

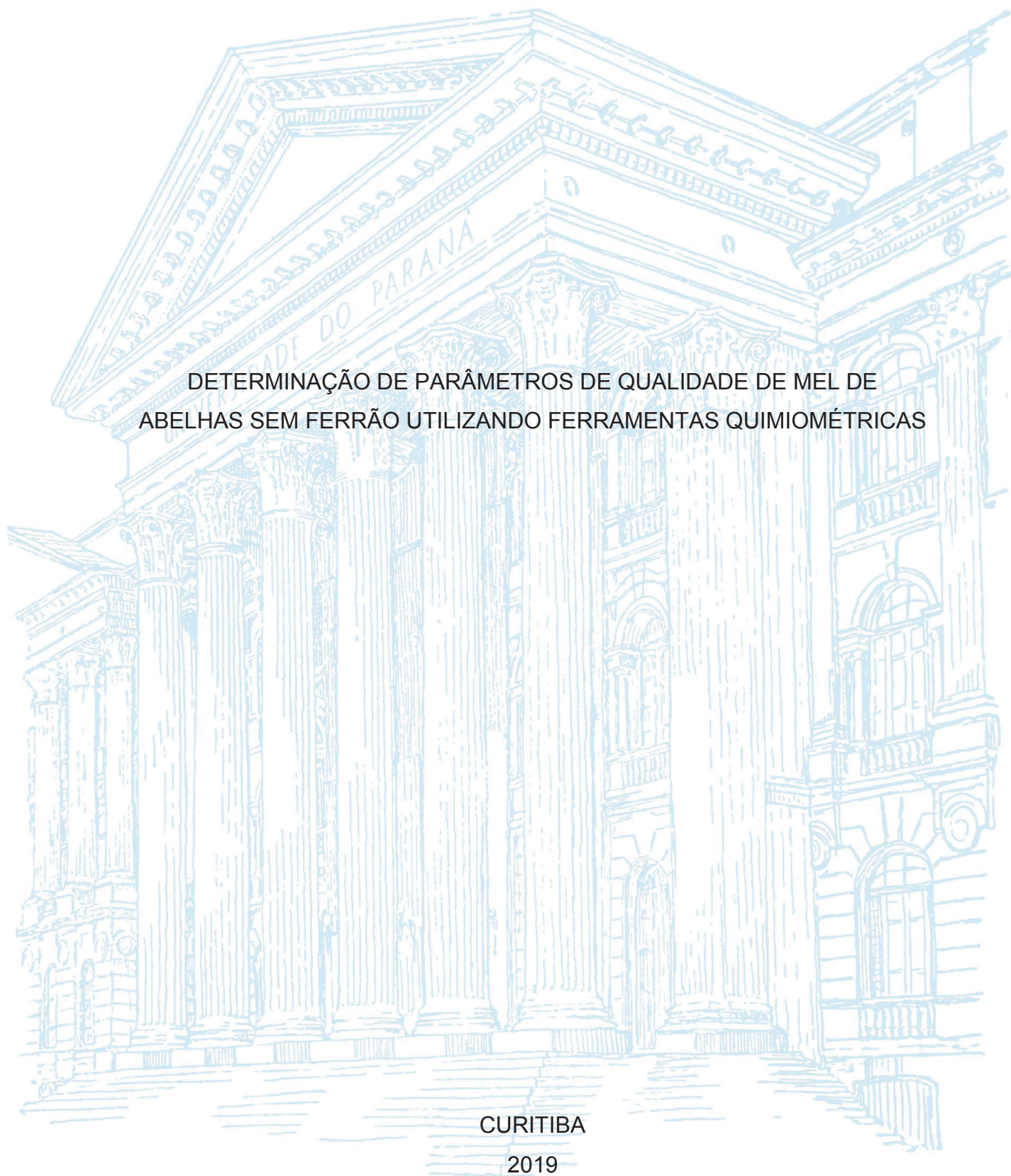
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SUELEN AVILA

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE MEL DE
ABELHAS SEM FERRÃO UTILIZANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS

CURITIBA

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SUELEN AVILA

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE MEL DE
ABELHAS SEM FERRÃO UTILIZANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosemary Hoffmann Ribani
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Marcia Regina Beux
Supervisora Internacional: Prof^a. Dr^a. Trust Beta

CURITIBA

2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

A958d

Avila, Suelen

Determinação de parâmetros de qualidade de mel de abelhas sem ferrão utilizando ferramentas quimiométricas [recurso eletrônico] / Suelen Avila. – Curitiba, 2019.

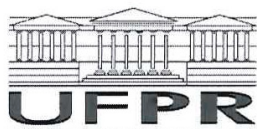
Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2019.

Orientador: Rosemary Hoffmann Ribani – Coorientador: Marcia Regina Beux – Supervisora Internacional: Trust Beta

1. Melipona. 2. Abelhas sem ferrão. 3. Mel de Abelha. 4. Quimiometria. 5. Scaptotrigona. I. Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann. III. Beux, Marcia Regina. IV. Beta, Trust. V. Título.

CDD: 638.1

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS - 40001016019P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **SUELEN ÁVILA** intitulada: **DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO UTILIZANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Março de 2019.

ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Presidente da Banca Examinadora

JOAO LUIZ ANDREOTTI DAGOSTIN
Avaliador Externo (UFPR)

PATRICIA DO ROCIO DALZOTO
Avaliador Externo (UFPR)

HELAYNE APARECIDA MAIEVES
Avaliador Externo (UFPEL)

ACACIO ANTONIO FERREIRA ZIELINSKI
Avaliador Externo (UFSC)

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, aos meus pais, ao meu irmão Jonathan e a minha família.

