,03
MP 10	41,42 ± 0,82	929,40 ± 21,97	0,13 ± 0,01	685,94 ± 0,79	nd	6,79 ± 1,20	0,51 ± 0,01
MP 11	34,16 ± 0,98	350,81 ± 10,66	0,13 ± 0,02	704,15 ± 9,13	0,54 ± 0,03	nd	0,55 ± 0,02
MP 12	27,22 ± 1,56	229,87 ± 15,86	2,47 ± 0,41	679,9 ± 21,69	0,83 ± 0,07	6,86 ± 1,39	1,20 ± 0,01
MP 13	29,19 ± 0,34	230,90 ± 16,91	nd	755,73 ± 30,18	0,54 ± 0,04	nd	nd
MP 14	52,08 ± 4,56	426,32 ± 16,80	0,12 ± 0,01	709,77 ± 5,78	0,55 ± 0,04	nd	0,59 ± 0,06
MP 15	44,69 ± 11,50	148,19 ± 10,14	0,12 ± 0,01	703,59 ± 9,57	nd	nd	0,52 ± 0,02
MP 16	57,72 ± 1,51	192,81 ± 9,06	0,15 ± 0,03	678,46 ± 5,28	nd	nd	0,59 ± 0,01
MP 17	109,95 ± 0,88	341,54 ± 3,77	0,25 ± 0,01	778,03 ± 2,65	0,61 ± 0,01	120,86 ± 54,19	0,52 ± 0,01
MP 18	49,15 ± 4,20	850,05 ± 300,38	nd	688,67 ± 11,32	0,55 ± 0,06	20,69 ± 2,81	0,44 ± 0,09
<b>Varição</b>	26,31- 128,69	148,19 -10.935,2	0,12 - 2,47	653,82- 27.280,65	0,54 - 13,52	6,79 - 1.718,3	0,44 - 17,52
<b>Média</b>	58,74	1.637,66	0,39	5.608,66	1,14	136,16	2,45
<b>Desvio padrão ±</b>	29,72	2773,92	0,56	7494,31	3,13	417,80	4,29

IC: intervalo de confiança; MP: Murici dos Portelas; GD: Guadalupe – locais de coleta; AcAs: ácido ascórbico; AcAc: ácido acético; AcS: ácido succínico; AcF: ácido fumárico; AcC: ácido cítrico; AcT: ácido tartárico.

Os resultados do presente estudo são semelhantes aos descritos por Svecová et al. (2015) ao caracterizarem méis provenientes da República Checa, apresentando variação de ácido acético ( $620 \text{ mg Kg}^{-1}$  a  $16.610 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), cítrico ( $120 \text{ mg Kg}^{-1}$  a  $3.310 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), succínico ( $460 \text{ mg Kg}^{-1}$  a  $3.930 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) e ácido fumárico ( $0$  a  $24.030 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). Campo et al. (2016) observaram variações diferentes nos méis provenientes da Espanha: ácido cítrico ( $< 9,2$  a  $632,0 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), ácido acético ( $46,0 \text{ mg Kg}^{-1}$  a  $908 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) e ácido succínico ( $13,0 \text{ mg Kg}^{-1}$  a  $434,0 \text{ mg Kg}^{-1}$ ).

#### Correlação entre os parâmetros físico-químicos

Considerando todas as características físico-químicas das amostras de mel avaliadas, observa-se na Tabela 5 uma correlação positiva entre a acidez e açúcares redutores, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, acético, succínico, fumárico e tartárico, assim como entre açúcares redutores e ácido acético e ácido tartárico, compostos fenólicos totais com ácido ascórbico e ácido fumárico e, entre o ácido acético e tartárico. Diferentes substâncias presentes no mel estão associadas ao aumento da acidez, tais como ácidos carboxílicos pela dissolução de íons hidrogênio, com redução do valor de pH (CORNEJO, 1988; MATO et al., 2006) e compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) doadores de prótons, contribuindo na acidificação do meio (A-RAHAMAN et al., 2013).

A literatura relata que o aumento da acidez ocorre a partir da conversão de açúcares a ácidos carboxílicos, por ação enzimática e microbiana (JOSEPH et al., 2007; MOREIRA et al., 2007), por consequência, o conteúdo de açúcar reduz enquanto ocorre o aumento da acidez, sendo observado no presente estudo uma relação contrária, possivelmente outros fatores podem estar envolvidos na acidificação dos méis, como a composição do néctar que influencia na presença de ácidos carboxílicos e minerais.

Correlações negativas foram observadas entre a umidade e ácido tartárico, pH e ácido cítrico, atividade diastásica com ácido succínico e tartárico, sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) com açúcares redutores e compostos fenólicos totais. Esse tipo de correlação é constatada quando há aumento de uma variável e diminuição de outra. Nesse caso, os parâmetros citados são inversamente relacionados.



**Tabela 5.** Coeficientes de correlação de Spearman entre os parâmetros físico-químicos de amostras de mel da *Melipona fasciculata*, provenientes do Piauí, Brasil.

Variável	UMI	pH	ACI	HMF	DIA	BRIX	ARED	SAC	FEN	FLA	AcAs	AcAc	AcM	AcS	AcF	AcC	AcT	COR
UMI	-																	
pH	-0,26 <sup>NS</sup>	-																
ACI	-0,46 <sup>NS</sup>	-0,43 <sup>NS</sup>	-															
HMF	0,05 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	-														
DIA	0,31 <sup>NS</sup>	0,19 <sup>NS</sup>	-0,45 <sup>NS</sup>	-0,24 <sup>NS</sup>	-													
BRIX	-0,08 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	-0,36 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>	-												
ARED	-0,21 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	<b>0,55*</b>	-0,27 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	<b>-0,47*</b>	-											
SAC	-0,12 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	0,35 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,42 <sup>NS</sup>	-										
FEN	-0,18 <sup>NS</sup>	-0,32 <sup>NS</sup>	<b>0,52*</b>	0,14 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	<b>-0,50*</b>	0,30 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-									
FLA	-0,06 <sup>NS</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	-0,32 <sup>NS</sup>	-0,24 <sup>NS</sup>	-0,41 <sup>NS</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	-								
AcAs	-0,37 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>	<b>0,53*</b>	0,22 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	0,27 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	<b>0,66**</b>	-0,08 <sup>NS</sup>	-							
AcAc	-0,46 <sup>NS</sup>	-0,23 <sup>NS</sup>	<b>0,71**</b>	-0,23 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	-0,31 <sup>NS</sup>	<b>0,53*</b>	-0,29 <sup>NS</sup>	0,32 <sup>NS</sup>	0,39 <sup>NS</sup>	0,32 <sup>NS</sup>	-						
AcM	0,18 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,27 <sup>NS</sup>	0,25 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>	-0,22 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	-0,29 <sup>NS</sup>	-					
AcS	-0,30 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	<b>0,47*</b>	0,02 <sup>NS</sup>	<b>-0,57*</b>	-0,29 <sup>NS</sup>	0,31 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	0,24 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	-				
AcF	-0,44 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	<b>0,50*</b>	0,19 <sup>NS</sup>	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,31 <sup>NS</sup>	0,41 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	<b>0,50*</b>	0,16 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>	0,30 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	0,37 <sup>NS</sup>	-			
AcC	0,25 <sup>NS</sup>	<b>-0,63</b>	0,29 <sup>NS</sup>	-0,27 <sup>NS</sup>	-0,46 <sup>NS</sup>	-0,32 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	-0,21 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,31 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>	-0,32 <sup>NS</sup>	-		
AcT	<b>-0,61**</b>	-0,17 <sup>NS</sup>	<b>0,77</b>	-0,07 <sup>NS</sup>	<b>-0,49*</b>	-0,38 <sup>NS</sup>	<b>0,62**</b>	-0,07 <sup>NS</sup>	0,44 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	0,35 <sup>NS</sup>	<b>0,53*</b>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,40 <sup>NS</sup>	0,51*	0,11 <sup>NS</sup>	-	
COR	0,18 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,22 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	0,39 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,45 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	-

NS - não significativo. \* significativo a 5%, \*\* significativo a 1%. UMI: umidade (%), pH: pH; ACI: acidez; HMF: Hidroximetilfurfural; DIA: atividade diastásica; SST: sólidos solúveis totais; ARED: açúcar redutor; SAC: sacarose aparente; FEN: fenóis totais; FLA: flavonóides totais; AcAs: ac. ascorbico; AcAc: ac. acético; AcM: Ac. maléico; AcS: ac. succínico; AcF: ac. fumárico; AcC: ac. cítrico; AcT: ac. tartarico.

Esses resultados possivelmente se devem à alteração da quantidade de água pela presença de ácidos carboxílicos, os quais por sua vez podem interferir na variação do pH, além de serem influenciados pela atividade enzimática do mel.

No presente estudo não foi observado uma correlação entre compostos fenólicos e cor, embora em outros estudos tenha sido verificado uma correlação positiva (BERTONCELJ et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012), visto estas substâncias serem provenientes do néctar e estarem associadas à pigmentação de espécies vegetais, influenciando na cor do mel. Entretanto, alguns desses compostos são incolores e não influenciam nesta característica (SILVA et al., 2016a). Além disso, outros componentes podem ter influenciado na coloração das amostras, como por exemplo, os minerais (SOUSA et al., 2016).

## Conclusão

A maioria das amostras de mel de *M. fasciculata* respondeu positivamente aos testes de qualidade, indicando que estas foram coletadas, envasadas e armazenadas em condições higiênicas sanitárias e ambientais adequadas, validando o seu consumo como alimento. A determinação dos ácidos carboxílicos como uma abordagem recente no mel de *M. fasciculata* é um procedimento que poderá contribuir para caracterizar as especificidades do mel de *Melipona*.

## Referências

ADAB. Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. Portaria nº 207 de 21 de novembro de 2014. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, gênero *Melipona*. **Decreto nº 9.023 de março de 2004** e Art. 174, Parágrafo Único, 26 de nov. 2014.

AHMED, M.; DJEBLI, N.; AISSAT, S.; ZERROUKI, K.; BOURABEH, A. In vitro synergistic antibacterial activity of natural honey combined with curcuma starch and their correlation with diastase number, flavonoid and polyphenol content. **Journal Plant Pathology and Microbiology**, v. 4, n. 152, p. 2, 2013.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; MATSUDA, A.H. Physicochemical parameters of Amazon *Melipona* honey. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 707-708, 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. S; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.

AMARANTE, D. O.; SILVA, J. L. S.; ROCHA, R. S.; MENEZES, F. G. R.; SOUSA, O. V. **Protocolo de isolamento e seleção de estirpes bacterianas do gênero *Bacillus* com potencial probiótico para uso em carcinicultura**. In: Encontros Universitários UFC. VIII Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação, 2015.

ALVES, R.M. O.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L.C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 644-650, 2005.

ALVES, T. T. L.; MENESES, A. R. V.; SILVA, J. N.; PARENTE, G. D. L.; HOLANDA NETO, J. P. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do Nordeste brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 3, p. 91-97, 2011.

A.O.A.C - Association of Official Analytical Council. **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 1990, 2 ed., 1018p.

A.O.A.C. - Association of Official Analytical Chemist. In: W. HORWITZ (Ed.). Gaithersburg, MD, USA: **Association of Official Analytical Chemists**, 2005, 18 ed.

A-RAHAMAN, N. L.; CHUA, L. S.; SARMIDI, M. R.; AZIZ, R. Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia. **Agricultural Sciences**, v. 4, n. 5, p. 46, 2013.

ATAGO Co. Refratômetro para mel. **Abelhas**. Porto, v. 31, n. 362/363, p. 9,11-12, 41, 44, 1988.

BARROS, H. D.; BATISTA, E. Avaliação físico-química e microbiológica de diferentes marcas de mel. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 166/167, p. 76-79, 2008.

BERA, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 49-52, 2007.

BERTONCELJ, J., DOBERSEK, U., JAMNIK, M., GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 822-828, 2007.

BILUCA, F. C.; DELLA BETTA, F.; OLIVEIRA, G. P.; PEREIRA, L. M.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61-69, 2016.

BORSATO, D. M.; PRUDENTE, A. S.; DÖLL-BOSCARDIN, P. M.; BORSATO, A. V.; LUZ, C. F.; MAIA, B. H.; MIGUEL, O. G. Topical anti-inflammatory activity of a monofloral honey of *Mimosa scabrella* provided by *Melipona marginata* during winter in Southern Brazil. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 7, p. 817-825, 2014.

BUBA, F. GIDADO, A.; SHUGABA, A. Physicochemical and microbiological properties of honey from North East Nigeria. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 2, n. 142, p. 1-7, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, Seção 1, p. 16-17, 23 de out. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001

CAMPO, G. D.; ZURIARRAIN, J.; ZURIARRAIN, A.; BERREGI, I. Quantitative determination of carboxylic acids, amino acids, carbohydrates, ethanol and hydroxymethylfurfural in honey by H NMR. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1031-1039, 2016.

CARVALHO C. A. L.; ALVES R. M. O.; SOUZA B.A.; VÉRAS S. O.; ALVES, E, M.; SODRÉ, G.S. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do Gênero *Melipona*. In.: VIT, P.; ROUBIK, D. W (Eds.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Venezuela: FFB, 2013, p. 1-9.

CAVIA, M. M.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. A.; ALONSO-TORRE, S. R.; HUIDOBRO, J. F.; SANCHO, M. T. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. **Food chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1728-1733, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Alinorm 41/10: revised standard for honey. **Alinorm**, v. 1, p. 19-26, 2001.

DANIELE, G.; MAITRE, D.; CASABIANCA, H. Identification, quantification and carbon stable isotopes determination of organic acids in monofloral honeys. A powerful tool for botanical and authenticity control. **Rapid Communications in Mass spectrometry**, v. 26, p. 1993-1998, 2012.

DARDÓN, M. J.; ENRÍQUEZ, E. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala, **Interciencia**, v. 33, n. 12, p. 916-922, 2008.

DELL STATISTICA (Data Analysis Software System), version 13. software.dell.com, 2016.

ESCUREDO, O.; DOBRE, I.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food chemistry**, v.149, p. 84-90, 2014.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S. DA ; BESERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba, **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1166-1171, 2005.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649-1653, 2007.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microrganismos patogênicos de importância em alimentos**. In: FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M (Eds.). Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2006.

GOIS, G. C.; CARNEIRO, G. G.; RODRIGUES, A. E.; OLIVEIRA SILVA, E.; CAMPOS, F. S. Qualidade microbiológica do mel de abelhas *Melipona scutellaris*. **Pubvet**, v. 4, n. 9, p. 766-772, 2010.

GOOD, A. P.; GAUTHIER, M. P. L.; VANNETTE, R. L.; FUKAMI, T. Honey bees avoid nectar colonized by three bacterial species, but not by a yeast species, isolated from the bee gut. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. e86494, 2014.

HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C.P.; RIBEIRO, M. N. DE S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado Maranhense. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 55-58, 2012.

HOLANDA, C. A.; BRANDÃO, C. M.; SOUZA, J. L.; RIBEIRO, M. N. DE S.; ALVES, L. M. C.; COSTA, M. C. P. Quality and estimative of time-consuming of tiúba Honey (*Melipona fasciculata* Smith) Produced in cerrado region from Maranhão State, Brasil. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 53, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, 3 ed., 2008, 1020p.

ISO15213. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions. In: **International Standards Organization**: Winterthur, Switzerland, 2003.

ISO 21527-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds-part 2: Colony Count technique in products with water activity less than or Equal to 0.95. In 21527-2; **International Standards Organization**: Winterthur, Switzerland, 2006.

JONES, L. Organic acids in the rhizosphere—a critical review. **Plant and Soil**, v. 205, n. 1, p. 25-44, 1998.

JOSEPH, T.; JULIUS, A-N.; FLORENCE A, F.; DELPHINE, D. N.; JONNAS, P.; ANTOINE, M. Z. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, p. 908-913, 2007.

KARABAGIAS, I. K.; BADEKA, A.; KONTAKOS, S.; KARABOURNIOTI, S.; KONTOMINAS, M. G. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 146, p. 548-557, 2014.

KERR, W.E. **Biologia e manejo da tíuba, a abelha do Maranhão**. São Luís: Edufma, 1996. 156p.

KUMUL, R. C.; RUIZ, J. C. R.; VÁZQUEZ, E. O.; CAMPOS, M. R. S. Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. 4, p. 1432-1442, 2015.

LANE, J.H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by fehling's solution with methylene blue**. London: Normam Rodge, 1934, 8p.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. da S.; MORETI, A.C. de C. C. **Mel brasileiro: com-**

**posição e normas.** Ribeirão Preto: ASP, 2004, 111p.

MEIRELES, S.; CANÇADO, I. A. C. Mel: parâmetros de qualidade e suas implicações para a saúde. **Revista Digital FAPAM**, v. 4, n. 4, p. 207-219, 2016.