Ao meu mentor, exemplo e inspiração Professor Dr. Gilvan Wosiacki “In Memoriam”.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente e principalmente que me permitiu alcançar mais essa vitória;

Aos meus pais, José Ricardo de Ávila, Valdirene de Fatima Ferreira da Silva e Vera Maria de Oliveira Godk por além de me oferecerem a oportunidade de estudar, sempre estiveram ao meu lado me amando, apoiando e incentivando;

Ao meu irmão Jonathan V. Medina por ser uma benção na minha vida, por me inspirar a ser um bom exemplo, pelo amor e amizade;

A toda minha família pelo amor incondicional, carinho, por compreender minha ausência e pela força em todos os momentos;

Ao Luca A. B. Berthier, por todo o amor, paciência e compreensão dos meus momentos de ausência decorrente da dedicação na realização deste trabalho. Por me ajudar na coleta dos méis para que esta pesquisa fosse possível. Muito obrigado por apoiar os meus sonhos e compartilhar as minhas esperanças;

Aos meus parceiros de trabalho Polyanna S. Hornung e Gerson L. Teixeira que estiveram sempre ao meu lado. Obrigada pela convivência, por toda amizade e pelo companheirismo profissional, pelas conversas, risadas, pela dedicação nos dias árduos de laboratório e na elaboração dos trabalhos;

Ao professor, Gilvan Wosiacki (In Memoriam), que me inspirou a ingressar na área acadêmica, sempre foi um grande exemplo, e hoje, agradeço por ter me incentivado a seguir no caminho da pós-graduação;

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Rosemary Hoffmann Ribani, pela atenção, paciência, confiança, ensinamentos, amizade e pela valiosa contribuição no desenvolvimento deste trabalho;

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Márcia Regina Beux pelos ensinamentos, amizade e pelas conversas sempre incentivadoras;

À minha orientadora na Universidade de Manitoba Dr^a Trust Beta, pelos ensinamentos, pela oportunidade, amizade e confiança concedida;

Ao Prof. Dr. Marcelo pela amizade e suporte técnico nas análises de NIR;

Aos Membros da banca de pré-defesa e defesa, pelas contribuições valiosas que deram a este trabalho;

Aos meus amigos do Laboratório Bioativos, do Laboratório da Universidade de Manitoba e dos Laboratórios da Embrapa Florestas, pelo suporte, colaborações e palavras de apoio sempre, aqui minha eterna gratidão;

Aos amigos que nos fortalecem e fazem nosso caminho mais feliz, meu sincero agradecimento à Vivian C. Ito, Giovane Treter, Damian Fetzter, Lorena Xavier, Cybelli Barbosa, Flávia Marena e Maíra Codo;

A minhas parceiras e amigas de Curitiba, Luciane Ribeiro, Drieli V. Andrade, Mariuci Torres e Josete Torres por me fazerem sentir em casa, pelos incentivos, pela amizade e carinho;

A Emma Alexander e Norah, Ruth Cardona, Rodolfo e Katy Escobar, que me receberam de braços abertos no Canadá, com quem morei e se tornaram parte da minha família. Muio obrigada por toda ajuda, paciência, momentos alegres e por me fazerem conhecer e gostar ainda mais do Canadá;

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos por todo suporte e colaboração;

À Universidade Federal do Paraná, Universidade de Manitoba e Embrapa Florestas pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho;

À Associação de Meliponicultores de Mandirituba (AMAMEL), em especial ao Marcos A. D. Costa, Benedito e Salete Uczai, pelo recebimento amigo, pelos ensinamentos, confiança e por fornecerem as amostras desta pesquisa;

À CAPES pelo apoio financeiro no Brasil e no Exterior e ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa;

Enfim, quero agradecer a todos aqueles, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta conquista.

RESUMO

O mel de abelhas sem ferrão (MASF) requer o estabelecimento de metodologias e padrões oficiais e internacionais. A literatura existente sobre os parâmetros físico-químicos, composição química, constituintes bioativos, propriedades biológicas e estratégias de detecção de modificações de mel provenientes de 478 amostras de 66 diferentes espécies de abelhas produzidas ao redor do mundo foram apresentadas. Diferentemente do gênero *Apis mellifera*, MASF tem um caráter ácido (pH ácido e alta acidez), nível ligeiramente inferior de carboidratos totais e alta higroscopicidade devido a sua alta umidade e altos valores de atividade de água. No geral, as principais dificuldades para o estabelecimento de padrões têm sido a grande diversidade de espécies de abelhas sem ferrão e origem botânica, bem como variações na composição química desses méis. Por esta razão, foi investigado a viabilidade da análise multivariada para a discriminação da qualidade do MASF de diferentes gêneros (*Melipona bicolor*, *quadrifasciata*, *marginata* e *Scaptotrigona bipunctata*). A análise de componentes principais (PCA) explicou 72,12% da variância total dos dados e obteve-se a separação em dois grupos principais (*Melipona* e *Scaptotrigona*). Dois grupos também foram sugeridos pela análise hierárquica de agrupamentos (HCA), corroborando com PCA, na qual o grupo 2 foi formado pelo gênero *Scaptotrigona*. Este grupo apresentou os maiores valores de pH, cinzas e °Brix. Em relação aos coliformes, apenas 6% das amostras do gênero *Scaptotrigona* apresentaram coliformes a 45 °C. O potássio foi o mineral mais abundante quantificado e, como uma bactéria que pode ser considerada benéfica, o mel apresentou bactéria do ácido láctico em níveis mais elevados frente o gênero *Melipona*. A viabilidade da análise multivariada de dados para agrupamento de MASF também foi investigada quanto ao espectro de pólen, análise físico-química, compostos antioxidantes e antimicrobianos. MASF apresentou correlação positiva entre o teor de compostos fenólicos (220 a 708 mg de ácido gálico (GAE)/kg) e a capacidade antioxidante. Ácido *p*-cumárico, quercetina e hesperitina foram quantificados por HPLC-DAD. A atividade antibacteriana foi mais efetiva com bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*). O MASF possui um maior nível de atividade biológica do que o mel produzido por *Apis mellifera*. PCA mostrou que MASF pertencentes às mesmas origens florais apresentavam perfis semelhantes, o que tornou possível agrupar o mel em grupos com predominância de família botânica. Um método rápido e não destrutivo para a determinação de umidade em MASF usando espectroscopia de infravermelho próximo foi apresentado. Espectros de mel mostraram faixas de absorção intensa em CH, OH e vibrações de CO. O modelo de calibração pelas análises de regressão de componentes principais (PLS) mostrou boa correlação com o método de referência (índice de refração). As espécies de abelhas sem ferrão e a origem botânica do polén afetam as propriedades do mel. MASF é fonte de macrominerais, rico em compostos bioativos, com alta capacidade antioxidante e propriedades biológicas.