MONETTO, A. M.; FRANCAVILLA, A.; RONDINI, A.; MANCA, L.; SIRAVEGNA, M.; FERNANDEZ, R. A study of botulinum spores in honey. **Anaerobe**, v. 5, n. 3-4, p. 185–186, 1999.

MONTE, A. M.; AZEVEDO, M. L. X.; FILHO, F. DAS C. C.; RODRIGUES, A. M. D.; MOURA, S. G. DE.; MURATORI, M. C. S. Qualidade de méis de abelhas nativas sem ferrão do Estado do Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 48–54, 2013.

MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M. T. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1541-1550, 2006.

MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B.; PIETROLUONGO, M.; TRUGO, L. C. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1236-1241, 2007.

NASCIMENTO, A.; MARCHINI, L.; CARVALHO, C.A.L.; ARAÚJO, DIOGO ; OLINDA, RICARDO ; SILVEIRA, TALITA . Physical-chemical parameters of honey of stingless bee (Hymenoptera: Apidae). **American Chemical Science Journal**, v. 7, p. 139-149, 2015.

NWEZE, J. A.; OKAFOR, J. I.; NWEZE, E. I.; NWEZE, J. E. Comparison of antimicrobial potential of honey samples from *Apis mellifera* and two stingless bees from Nsukka, Nigeria. **Journal Pharmacognosy & Natural Products**, v. 2, n. 4, p. 2472-0992, 2016.

ODDO, L. P.; HEARD, T. A.; RODRÍGUEZ-MALAVAR, A.; PÉREZ, R. A.; FERNÁNDEZ-MUIÑO, M.; SANCHO, M. T.; VIT, P. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. **Journal of medicinal Food**, v. 11, n. 4, p. 789-794, 2008.



OLIVEIRA, E. G.; NASCIMENTO, A. R.; COSTA, M. C. P.; MONTEIRO NETO, V. Qualidade microbiológica do mel de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith) produzido no Estado do Maranhão. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 133, p. 92-99, 2005.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C. S.; DANTAS, K. D. G. F.; ALVES, C. N. Ácidos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

PIMENTEL, R. B. Q.; COSTA, C. A.; ALBUQUERQUE, P. M.; JUNIOR, S. D. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manaosensis* and commercial honey. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 151, 2013.

POPPI, L. B. ; RIVALDI, J.D ; COUTINHO, T. S. ; ASTOLFI-FERREIRA, C. S. ; FERREIRA, A. J. P. ; MANCILHA, I. M. . Effect of *Lactobacillus* sp. isolates supernatant on *Escherichia coli* O157:H7 enhances the role of organic acids production as a factor for pathogen control. **Pesquisa Veterinária Brasileira** (Online), v. 35, n. 4, p. 353-359, 2015.

RAGAZANI, A. V. F.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; GARCIA, G. R.; DELFINO, T. P. C.; POIATTI, M. L.; BERCHIELLI, S. P. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 396-399, 2008.

SANTOS, J. S., SANTOS, M. L. P., AZEVEDO, A. S. Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 540-544, 2014.

SCHERER, R.; RYBKA, A. C. P.; GODOY, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1137-1140, 2008.

SILVA, A. S.; ALVES, C. N.; FERNANDES, K. G.; MÜLLERD, R. C. S. Classification of Honeys from Pará State (Amazon Region, Brazil) produced by three different species of bees using chemometric methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 7, p. 1135-1145, 2013a.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; NOVAES, J. S.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 10, n. 29, 2013b.

SILVA, P. M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016a.

SILVA, K. D. N.; BARBOSA, R. Do N.; OLIVEIRA, P. De A.; CAVALCANTE, M. C.; MELO, H. F. Inhibition of pathogens by sporogenic bacteria isolated from honey of *Melipona* sp. (Apidae: apinae: Meliponini). **Revista Caatinga**, v. 29, n. 4, p. 1021-1027, 2016b.

SODRÉ, G. D. S., MARCHINI, L. C., MORETI, A. C. D. C. C., OTSUK, I. P., & CARVALHO, C. A. L. D. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1837-1843, 2011.

SOUSA, J. M. B.; AQUINO, I. DE S.; MAGNANI, M.; ALBUQUERQUE, J. RODRIGUES DE; SANTOS, G.G. DOS; SOUZA, E. L. Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de abelhas sem ferrão da região do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1765-1774, 2013.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; TOLEDO BENASSI, M.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT- Food Science and Technology**, v. 65, p. 645–651, 2016.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.

SOUZA, B.; ROUBIK, D.; BARTH, O. M.; HEARD, T.; ENRIQUEZ, E.; CARVALHO, C.; VILLAS-BOAS, J.; MARCHINI, L. C.; LOCATELLI, J.; PERSANO-ODDO, L.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BOGDANOV, S.; VIT, P.; SOUZA, R. C. S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L. Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, n. 12, p. 867-875, 2006.

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

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SVECOVÁ, B.; BORDOVSKÁ, M.; KALVACHOVÁ, D.; HAJEK, T. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 80-88, 2015.

SUAREZ-LUQUE, S.; MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J. Solid-phase extraction procedure to remove organic acids from honey. **Journal of Chromatography B**, v. 770, n. 1, p. 77–82, 2002a.

SUAREZ-LUQUE, S., MATO, I., HUIDOBRO, J. F., SIMAL-LOZANO, J., SANCHO, T. Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 955, n. 2, p. 207-214, 2002b.

TEZCAN, F.; KOLAYLI, S.; ULUSOY, H. S. E.; ERIM, F. B. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 50, p. 33-40, 2011.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

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

VALSECHI, O. A. **Microbiologia dos alimentos**. Araras: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2006, 49p.

VÁSQUEZ, A.; FORSGREN, E.; FRIES, I.; PAXTON, R. J.; FLABERG, E.; SZEKELY, L.; OLOFSSON, T. C. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. **Plos One**, v. 7, n. 3, p. e33188, 2012.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V.; **Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações**, ITC Roberto Rios: Barretos, 1984, p. 95.

VIT, P.; MEJÍAS, A.; RIAL, L.; RUIZ, J.; PEÑA, S.; GONZÁLEZ, A. C.; ARRÁEZ, M. conociendo la miel de *Melipona favosa* en la Península de Paraguaná, Estado Falcón, Venezuela. **Revista del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”**, v. 43, n. 1, 2012.

**ARTIGO 3****COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS ENTRE  
OS MÉIS DE *Melipona subnitida* E *Melipona fasciculata* DA  
REGIÃO SEMIÁRIDA DO BRASIL<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Food Chemistry*, em versão na língua inglesa.

## COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS ENTRE OS MÉIS DE *Melipona subnitida* E *Melipona fasciculata* DA REGIÃO SEMIÁRIDA DO BRASIL

**Resumo:** As características físico-químicas do mel variam conforme a espécie de abelha, clima, região, período de coleta, processamento e armazenamento. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi realizar um estudo comparativo das características físico-químicas dos méis de *M. subnitida* e *M. fasciculata*, coletados em diferentes épocas e regiões do Estado do Piauí e verificar como as amostras estão agrupadas. Foram analisadas um total de 29 amostras de méis (*M. subnitida* (11) e *M. fasciculata* (18)), coletadas entre os meses de julho e outubro de 2015 e março de 2016, nos municípios de Murici dos Portelas, Cajueiro da Praia, Guadalupe e Parnaíba, Piauí, Brasil. As amostras foram avaliadas pela associação de técnicas estatísticas (estatística descritiva e comparativa, análise de componentes principais e de agrupamento) com análises físico-químicas (umidade, pH, acidez, HMF, atividade diastásica, açúcares redutores, sacarose aparente, cor, sólidos solúveis totais, compostos fenólicos e flavonóides totais, e ácidos carboxílicos). Setenta e sete percento das amostras não diferiram significativamente entre os parâmetros avaliados, as demais 22,22% foram altamente significativas a 1% para açúcares redutores e significativa a 5 % para HMF, cor e ácido acético. O estudo das componentes principais não foi satisfatório para explicar a variação entre as amostras. Avaliando a época de coleta, os méis de *M. subnitida* e *M. fasciculata* apresentaram diferenças entre si, sendo explicadas pela acidez, pH, compostos fenólicos totais, ácido fumárico, HMF e cor. O estudo revelou similaridade entre os parâmetros físico-químicos dos méis das duas espécies de abelhas, além disso, a época foi um dos fatores determinantes na formação de agrupamentos.

**Palavras-chave:** Abelhas sem ferrão; ácidos carboxílicos; produtos das abelhas.

## COMPARISON OF PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS BETWEEN THE HONEYS OF *Melipona subnitida* AND *Melipona fasciculata* OF THE SEMI-ARID REGION OF BRAZIL

**Abstract:** The physicochemical characteristics of honey vary according to bee species, climate, region, period of collection, processing and storage. In this context, the aim of this work was to perform a comparative study of the physicochemical characteristics of *M. subnitida* and *M. fasciculata* honeys collected at different times and regions of the State of Piauí and to verify how the samples are grouped. A total of 29 honey samples (*M. subnitida* (11) and *M. fasciculata* (18)), collected between July and October of 2015 and March of 2016, were analyzed in the counties of Murici dos Portelas, Cajueiro da Praia, Guadalupe and Parnaíba, Piauí, Brazil. The samples were evaluated by the association of statistical techniques (descriptive and comparative statistics, principal components analysis and cluster) with physico-chemical analyzes (moisture, pH, acidity, HMF, diastase activity, reducing sugars, apparent sucrose, color, soluble solids total, phenolic compounds, total flavonoids and carboxylic acids). Seventy-seven percent of the samples did not differ significantly between the evaluated parameters, the remaining 22.22% were highly significant at 1% for reducing sugars and significant at 5% for HMF, color and acetic acid. The study of the principal components was not satisfactory to explain the variation between samples. Evaluating the collection season, the honeys of *M. subnitida* and *M. fasciculata* presented differences among themselves, being explained by acidity, pH, total phenolic compounds, fumaric acid, HMF and color. The study revealed similarity between the physical-chemical parameters of honeys of two species of bees, in addition, the time was one of determining factors in the formation of clusters.

**Keywords:** Stingless bees; carboxylic acids; bees products.

## Introdução

O Brasil possui uma diversidade de espécies de abelhas sem ferrão, (meliponíneos) que representam importância econômica e socioambiental nas diferentes regiões onde se encontram distribuídas (KERR, 1997). No território nacional predominam clima e vegetação diversificados que viabiliza a criação técnica dessas abelhas, bem como a produção e comercialização de mel com características diferenciadas (JAFFÉ et al., 2015).

A região Nordeste do Brasil apresenta potencial para produção de mel, principalmente pela flora diversificada (típica da faixa de transição entre caatinga, cerrado e restingas) que garante o fornecimento de néctar e pólen o ano inteiro e pela presença de diversas espécies de abelhas pertencentes ao Gênero *Melipona*, conhecidas por serem as mais produtivas e criadas por pequenos produtores rurais (KOFFLER et al., 2015; SOUSA et al., 2016).

O mel de meliponíneos é considerado uma solução concentrada de açúcares, com predominância de frutose e glicose, além de outros componentes como polifenóis, proteínas, minerais, ácidos orgânicos, compostos aromáticos e pólen (ADAB, 2014). Essa composição pode variar a depender da origem do néctar, espécie entomológica, região de produção e condições meteorológicas (OLIVEIRA et al., 2012a).

Considerando a influência de diferentes fatores na composição do mel e a escassez de estudos, existe a necessidade de obter informações acerca das características físico-químicas de grupos de méis produzidos por diferentes espécies de abelhas, como forma de conhecer as suas particularidades, buscando a definição de padrões de qualidade e identidade do mel de meliponíneos (CARVALHO et al., 2013).

Dentre as espécies de meliponas, destacam-se a *Melipona subnitida* (jandaíra) criada com frequência por meliponicultores na região Nordeste (CAVALHO, KOEDAM, IMPERATRIZ-FONSECA, 2014) e a *M. fasciculata*, cuja criação contribui no rendimento financeiro para famílias de baixo poder aquisitivo (HOLANDA et al., 2015; RIBEIRO, ALBUQUERQUE, LUZ, 2016). Essas espécies apresentam valor comercial, principalmente pela produção de mel, apreciado pelo sabor diferenciado, conferido por suas características físico-químicas (HOLANDA



et al., 2012; SILVA et al., 2013b) e pelas propriedades terapêuticas (OLIVEIRA et al., 2012a; SOUSA et al., 2016).

Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi realizar um estudo comparativo das características físico-químicas dos méis produzidos por duas espécies de abelhas sem ferrão, *Melipona subnitida* e *M. fasciculata*, na região semiárida do Brasil e verificar como as amostras estão agrupadas

## Material e métodos

### Local de coleta e amostragem

O presente estudo avaliou 29 amostras de mel de *Melipona subnitida* (11) e *M. fasciculata* (18), coletadas diretamente de meliponicultores, nos meses de julho e outubro de 2015 e março de 2016, nos municípios de Murici dos Portelas, Cajueiro da Praia, Guadalupe e Parnaíba, situados na faixa de transição entre a vegetação de cerrado e litoral, Piauí, Brasil. De forma asséptica os méis foram coletados e armazenados em recipientes plásticos estéreis, transportados em caixa térmica refrigerada e encaminhados ao Núcleo de Estudos dos Insetos – INSECTA da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no Centro de Ciências, Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), no campus de Cruz das Almas.

### Caracterização das amostras

A caracterização físico-química dos méis foi realizada a partir da determinação dos parâmetros: umidade (ATAGO Co, 1988), açúcares redutores e sacarose aparente (LANE, EYON, 1934, com modificações de MARCHINI et al., 2004), sólidos solúveis totais (A.O.A.C. 2005), pH e acidez livre (A.O.A.C., 1990), hidroximetilfurfural (HMF) (A.O.A.C., 1990), atividade diastásica (A.O.A.C., 1990) e cor (VIDAL, FREGOSI, 1984), além da determinação de compostos fenólicos totais (SINGLETON, ORTHOFER, LAMUELA-RAVENTOS, 1999), flavonóides totais (WOISKY, SALATINO, 1998) e ácidos carboxílicos (SANTOS, SANTOS, AZEVEDO, 2014).

As amostras de mel de ambas as espécies foram obtidas em três épocas distintas: E1 = época 1 ( julho, 2015); E2 = época 2 (outubro, 2015); e E3 = época 3 (março, 2016).

### Análises estatísticas

Foram utilizadas ferramentas da Estatística Descritiva e para comparar as variáveis entre as espécies, o teste de Mann-Whitney (U). Este teste consiste na estatística não paramétrica, utilizada quando os dados não apresentam distribuição normal e dispõe de pequenas amostras. É indicado para comparar dois grupos não pareados (diferentes números de observações) e verificar se pertencem ou não à mesma população, testando a igualdade das medianas (DELL INC., 2016).

Os resultados também foram analisados pelo método de componentes principais, *Biplot* (GABRIEL, 1971) e análise de agrupamento (Método de Ward) considerando as características físico-químicas gerais das amostras de mel, por espécie, local e época de coleta. Devido ao grande número de variáveis medidas em unidades diferentes, as análises foram realizadas a partir de dados padronizados.

A análise de componentes principais (ACP) consiste em transformar, a partir da matriz de correlação, um conjunto de variáveis em um novo conjunto de  $p$  variáveis não correlacionadas entre si e que explicam a variância total observada entre os dados (REGAZZI, 2002). Esse critério estabelece que o número de variáveis descartadas deve ser igual ao de componentes cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7. As análises foram realizadas pelo software Statistica (DELL INC., 2016).

A análise de agrupamento das características para obtenção do dendograma utilizou a distância euclidiana média e o método Ward para três épocas de coleta do mel, duas espécies de abelhas e quatro regiões.

### Resultados e discussão

Os resultados da análise de variância em relação aos parâmetros físico-químicos avaliados nos méis de *M. fasciculata* e *M. subnitida*, estão representados na Tabela 1. Foi constatado que as amostras de mel não diferiram

significativamente em 77,77% dos parâmetros avaliados, ou seja, são estatisticamente semelhantes. Diferiram significativamente apenas em 22,22%, sendo altamente significativo a 1% para concentração de açúcares redutores e significativo a 5 % para o conteúdo de hidroximetilfurfural, ácido acético e cor. O ácido acético associado aos açúcares redutores podem influenciar na reação de Maillard, que por consequência, influencia no HMF e cor. Estes parâmetros estão associados à qualidade do mel e podem ser influenciados por fatores externos (temperatura, umidade - período de coleta e armazenamento) ou crescimento microbiano, estando as duas espécies de abelhas submetidas às condições ambientais semelhantes.