Palavras-chave: *Melipona*, *Scaptotrigona*, composição química, análise microbiológica, análise multivariada, melissopalínologia.

ABSTRACT

Stingless bee honey (SBH) requires the establishment of official and international methodologies and standards to serve as a reference for quality control, to avoid adulteration and to assist marketing purposes. The literature on the physico-chemical parameters, chemical composition, bioactive constituents, biological properties and strategies for the detection of honey modifications from 478 samples of 66 different bee species produced in the world were presented. Distinct the genera *Apis mellifera*, SBH has an acidic character (acid pH and high acidity), slightly lower level of total carbohydrates and high hygroscopicity due to its high moisture and high values of water activity. In general, the main difficulties in setting standards have been the great diversity of stingless bee species and botanical origin, as well as variations in the chemical composition of these honey. For this reason, the feasibility of the multivariate analysis for the quality discrimination of stingless bee honey of different genera (*Melipona bicolor*, *quadrifasciata*, *marginata* and *Scaptotrigona bipuncata*) was investigated. Principal component analysis (PCA) explained 72.12% of the total data variance and separation was obtained in two main groups (*Melipona* and *Scaptotrigona*). Two groups were also suggested by the hierarchical grouping analysis (HCA), corroborating with PCA, in which group 2 was formed by the genus *Scaptotrigona*. This group had the highest values of pH, ash and °Brix. In relation to the coliforms, only 6% of the samples of the genus *Scaptotrigona* presented coliforms at 45°C. Potassium was the most abundant mineral quantified and, as a bacterium that can be considered beneficial, honey presented lactic acid bacteria at higher levels compared to the *Melipona* genus. The feasibility of multivariate analysis of data for SBH classification was also investigated for pollen spectrum, physicochemical analysis and antioxidant and antimicrobial compounds. SBH showed a positive correlation between the content of phenolic compounds (220 to 708 mg of gallic acid/GAE) and antioxidant capacity. *p*-coumaric acid, quercetin and hesperitin were quantified by HPLC-DAD. Antibacterial activity was more effective with Gram negative bacteria (*Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*). SBH has a higher level of biological activity than honey produced by *Apis mellifera*. PCA showed that SBH belonging to the same floral origins presented similar profiles, which made it possible to group honey in groups with a predominance of botanical family. A rapid and non-destructive method for the determination of SBH moisture using near infrared spectroscopy was presented. Honey spectra showed bands of intense absorption in CH, OH and CO vibrations. The calibration model by regression analysis of principal components (PLS) showed good correlation with the reference method (refractive index). Stingless bee species and botanical origin of the pollen affect the properties of honey. MASF is a source of macrominerals, rich in bioactive compounds, with high antioxidant capacity and biological properties.

Keywords: *Melipona*, *Scaptotrigona*, chemical composition, microbiological analysis, multivariate analysis, melissopalynology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. ANATOMIA DA ABELHA.....	19
FIGURA 2. ESPECIES DE ABELHAS SEM FERRÃO.....	23
FIGURA 3. LOCALIZAÇÃO DE MANDIRITUBA, PARANÁ, BRASIL.....	56
FIGURA 4. CORRELAÇÃO ENTRE (A) AÇÚCARES TOTAIS E REDUTORES, (B) ATIVIDADE DE ÁGUA E UMIDADE, E (C) PH E CINZAS. (D) SCATTER PLOT DE PC1 × PC2 (E) LOADINGS PLOT DO CONTEÚDO MINERAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS UTILIZADAS NO PCA. (F) DENDROGRAMA PARA O CONTEÚDO MINERAL NORMALIZADO E AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E SEU RESPECTIVO MEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO.....	61
FIGURA 5. MORFOLOGIA DO PÓLEN NO MEL DE PLANTAS DOMINANTES	81
FIGURA 6. CROMATOGRAMA REPRESENTATIVO DO HPLC.....	86
FIGURA 7. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO DOS ESCORES PC1 × PC2 DAS PRINCIPAIS FONTES DE VARIABILIDADE DE ORIGEM FLORAL ENTRE O MEL BRASILEIRO DAS ABELHAS SEM FERRÃO. (B) GRÁFICOS DE LOADINGS PLOT DE CONTEÚDO FÍSICO-QUÍMICO, FENÓLICO TOTAL, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E HESPERITINA, QUERCETINA E ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO UTILIZADOS NO PCA.	92
FIGURA 8. DENDROGRAMA (A) E DISTÂNCIAS EUCLIDIANAS (B).....	94
FIGURA 9. ESQUEMA DA AVALIAÇÃO DA UMIDADE EM MÉIS DE ABELHAS SEM FERRÃO USANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	102
FIGURA 10. REFLECTÂNCIA DOS ESPECTROS NIR	106
FIGURA 11. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DA UMIDADE DO MEL DA ABELHA SEM FERRÃO, A: GRÁFICO DE ESCORES DO 1º COMPONENTE PRINCIPAL CALCULADO EM TODO O CONJUNTO DE AMOSTRAS E B: APÓS A SUAVIZAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO POR SNV DO ESPECTRO DE NIR (1100–2500 NM).....	108
FIGURA 12. COEFICIENTES DE REGRESSÃO OBTIDOS NO MODELO PLS....	109
FIGURA 13. GRÁFICO DO CONTEÚDO DE UMIDADE MEDIDO VERSUS PREVISTO PELA REGRESSÃO DE MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS) PARA AMOSTRAS DE MEL.....	112

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. COMPOSIÇÃO FÍSICO QUÍMICA DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO.....	25
TABELA 2. COMPARAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL E DA ATIVIDADE BIOLÓGICA ENTRE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO E MEL DE <i>APIS</i>	31
TABELA 3. SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX) E CONTEÚDO DE AÇÚCARES (% P/P) EM MEIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS <i>MELIPONA</i> E <i>SCAPTOTRIGONA</i>	60
TABELA 4. PARÂMETROS DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO (MASF) DO SUL DO BRASIL	63
TABELA 5. HCA- MÉDIA E FAIXAS PARA OS GRUPOS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO E LIMITES PARA OS PARÂMETROS DA QUALIDADE DE MEL DE <i>APIS MELLIFERA</i>	64
TABELA 6. VALORES MÉDIOS DE MINERAIS DE TRAÇOS DE METAIS PESADOS (MG / 100 G) EM MEL DE MELIPONINI.....	67
TABELA 7. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ABELHAS SEM FERRÃO	69
TABELA 8. CONTEÚDO RELATIVO DE DIFERENTES TIPOS DE PÓLEN PRESENTES EM AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO ^a	82
TABELA 9. PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO HPLC–DAD–MS.	86
TABELA 10. CONTEÚDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS BRASILEIRAS.....	87
TABELA 11. CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIM, %) DO MEL DE ABELHA SEM FERRÃO BRASILEIRO CONTRA BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS, E <i>CANDIDA ALBICANS</i> ^a	90
TABELA 12. DADOS AMOSTRAIS DE MEL DE ABELHA SEM FERRÃO AGRUPADOS POR CONTEÚDO FÍSICO-QUÍMICO, FENÓLICO TOTAL, HESPERIDINA, QUERCETINA, ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	93
TABELA 13. TEOR DE UMIDADE E RESULTADOS DO MÉTODO MULTIVARIADO OBTIDO PELO MODELO DE REGRESSÃO PLS CALCULADO A PARTIR DE 32 MÉIS DAS TRIBOS MELIPONINI E TRIGONINI.	105
TABELA 14. REGRESSÃO DE MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS) DO CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO E PREDIÇÃO PARA OS TEORES DE UMIDADE EM MEL DE ABELHA SEM FERRÃO.....	111

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
CAPÍTULO 1	16
REVISÃO DA LITERATURA	16
1. INTRODUÇÃO	18
2. ABELHAS SEM FERRÃO	21
3. PARÂMETROS DE QUALIDADE E VALOR NUTRICIONAL DE MEL DE ABELHA SEM FERRÃO.....	24
4. CONTEÚDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	40
5. POTENCIAL ANTIOXIDANTE E MEDICINAL.....	42
6. DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MODIFICAÇÕES EM MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO.....	48
7. CONCLUSÃO.....	51
CAPÍTULO 2	52
INFLUÊNCIA DO GÊNERO DE ABELHAS SEM FERRÃO (<i>SCAPTOTRIGONA</i> E <i>MELIPONA</i>) NO CONTEÚDO MINERAL, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MEL.....	52
RESUMO:.....	53
1. INTRODUÇÃO	54
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4. CONCLUSÕES	71
CAPÍTULO 3	72
COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO MEL DE ABELHA SEM FERRÃO BRASILEIRO TÊM FORTE RELAÇÃO COM A ORIGEM FLORAL DO PÓLEN.....	72
RESUMO.....	73
1. INTRODUÇÃO	74
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	75
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79

4. CONCLUSÃO.....	95
CAPÍTULO 4	96
ABORDAGEM QUIMOMÉTRICA PARA O CONTROLE DE UMIDADE EM MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	96
RESUMO.....	97
INTRODUÇÃO	98
MATERIAIS E MÉTODOS.....	101
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
CONCLUSÃO.....	113
CONSIDERAÇÕES FINAIS	114
REFERÊNCIAS.....	116
ANEXO I.....	132
ANEXO II.....	133
ANEXO III.....	134
ANEXO IV	135

1. INTRODUÇÃO

O potencial para o uso do mel de abelhas sem ferrão pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética vem crescendo nas últimas duas décadas. As abelhas sem ferrão são um grande grupo de abelhas sociais distribuídas nos trópicos em todo o mundo (MICHENER, 2013a). Essas abelhas coletam e modificam quimicamente os néctares florais da rica vegetação dos ambientes nativos, com substâncias específicas próprias (CHUTTONG et al., 2016a). Este é armazenado e deixado para amadurecer no interior das colônias, resultando em um mel singular com grau incomum de acidez, doçura e valor medicinal (CHUTTONG et al., 2016b; ABD JALIL et al., 2017).