Os açúcares redutores influenciam no valor energético do mel, caracterizando como uma fonte de energia imediata (PERALTA, UETANABARO, LUCCHESI, 2015). Um valor energético elevado pode propiciar um meio com elevada pressão osmótica, reduzindo a atividade de água ( $A_w$ ) o que pode dificultar o desenvolvimento de microrganismos e, conseqüentemente favorece maior tempo de prateleira do mel (KUROISHI et al., 2012).

Svecová et al. (2014) relataram que o teor de HMF no mel varia conforme a origem geográfica, bem como as condições de armazenamento. Quanto ao ácido acético, este pode variar conforme a composição do néctar e a presença de microrganismos que utilizam os açúcares como fonte de energia, influenciando no sabor e aroma (SVECOVÁ et al., 2015).

No geral, a cor variou do branco a âmbar (Tabela 1) e certamente está associada à espécie floral e nível de maturação, conforme Lacerda et al. (2010). Avaliando diferentes espécies do Gênero *Melipona*, Silva et al. (2013a) verificaram que são estatisticamente semelhantes com relação à cor dos méis, cuja característica está associada às condições climáticas da região e composição do néctar.

Variações significativas do conteúdo de HMF foi relatada por Belay et al. (2013) entre méis coletados em diferentes colméias, não havendo distinção das regiões de coleta. Sousa et al. (2016) observaram diferença significativa entre méis de *Melipona subnitida* e *M. scutellaris* com relação à quantidade de açúcares redutores e cor, variando conforme a espécie entomológica e origem botânica. Em outros casos, também foi constatado diferenças significativas entre amostras

**Tabela 1.** Valores medianos das variáveis físico-químicas de amostras de mel da *Melipona fasciculata* e *M. subnitida*, provenientes da região semiárida do Brasil.

Variáveis	<i>M. fasciculata</i>	<i>M. subnitida</i>	Valor de U	Valor de p
Umidade (%)	27,20 (26,39 - 27,92)	27,20 (26,77 - 27,47)	92,00	0,77 <sup>NS</sup>
pH	3,48 (3,43 - 3,65)	3,63 (3,29 - 3,86)	81,00	0,43 <sup>NS</sup>
Acidez (meq Kg <sup>-1</sup> )	23,16 (16,33 - 33,45)	28,33 (23,33 - 37,00)	70,50	0,21 <sup>NS</sup>
HMF (mg Kg <sup>-1</sup> )	2,02 (1,12 - 2,37)	4,44 (2,00 - 8,42)	52,50	0,04*
AD (Gothe)	0,04 (0,04 - 0,06)	0,05 (0,04 - 0,06)	98,50	1,00 <sup>NS</sup>
SST (°Brix)	72,10 (71,17 - 77,67)	71,00 (70,00 - 73,80)	72,50	0,24 <sup>NS</sup>
ARED (%)	69,30 (67,53 - 71,37)	72,04 (71,25 - 76,14)	41,00	<0,01**
SAC (%)	1,74 (0,74 - 2,78)	1,15 (0,99 - 3,12)	99,00	1,00 <sup>NS</sup>
FEN (mg Kg <sup>-1</sup> )	201,61 (175,07 - 227,10)	121,85 (78,33 - 135,73)	72,50	0,24 <sup>NS</sup>
FLA (mg Kg <sup>-1</sup> )	121,85 (78,33 - 135,73)	86,67 (60,94 - 105,19)	59,50	0,08 <sup>NS</sup>
AcAs (mg Kg <sup>-1</sup> )	51,77 (32,91 - 75,92)	75,06 (33,62 - 116,98)	84,00	0,52 <sup>NS</sup>
AcAc (mg Kg <sup>-1</sup> )	536,00 (229,87 - 1006,45)	3584,3 (1006,45 - 8079,17)	48,50	0,02*
AcM (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,55 (0,00 - 0,61)	0,00 (0,00 - 0,89)	82,00	0,41 <sup>NS</sup>
AcS (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,16 (0,12 - 0,55)	0,45 (0,14 - 0,50)	92,50	0,78 <sup>NS</sup>
AcF (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,57 (0,50 - 2,71)	0,80 (0,00 - 6,82)	98,00	0,97 <sup>NS</sup>
AcC (mg Kg <sup>-1</sup> )	0,00 (0,00 - 10,32)	0,00 (0,00 - 13,00)	99,00	1,00 <sup>NS</sup>
AcT (mg Kg <sup>-1</sup> )	745,37 (687,99 - 10721,12)	9864,71 (759,66 - 16470,47)	62,00	0,10 <sup>NS</sup>
Cor (Pfund)	0,53 (0,40 - 0,63)	0,33 (0,15 - 0,52)	52,00	0,04*

NS - não significativo. \* significativo a 5%, \*\* significativo a 1%; \* Teste de Mann-Whitney. Mediana e percentis 25 e 75 entre parênteses.

(HMF: hidroximetilulfulfural; AD: atividade diastásica; SST: sólidos solúveis totais; ARED: açúcares redutores; SAC: sacarose aparente; FEN: fenóis totais; FLA: flavonóides totais; AcAs: ácido ascórbico; AcAc: ácido acético; AcM: ácido maléico; AcS: ácido succínico; AcF: ácido fumárico; AcC: ácido cítrico; AcT: ácido tartárico).

de mel com relação ao conteúdo de açúcares redutores (ESCUREDO et al., 2014; BILUCA et al., 2016).

A Tabela 2 mostra a variância (autovalores) explicada e acumulada para cada uma dos oito componentes principais. Os primeiros componentes respondem pela maior parte da variância (39%). Em virtude da baixa porcentagem (39%) observada, este modelo não explica de forma satisfatória a variabilidade, sendo necessários oito componentes para explicar 83% da variabilidade apresentada pelos grupos de mel.

Utilizando a análise de componentes principais dos méis produzidos por *M. scutellaris* e *M. quadrifasciata*, provenientes do Estado da Bahia, Sodré et al. (2008) constataram que a separação das amostras ocorreu conforme o tipo de tratamento térmico aplicado (processo de desumidificação), não sendo exclusivamente de acordo com a espécie entomológica.

Observando a análise de componentes principais, verificou-se que as variáveis que tem maior peso no primeiro componente (CP1) que modela 22,17% da informação, é uma combinação positiva entre acidez; compostos fenólicos totais e ácido fumárico e no CP2 que corresponde a 16,83% é representada pelo pH e HMF positivamente e cor negativamente (Tabela 3).

**Tabela 2.** Estimativa das variâncias (autovalores) e porcentagem acumulada da variância total (%), obtidas pela análise de componentes principais considerando-se 29 amostras de mel de espécies de *Melipona* produzidos na região semiárida do Brasil e 18 características avaliadas.

Componentes principais	Autovalores	% Acumulada
1	3,99	22,17
2	3,03	39,00
3	2,15	50,96
4	1,66	60,18
5	1,41	68,00
6	1,09	74,09
7	0,99	79,56
8	0,75	83,75

**Tabela 3.** Autovetores calculados para amostras de mel (29) de espécies de *Meliponada* região semiárida do Brasil.

Variáveis	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8
UMI	-0,0521	-0,1459	-0,2745	0,3440	0,0651	<b>0,6446</b>	-0,0373	-0,2475
pH	-0,0726	<b>0,4601</b>	0,1090	0,0433	0,1724	0,2498	-0,0876	0,2739
ACI	<b>0,4278</b>	-0,1170	0,0384	-0,0994	-0,0430	-0,2870	0,2083	-0,0297
HMF	0,0359	<b>0,3984</b>	0,3312	-0,1048	0,0318	-0,0649	-0,2882	0,0172
AD	-0,2016	0,0024	0,1557	0,2711	-0,3128	0,0942	<b>0,4908</b>	0,1367
BRIX	-0,2735	-0,1321	<b>0,3515</b>	0,0663	-0,1517	-0,3038	-0,0423	-0,1779
ARED	0,3182	0,3082	-0,0503	0,3048	-0,0166	0,0459	-0,1859	0,0113
SAC	-0,0410	0,0754	0,0775	<b>-0,5978</b>	0,0182	0,2981	0,1291	<b>0,3701</b>
FEN	<b>0,4009</b>	-0,1933	0,2456	-0,0037	-0,0256	0,2096	-0,0109	-0,0357
FLA	0,0433	-0,2952	-0,2829	-0,1438	0,3727	-0,0792	<b>-0,3539</b>	0,0688
AcAs	0,2479	-0,1015	0,3155	-0,1199	-0,2023	0,1334	-0,3313	<b>-0,4153</b>
AcAc	0,2989	0,0067	-0,0368	0,1733	<b>0,4639</b>	-0,2302	0,2905	0,0709
AcM	0,1329	-0,0662	-0,2752	-0,1752	<b>-0,5739</b>	0,0418	-0,1262	0,1364
AcS	-0,0452	0,1084	-0,2355	<b>-0,4795</b>	0,1061	0,0807	0,2990	<b>-0,4591</b>
AcF	<b>0,3813</b>	-0,1312	0,2053	-0,0129	-0,0137	0,2281	0,3251	0,0787
AcC	0,1732	0,0924	<b>-0,4485</b>	0,0692	-0,3132	-0,2203	-0,0508	0,2000
AcT	0,2840	0,3474	-0,0656	-0,0047	-0,0703	0,0459	-0,0075	-0,0287
COR	0,0157	<b>-0,4232</b>	0,1589	0,0069	0,0463	0,1065	-0,1934	<b>0,4639</b>