A composição química, sabor e aroma do mel estão fortemente associados à sua fonte botânica, à área geográfica, às condições ambientais, às espécies de abelhas envolvidas em sua produção e as condições de armazenamento (COSTA et al., 2017). Além disso, o mel de abelha sem ferrão difere daquele produzido pelas abelhas *Apis mellifera*, quanto à cor, sabor, viscosidade e seu alto teor de umidade. Essas abelhas também possuem uma morfologia diferente (ausência de ferrão), diferentes formas de construir os ninhos e coletar o néctar (SOUZA et al., 2006; BILUCA et al., 2016). Quando comparada à produção de mel de *Apis mellifera*, a produção de mel de abelhas sem ferrão é limitada (ZUCCATO et al., 2017).

Devido ao conhecimento escasso sobre o mel de abelha sem ferrão, ainda não existem normas nem regulamentações internacionais criadas pelas autoridades para este alimento (RAMÓN-SIERRA et al., 2015; CHUTTONG et al., 2016a). Por outro lado, o mel de abelha sem ferrão está disponível nos mercados tradicionais e tem um preço significativamente maior em relação ao mel de *Apis mellifera* (ZUCCATO et al., 2017). A obtenção dos parâmetros físico-químicos do mel é importante não só para a caracterização da diversidade das espécies de Meliponinae, mas também para garantir a qualidade do produto no mercado. Como o controle de qualidade envolve diferentes propriedades, em vez de simplesmente usar comparações uni variadas entre amostras, a aplicação de abordagens matemáticas e estatísticas precisas e inovadoras, atualmente é muitas vezes mais confiável (ZIELINSKI et al., 2014).

Constatou-se que os métodos de controle de qualidade, combinados com análises estatísticas multivariadas, são capazes de descrever características

químicas do mel, detectar adulterações e discriminar o mel de diferentes regiões geográficas e origens florais. (WOODCOCK et al., 2009; CHEN et al., 2012). Esse complexo produto natural, exige que metodologias e padrões oficiais e internacionais sejam estabelecidos para servir como referência para o controle de qualidade, para evitar adulterações e para auxiliar fins de marketing. A determinação da umidade é uma análise necessária e rotineira aplicada para estabelecer a qualidade e a comercialização do mel (GALLINA et al., 2010). No entanto, uma avaliação rápida e confiável logo após a coleta do mel pode ser feita aplicando a técnica de espectroscopia de infravermelho próximo-NIR para avaliação de propriedades como umidade (KARABAGIAS; LOUPPIS; et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os parâmetros de qualidade e propriedades biológicas do mel de abelha sem ferrão e empregar técnicas estatísticas multivariadas em variáveis de importância.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Coletar trinta e duas amostras de mel de quatro espécies de abelhas sem ferrão;
- b) Avaliar a qualidade microbiológica e verificar a correlação entre os diferentes tipos de microrganismos observados nas amostras como indicadores de qualidade;
- c) Determinar as propriedades físico-químicas do mel das abelhas sem ferrão;
- d) Comparar as características melissopalínológicas entre o mel de diferentes espécies de abelhas sem ferrão;
- e) Estimar o teor de compostos fenólicos totais do mel e investigar sua atividade antioxidante *in vitro* (ORAC, DPPH e ABTS);
- f) Desenvolver e validar um método cromatográfico utilizando cromatografia líquida para ácidos fenólicos e flavonoides de mel de abelhas sem ferrão;
- g) Identificar o potencial antimicrobiano do mel de Meliponinae;
- h) Elaborar modelos de agrupamento utilizando técnicas quimiométricas para a análise exploratória do mel;
- i) Predizer modelos de estimação das propriedades físico-químicas do mel de abelhas sem ferrão utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo.

CAPÍTULO 1
REVISÃO DA LITERATURA

**MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO: PARÂMETROS DE QUALIDADE,
COMPOSTOS BIOATIVOS, PROPRIEDADES DE PROMOÇÃO DA SAÚDE E
ESTRATÉGIAS PARA DETECÇÃO DE MODIFICAÇÕES**

AVILA, S.; ZAMBIAZI, R. C.; BEUX, M. R.; BETA, T.; RIBANI, R. H.

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na Trends in Food Science and Technology. Qualis - Capes A1. JCR 7,819 (2018).

(Anexo I)

Mel de abelhas sem ferrão: parâmetros de qualidade, compostos bioativos, propriedades de promoção da saúde e estratégias para detecção de modificações

Resumo:

O mel é um produto natural produzido e comercializado mundialmente por abelhas sem ferrão e abelhas *Apis mellifera*. Ambos os tipos de mel contêm compostos únicos e distintos de importância nutricional e biológica variável. Mel de abelha sem ferrão (MASF) é popular por sua doçura distinta, misturado com um sabor ácido e textura fluida; tem maior valor agregado que o mel de *Apis mellifera*. Devido à produção relativamente baixa de MASF em comparação com o mel de *Apis mellifera*, dados abrangentes sobre estes meis são limitados. Esse produto complexo e natural requer metodologias e padrões oficiais e internacionais a serem estabelecidos para servir como referência para controle de qualidade, para evitar adulterações e para auxiliar fins de marketing. O trabalho sumariza a literatura existente em relação aos parâmetros físico-químicos, composição química, constituintes bioativos, propriedades biológicas e estratégias de detecção de modificações de mel oriundo de 478 amostras de 66 diferentes espécies de abelhas produzidas no mundo. O MASF é um dos alimentos naturais mais complexos. Este tipo de mel apresenta, quantitativamente, maior teor de umidade, maior acidez, menor teor de carboidratos totais e maior atividade antioxidante e biológica do que o mel de *Apis mellifera*. Esta revisão enfatiza que o mel de abelha sem ferrão representa uma inovação importante para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosmético, devido aos seus efeitos positivos para a saúde e seu potencial de mercado.

Palavras Chave: Meliponinae; composição química; valor nutricional; uso medicinal; antibacteriano; antioxidante, melissopalínologia.

1. INTRODUÇÃO

O potencial para o uso de mel de abelhas sem ferrão pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética vem crescendo nas últimas duas décadas. Uma pesquisa na plataforma Web of ScienceTM produziu mais de 200.000 resultados relacionados a "mel". Destas, mais de 17.000 referências estavam relacionadas com o "mel de *Apis*", mais de 900 resultados foram associados com "mel de *Melipona*" e mais de 700 estavam relacionados com mel de "Trigona". Dados publicados sobre "mel de abelha sem ferrão" aumentaram de 288 itens em 1998 para mais de 1.870 em 2018, ilustrando o crescente interesse da comunidade científica neste campo de estudo. O banco de dados discutido neste artigo incluiu 478 amostras de mel de 66 espécies diferentes de abelhas sem ferrão encontradas em todo o mundo.

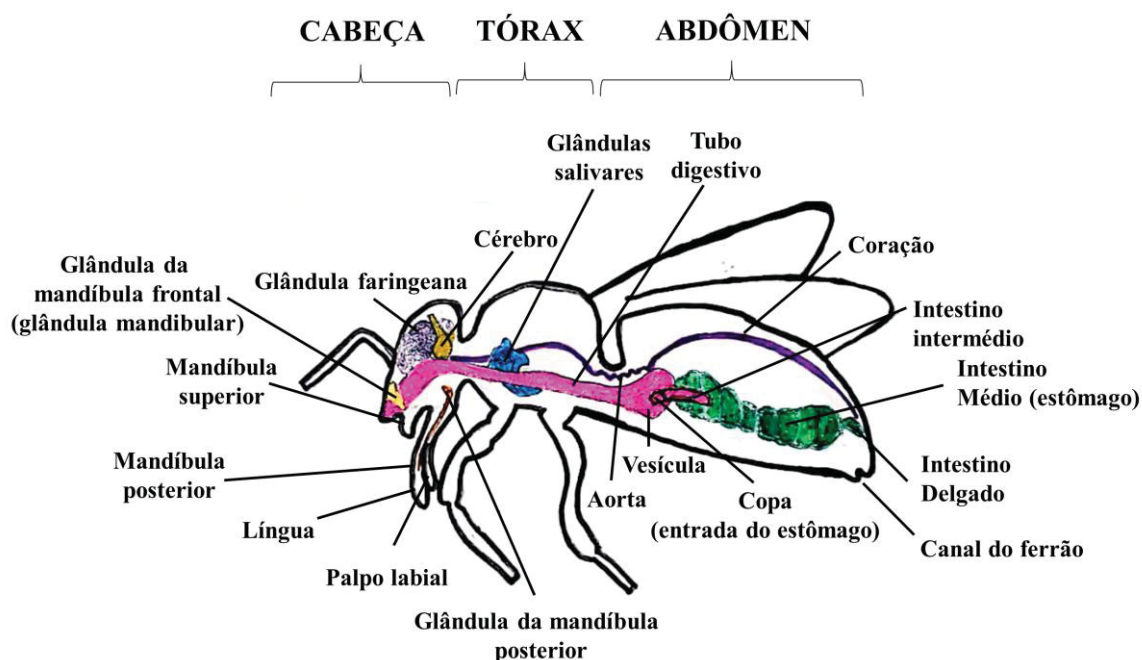
A utilização de mel de abelhas sem ferrão por seres humanos é um empreendimento antigo, embora não seja excessivamente documentado em registros históricos (MICHENER, 2013a). O mel é um dos alimentos naturais mais complexos; é composto principalmente de açúcares e outros constituintes, tais como enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, carotenoides, vitaminas, minerais e substâncias aromáticas. É rico em flavonoides e ácidos fenólicos que exibem uma ampla gama de efeitos biológicos e que também atuam como antioxidantes naturais (ALQARNI et al., 2014). Atualmente, existem dois tipos de mel que são produzidos e comercializados em todo o mundo: o mel tradicional de *Apis mellifera* e o mel produzido por abelhas sem ferrão.

As abelhas sem ferrão são um grande grupo de abelhas sociais distribuídas nos trópicos em todo o mundo. Elas são encontradas na América do Sul e Central, na África, no sudoeste da Ásia e na Austrália. As abelhas sem ferrão pertencem à família Hymenoptera e à subfamília Meliponinae. Existem mais de 500 espécies de abelhas sem ferrão identificadas em todo o mundo em 32 gêneros, com talvez mais de 100 novas espécies ainda a serem caracterizadas (MICHENER, 2013a). Rasmussen (2008) listou 89 espécies em 15 gêneros na região Indo/Austrália, e Chuttong et al. (2016a) descreveram 32 espécies em 10 gêneros da Tailândia.

Estas abelhas coletam e modificam quimicamente os néctares florais da rica vegetação de ambientes nativos com substâncias específicas próprias, por exemplo. secreções salivares das glândulas no abdômen das abelhas e enzimas de suas glândulas cefálicas, figura 1 (SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010; ELIAS-SANTOS

et al., 2013; CHUTTONG et al., 2016a). Este é armazenado e deixado para amadurecer no interior das colônias, o que resulta em um mel singular com um grau incomum de acidez, doçura e valor medicinal (CHUTTONG et al., 2016a; ABD JALIL et al., 2017). A composição química, sabor e aroma do mel estão fortemente associados à sua fonte botânica, área geográfica, condições ambientais, às espécies de abelhas envolvidas na sua produção e as condições de armazenamento (COSTA et al., 2018).