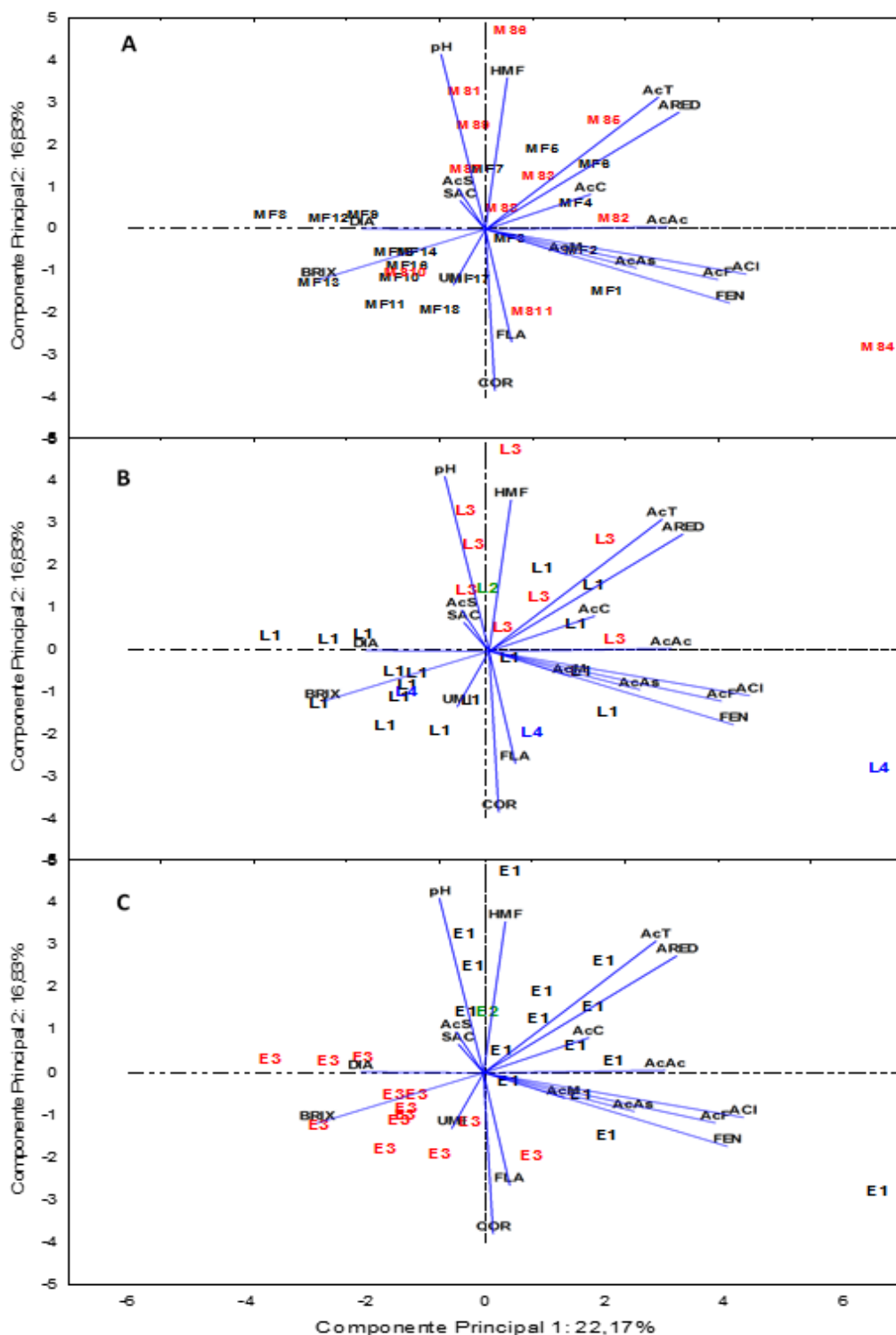
UMI: Umidade (%), pH: pH; ACI: Acidez; HMF: Hidroximetilfurfural; AD: Atividade diastásica; BRIX: °Brix - sólidos solúveis totais; ARED: Açúcar redutor; SAC: Sacarose aparente; FEN: Fenóis totais; FLA: Flavonóides totais; AcAs: ac. ascorbico; AcAc: ac. acético; AcM: ac. maléico; AcS: ac. succinico; AcF: ac. fumárico; AcC: ac. citrico; AcT: ac. tartarico.

Em um estudo realizado por Flanjack et al. (2015) com méis coletados em diferentes estações do ano, as duas primeiras componentes principais representaram 83,3%, explicada pela variação na intensidade da cor, cuja característica mostrou relação com a origem botânica.

Com base na distribuição espacial das amostras (Figuras 1), são observados os *Biplots*, apresentados por espécie de abelha produtora (Figura 1A), local (Figura 1B) e época de coleta (Figura 1C).

Comparando-se os três gráficos (Figura 1) foi observado uma clara separação entre as épocas de coleta, influenciando as características físico-químicas das amostras de mel analisadas. Entre as espécies de abelhas avaliadas e região de distribuição não houve distinção dessas características.

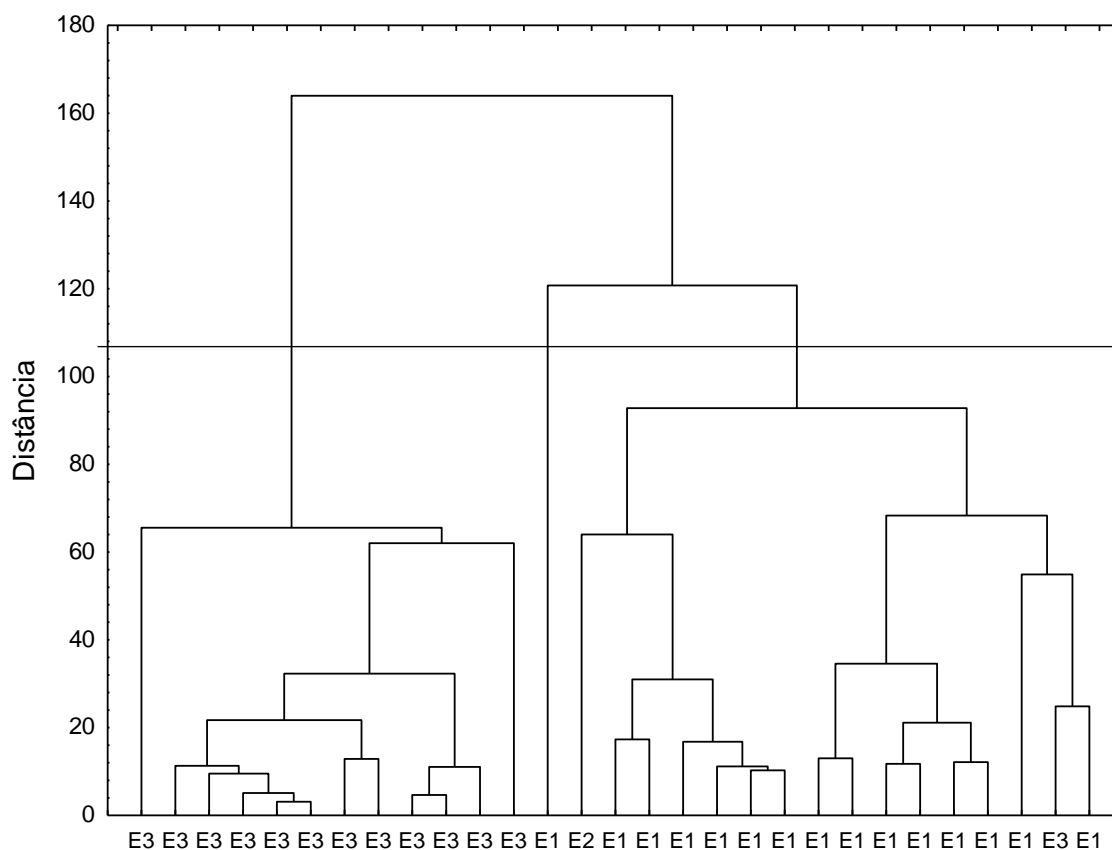
De modo geral, as amostras de mel que foram coletadas na E1 e E2 caracterizaram-se por alta associação, positivamente, de acidez, HMF, açúcares redutores, compostos fenólicos totais, flavonóides totais, ácido ascórbico, acético, maléico, fumárico, cítrico, tartárico e cor. Contrariamente, as amostras da E3 estão associadas negativamente pela umidade, pH, atividade diastásica; sólidos solúveis totais (°Brix), sacarose e ácido succínico.



**Figura 1.** *Biplot* das 29 amostras de mel de abelhas sem ferrão provenientes da região semiárida do Brasil, com base em 18 características avaliadas de acordo com: (A) Espécie: MF - *Melipona fasciculata* e MS - *M. subnitida*; (B) Local: L1 - Murici dos Portelas; L2 - Guadalupe, L3 - Parnaíba, L4 - Cajueiro da Praia; e (C) Épocas: E1 - Julho/2015; E2 - Outubro/2015, E3 - Março/2016.



Na Figura 2 é apresentado o dendrograma obtido da análise de Cluster (distância euclidiana), considerando os parâmetros físico-químicos dos méis. Observa-se a formação de três grupos. O primeiro é composto exclusivamente por amostras que foram coletadas na época 3 (E3) no mês de março, caracterizada pelo início da estação chuvosa. O segundo grupo corresponde a uma amostra da época 1 (mês de julho, estação seca), pertencente à espécie *M. subnitida*, coletada no município Cajueiro da Praia (próximo à região litorânea). Enquanto o terceiro grupo é formado quase exclusivamente por amostras da E1, produzidas por *M. subnitida* e *M. fasciculata* coletadas em julho, no município de Murici dos Portelas (situado no domínio cerrado) e Parnaíba (próximo à região litorânea), além de uma amostra da época 2, produzida por *M. subnitida*, coletada no mês de outubro no município de Guadalupe (cerrado).



**Figura 2.** Dendrograma obtido pela análise de agrupamento, utilizando a distância euclidiana média e o método Ward para três épocas de coleta (E1, E2, E3) de méis produzidos por duas espécies de *Melipona* da região semiárida do Brasil, considerando 18 características avaliadas.

O distanciamento entre os grupos, possivelmente, ocorreu pelas diferenças estatísticas observadas entre as amostras quanto aos parâmetros HMF, açúcares redutores, ácido acético e cor, observado na Tabela 1. Na época 1, os méis produzidos por *M. subnitida* e *M. fasciculata* apresentaram maiores concentrações de hidroximetilfurfural, açúcares redutores e ácido acético, com predomínio de cores mais claras. Em relação a estes parâmetros, a época 3 corresponde às amostras com valores inferiores e intensidade da cor tendendo ao mais escuro. A proximidade das épocas 1 e 2 no mesmo grupo deve-se à similaridade na coloração, nos valores de acidez e hidroximetilfurfural entre as amostras de mel.

O distanciamento do grupo 2 em relação aos demais, confirma os resultados representados no *biplot* (Figura 1) e na Tabela 3, através dos quais observou-se que a amostra de mel de *M. subnitida* da época 1 apresentou um comportamento diferenciado em virtude do conjunto variáveis com maior peso (acidez, ácido fumárico e compostos fenólicos totais).

O resultado do presente estudo corrobora com a observação de Carvalho et al. (2006) sobre a influência da época de coleta, dentre outros fatores, nas características do mel. Durante o ano ocorrem mudanças das condições climáticas (temperatura, umidade relativa, insolação etc.), caracterizando as estações, que por sua vez influenciam no comportamento e hábitos alimentares das abelhas (OLIVEIRA et al., 2012b). É válido ressaltar que a transição entre as estações do ano é caracterizada pela mudança na paisagem florística, podendo estar associada à redução sazonal de alimentos para as abelhas, além de influenciar na composição do néctar e, conseqüentemente nas propriedades físico-químicas do mel (CARVALHO et al., 2016).

Utilizando análise de agrupamento, Moreti et al. (2009) observou que as amostras de mel coletadas em diferentes períodos, agruparam-se com relação aos parâmetros físico-químicos avaliados, indicando a influência da origem floral sobre as características dos méis.

## Conclusão

A análise das amostras dos méis de *Melipona subnitida* e *M. fasciculata* provenientes do semiárido brasileiro, revelou similaridades entre os parâmetros físico-químicos avaliados. A época de produção de mel foi um dos fatores determinantes na formação de agrupamentos.

## Referências

A.O.A.C. Association of Official Analytical Council. **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 2 ed. 1990, 1018p.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemist In: W. HORWITZ (Ed.). Gaithersburg, MD, USA: **Association of Official Analytical Chemists**, 2005, 18 ed.

ATAGO Co. Refratômetro para mel. **Abelhas**. Porto, v. 31, n. 362/363, p. 9,11-12, 41, 44, 1988

BELAY, A.; SOLOMON, W. K.; BULTOSSA, G.; ADGABA, N.; MELAKU, S. Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. **Food chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3386-3392, 2013.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61-69, 2016.

CARVALHO, C. A. L. de; SODRÉ, G. D. S.; FONSECA, A. A. O.; SILVA, S. M. P. C.; OLIVEIRA, G. A.; CLARTON, L. Perfil sensorial de amostras de méis de espécies de abelhas sem ferrão do Estado da Bahia. **Magistra**, v. 18, n. 4, p. 265-269, 2006.

CARVALHO, G. C. A.; RIBEIRO, M. H. M.; ARAÚJO, A. C. A. M.; BARBOSA, M. de M.; OLIVEIRA, F. dos S.; ALBUQUERQUE, P. M. C. de. Flora de importância polínica utilizada por *Melipona (melikerrria) fasciculata* Smith, 1854 (Hymenoptera:

Apidae: Meliponini) em uma área de floresta amazônica na região da baixada maranhense, Brasil. **Oecologia Australis**, v. 20, n. 1, p. 58-68, 2016.

DELL INC. (2016). Dell Statistica (Data Analysis Software System), version 13. software.dell.com.

ESCUREDO, O.; DOBRE, I.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. **Food chemistry**, v. 149, p. 84-90, 2014.

FLANJAK, I.; KENJERIĆ, D.; BUBALO, D.; PRIMORAC, L. Characterisation of selected Croatian honey types based on the combination of antioxidant capacity, quality parameters, and chemometrics. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 4, p. 467-475, 2015.

GABRIEL, K. R. The biplot graphics display of matrices with applications to principal component analysis. **Biometrika**, London, v. 58, p. 453-467, 1971.

HOLANDA, C. A.; BRANDÃO, C. M.; SOUZA, J. L.; RIBEIRO, M. N. S.; ALVES, L. M. C.; COSTA, M. C. P. Quality and estimative of time-consuming of tiúba honey (*Melipona fasciculata* Smith) produced in cerrado region from Maranhão State, Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 3, p. 53, 2015.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A. T.; MAIA, U. M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C. A. L.; VENTURIERI, G. C. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 121-157, 2015.

KERR, W. E. A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 1, p. 42-44, 1997.

KOFFLER, S.; MENEZES, C.; MENEZES, P. R.; KLEINERT, A. D. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; POPE, N.; JAFFÉ, R. Temporal variation in honey production by the stingless bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): long-term management reveals its potential as a commercial species in Northeastern Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 85-867, 2015.

LACERDA, J. J. J.; SANTOS, J. S.; SANTOS, S. A.; RODRIGUES, G. B.; SANTOS, M. L. P. Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera* no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada. **Química nova**, v. 33, n. 5, p. 1022-1026, 2010

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by fehling's solution with methylene blue**. London: Normam Rodge, 1934. 8p.

LYRA, W. D. S.; SILVA, E. C. D.; ARAÚJO, M. C. U. D.; FRAGOSO, W. D.; VERAS, G. Periodic classification: a didactic example to teach principal component analysis. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1594-1597, 2010.