FIGURA 1. ANATOMIA DA ABELHA



FONTE: O AUTOR (2019).

Além de produzir méis com excelentes qualidades sensoriais altamente apreciadas por seus sabores característicos, estudos mostraram que abelhas silvestres e nativas também oferecem benefícios ecológicos e são responsáveis por uma proporção considerável de polinização de diferentes espécies de plantas (CHUTTONG et al., 2016a; COSTA et al., 2017). No entanto, as populações de abelhas sem ferrão estão em extinção devido à degradação ambiental (REYES-GONZÁLEZ et al., 2016). Muito tem sido feito no Brasil e no exterior para enfatizar a importância e o valor dessas abelhas em termos ecológicos e econômicos, bem como destacar a necessidade de preservar populações de abelhas nativas e suas colônias (OLIVEIRA et al., 2017a; OLIVEIRA et al., 2017b).

Quando comparada à produção de mel de *Apis mellifera*, a produção de mel de abelhas sem ferrão é limitada (ZUCCATO et al., 2017). Esta é uma consequência da ausência de padrões de controle de qualidade em relação ao mel de abelha sem ferrão, conhecimento limitado sobre o produto e baixos níveis de produção industrial. As abelhas sem ferrão produzem e armazenam muito menos mel em uma base por colmeia (1-5 kg de mel por ano dependendo da espécie) em comparação com as abelhas *Apis mellifera*, que são líderes mundiais na produção de mel, com uma média de 20 kg de mel por colmeia (CHUTTONG et al., 2016a). Por outro lado, o mel de abelha sem ferrão está disponível nos mercados tradicionais e tem um preço significativamente maior em relação ao mel de *A. mellifera* (ZUCCATO et al., 2017). O preço de mercado do mel das abelhas sem ferrão pode chegar a 100 reais/kg, (SHADAN et al., 2018) é mais que o dobro do preço do mel *Apis mellifera* (20-40 reais/kg) (SE, KUAN WEI; GHOSHALB; et al., 2018).

Devido ao limitado conhecimento existente sobre o mel de abelha sem ferrão, esta não inclui-se nos padrões internacionais para o mel (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001) e não é regulamentado pelas autoridades responsáveis pelo controle de alimentos (RAMÓN-SIERRA et al., 2015; CHUTTONG et al., 2016b). Da mesma forma, a falta de legislação específica sobre o mel de abelha sem ferrão resultou na distribuição mundial limitada deste produto em comparação com o mel de *Apis mellifera*. Consequentemente, a competitividade do mel proveniente das abelhas sem ferrão tem sido prejudicada nos mercados brasileiro e internacional (COSTA et al., 2017). Além disso, a falta de dados físico-químicos abrangentes significa que é ainda mais difícil detectar adulteração do mel de abelha sem ferrão. A obtenção dos parâmetros físico-químicos do mel é importante não só para a caracterização da diversidade das espécies de Meliponinae, mas também para garantir a qualidade do produto no mercado (NASCIMENTO et al., 2015). Nesta revisão, discutimos os parâmetros de qualidade das diferentes espécies de mel de abelhas sem ferrão produzidas em todo o mundo e destacamos os compostos bioativos e potenciais benefícios para a saúde, a fim de estimular o consumo e o interesse comercial.

2. ABELHAS SEM FERRÃO

As abelhas desempenham um papel fundamental em vários ecossistemas e têm sido cada vez mais destacadas como o principal agente responsável pela polinização de muitas espécies de plantas nativas e cultivadas; também asseguram a manutenção da variabilidade genética, produtividade e qualidade de muitos frutos (BARTELLI; NOGUEIRA-FERREIRA, 2014). As abelhas sem ferrão são particularmente promissoras para uso como polinizadores comerciais (CRUZ; CAMPOS, 2009). Não apresentam ferrão funcional, são de fácil manuseio (geralmente de baixa agressividade, ou seja, não ferroam), possuem ninhos populosos e perenes, apresentam comportamento de recrutamento de trabalhadores marcados e armazenam uma grande quantidade de alimento (BARTELLI; NOGUEIRA-FERREIRA, 2014).