MARDIA, L. V.; KENI, J. T.; BIBBY, J. M. **Multivariate analysis**. London: Academic Press, 1979, 521 p.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. da S.; MORETI, A. C. de C. C. **Mel brasileiro: composição e normas**. Ribeirão Preto: ASP, 2004, 111p.

MORETI, A. C. D. C. C.; SODRÉ, G. D. S.; MARCHINI, L. C.; OTSUK, I. P. Physicochemical characteristics of *Apis mellifera* L. honey samples from the State of Ceará, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 191-199, 2009.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C S.; DANTAS, K. D. G. F.; ALVES, C. N. Ácidos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012a.

OLIVEIRA, F. L.; DIAS, V. H. P.; COSTA, E. M.; FILGUEIRA, M. A.; SOBRINHO, J. E. Influência das das variações climáticas na atividade de vôo das abelhas jandairas *Melipona subnitida* Ducke (Meliponinae). **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 598-603, 2012b.

PERALTA, E. D.; UETANABARO, A. P. T.; LUCHESE, A. M. Méis do semiárido baiano: atividade microbiana e composição química. In: SANTOS, F.A.R.; CARNEIRO, C.E. (Eds.). **De Melle semiaridi**. Salvador: EUFBA, 2015, p. 121-155.

REGAZZI, A. J. **Análise multivariada**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

RIBEIRO, M. H. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; LUZ, C. F. P. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. **Acta Amazônica**, v. 46, n. 3, p. 315-322, 2016.

SANTOS, J. S.; SANTOS, M. L. P.; AZEVEDO, A. S. Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 540-544, 2014.

SILVA, A. S.; ALVES, C. N.; FERNANDES, K. G.; MÜLLERD, R. C. S. Classification of honeys from Pará State (Amazon Region, Brazil) produced by three different species of bees using chemometric methods, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 7, p. 1135-1145, 2013a.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; De NOVAIS, J. S.; CAMARA, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10-18, 2013b.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; TOLEDO BENASSI, M.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 645-651, 2016.

SVECOVÁ, B.; BORDOVSKÁ, M.; KALVACHOVÁ, D.; HAJEK, T. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic

compounds content. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 80-88, 2015.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V. **Mel: Características, análises físico-químicas, adulterações e transformações**, ITC Roberto Rios: Barretos, 1984, p. 95.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de mel de *M. fasciculata* e *M. subnitida* apresentaram características microbiológicas e físico-químicas similares entre si e com outras espécies de *Melipona*, o que pode favorecer a formulação de uma legislação de qualidade para o mel desse Gênero de abelha sem ferrão, como proposto pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia.

A inclusão nas análises físico-químicas do parâmetro ácidos carboxílicos, pode contribuir na caracterização do mel para as diversas espécies de abelhas sem ferrão, especialmente *Melipona* spp.

Na caracterização do mel é importante considerar a época de produção, uma vez que fatores climáticos e botânicos (flora) podem influenciar alguns parâmetros físico-químicos deste produto e serem determinantes na formação de grupos (lotes).

Os resultados obtidos pode contribuir para agregação de valor ao mel de *M. subnitida* e *M. fasciculata* pelos meliponicultores do Piauí, favorecendo e estimulando o desenvolvimento de técnicas para garantir a qualidade e comercialização do produto na região semiárida do Brasil.



**ANEXO**

## ANEXO 1

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros físico-químicos determinados nas amostras de mel de *M. subnitida*, coletados em diferentes períodos e localidades do Pauí, Brasil.

Amostra	Ano	Cor	Um	pH	Acidez	HMF	AD	AR	SA	SST	FENT	FLAT
P 1	2015	A	25,63	3,97	20,50	18,78	0,06	76,14	1,15	73,80	186,85	53,33
P 2	2015	AC	27,13	3,29	39,33	0,55	0,04	73,15	2,45	67,20	212,44	86,67
P 3	2015	AC	26,63	3,63	28,83	2,00	0,05	72,04	3,44	71,70	252,99	75,56
P 4	2015	AC	27,47	3,31	65,67	4,12	0,03	74,21	1,94	70,00	498,01	94,07
P 5	2015	EAC	27,20	3,79	23,33	0,71	0,04	79,38	0,75	70,10	216,38	105,19
P 6	2015	B	26,77	4,11	17,17	18,49	0,04	77,15	3,12	71,00	184,09	79,26
P 7	2015	A	27,70	3,72	24,67	6,09	0,10	71,25	3,43	71,00	205,35	60,74
P 8	2015	AC	27,47	3,57	37,00	2,17	0,03	71,61	0,99	67,50	185,28	86,67
P 9	2015	EAC	27,47	3,86	28,50	8,42	0,06	70,11	1,10	73,80	231,86	25,56
CP 10	2016	AC	28,97	3,14	26,33	1,87	0,05	68,41	0,65	77,00	144,53	105,19
CP 11	2016	A	26,83	3,22	28,33	4,79	0,05	71,79	1,09	78,80	307,32	123,70

CP: Cajueiro da Praia; P: Parnaíba; A: âmbar; AC: âmbar claro; EAC: extra âmbar claro; B: branco; Um: umidade (%); acidez (meq Kg<sup>-1</sup>); HMF: hidroximetilfurfural (mg Kg<sup>-1</sup>); AD: atividade diastásica (unidades Gothe); AR: açúcar redutor (%); SST: sólidos solúveis totais (°Brix); SA: sacarose aparente (%); FENT: fenois totais (mg Kg<sup>-1</sup>); FLAT: flavonóides totais (mg Kg<sup>-1</sup>).

## ANEXO 2

**Tabela 2.** Valores médios dos parâmetros físico-químicos determinados nas amostras de mel de *M. fasciculata*, coletadas em diferentes períodos e localidades do Pauí, Brasil.

Amostra	Ano	Cor	UM	pH	Acidez	HMF	AD	AR	SA	SST	FENT	FLAT
MP 1	2015	A	26,57	3,43	38,33	1,57	0,04	71,49	1,46	71,70	287,24	138,52
MP 2	2015	A	25,27	3,43	38,67	0,60	0,04	71,10	0,75	71,50	203,25	175,56
MP 3	2015	A	26,17	3,71	29,33	0,37	0,06	70,10	2,37	72,50	202,20	149,63
MP 4	2015	AC	27,20	3,42	40,17	0,37	0,03	77,26	0,72	70,00	183,70	131,11
MP 5	2015	AC	26,17	3,75	26,33	8,46	0,04	76,84	0,98	69,40	223,86	101,48
MP 6	2015	AC	26,80	3,45	31,83	2,17	0,06	74,85	2,58	71,50	237,38	49,63
GD 7	2015	A	15,97	3,46	43,50	13,32	0,03	67,67	3,34	77,50	201,42	64,44
MP 8	2016	A	26,73	3,65	12,33	2,02	0,82	68,08	1,15	80,40	140,79	34,81
MP 9	2016	A	27,30	3,65	16,33	1,47	0,04	69,00	0,39	75,00	147,87	42,22
MP 10	2016	A	28,73	3,31	25,00	0,90	0,06	70,40	0,54	79,00	185,14	82,96
MP 11	2016	A	27,90	3,50	21,33	2,59	0,05	68,67	0,66	78,20	184,09	120,00
MP 12	2016	A	27,97	3,59	16,33	2,17	0,04	63,71	3,81	72,00	115,59	134,81
MP 13	2016	A	26,47	3,54	15,33	1,60	0,04	64,56	3,79	81,00	149,19	131,11
MP 14	2016	A	27,77	3,66	17,00	2,37	0,04	71,33	3,23	71,70	189,08	127,05
MP 15	2016	A	28,07	3,47	16,33	2,02	0,28	69,61	2,64	70,20	201,81	105,04
MP 16	2016	A	27,20	3,57	16,67	1,20	0,06	68,32	1,82	72,20	208,90	123,70
MP 17	2016	A	27,30	3,45	25,67	2,40	0,03	67,12	2,07	72,50	284,49	86,67
MP 18	2016	A	28,47	3,21	20,67	2,17	0,05	66,11	1,66	69,20	236,85	168,15

MP: Murici dos Portelas; GD: Guadalupe; A: âmbar; AC: âmbar claro; Um: umidade (%); acidez (meq Kg<sup>-1</sup>); HMF: hidroximetilfurfural (mg Kg<sup>-1</sup>); AD: atividade diastásica (unidades Gothe); AR: açúcar redutor (%); SA: sacarose aparente (%); SST: sólidos solúveis totais (°Brix); FENT: fenois totais (mg Kg<sup>-1</sup>); FLAT: flavonóides totais (mg Kg<sup>-1</sup>).