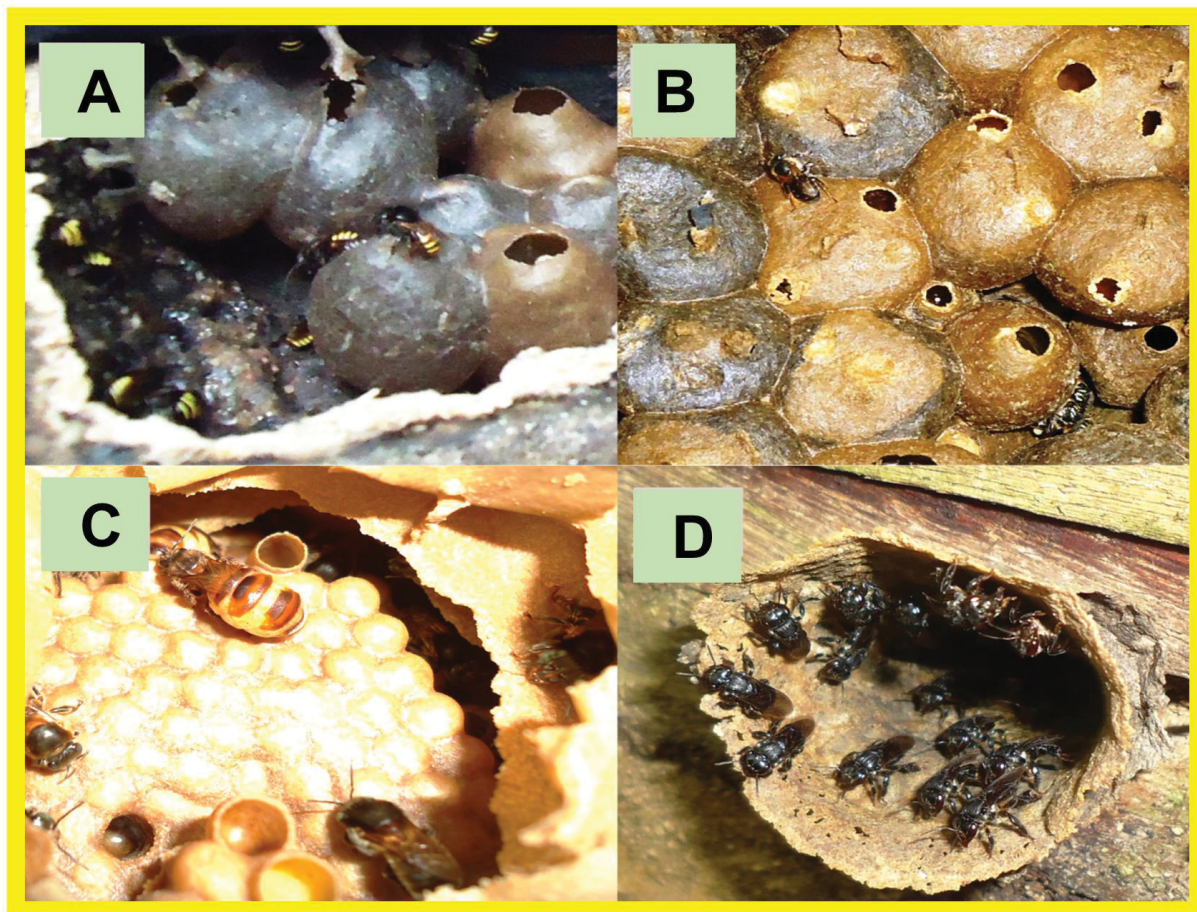
Essas abelhas são divididas em duas tribos. A primeira delas é Meliponini, que consiste apenas do gênero *Melipona*; estes são encontrados exclusivamente nos Neotrópicos e incluem diversas espécies como Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1936), Uruçu-verdadeira (*M. scutellaris* Latreille, 1811), Uruçu-boca-de-Renda (*M. seminigra* Friese, 1903), Uruçu-amarela (*M. mondury* Smith, 1863), Guaraipo (*M. bicolor* Lepeletier, 1836) e Manduri (*M. marginata* Lepeletier, 1836). A outra tribo, Trigonini, é uma espécie encontrada nos trópicos. Esta tribo é representada por vários gêneros, como Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811), Mirins (*Plebeia* sp., 1900), Borá (*Tetragona clavipes* Fabricius, 1804), Irapuá (*Trigona spinipes* Fabricius, 1793), Tubuna (*Scaptotrigona depilis* Moure, 1950), Marmelada (*Frieseomelitta* sp., 1902), Mombucão (*Cephalotrigona capitata* Smith, 1854), Caga-fogo (*Oxytrigona tataira* Smith, 1863), entre outros (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Segundo Nogueira-Neto (1997), há muita confusão sobre os nomes populares das abelhas sem ferrão. Além do fato de que novas espécies de abelhas estão constantemente sendo descobertas, muitas dessas abelhas têm variações linguísticas regionais. *Melipona quadrifasciata* Lep tem duas subespécies: *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. A subespécie *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* é encontrada em regiões frias e de grande altitude (Figura 2a). *Melipona quadrifasciata anthidioides* ocorre em habitats com temperaturas mais altas (WALDSCHMIDT et al., 2002). O mel produzido pela

espécie Mandaçaia tem um sabor particularmente agradável; uma mistura de doce e azedo com nota frutada. Este tipo de mel possui alto teor de umidade, caráter ácido e menor teor de carboidratos totais (a composição físico-química média é de aproximadamente 30 g/100g de umidade, 67g/100g de açúcar redutor, 44g/100g de acidez e pH 3,6 , Tabela 1) (NASCIMENTO et al., 2015; ÁVILA et al., 2016; BILUCA et al., 2016). Os ninhos dessas abelhas são dispersos na natureza, com a entrada construída com uma mistura de barro e resinas das plantas. Um certo número de abelhas está sempre estacionado na entrada, aparentemente agindo como sentinelas. A espécie Mandaçaia pode produzir 1,5 a 2,0 litros de mel em bons tempos de florada (OLIVEIRA, 2011a).

A Manduri, *Melipona marginata*, também é conhecida pelos nomes de Guarapu-Miúdo, Taipeira, Tiúba-Preta e Uruçu-Mirim. Esta espécie é resistente ao frio: ela tende a habitar o interior da mata para se aninhar e tende a se esconder de estranhos. No sul do Brasil, a espécie produz em média três litros de mel por verão e as colmeias são pouco povoadas, com cerca de 300 indivíduos (Figura 2b). Sua distribuição geográfica se estende desde a América Central até a Argentina e os estados brasileiros de Santa Catarina e São Paulo. *Melipona bicolor* é também conhecida pelos nomes de Fura-Terra, Garapu, Graipu, Guaraipo, Guarapu e Pé-de-Pau; comumente apresenta a rainha sendo fertilizada no ninho, o que é raro entre as abelhas sem ferrão. *Melipona bicolor* está incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção (Figura 2c). A abelha de *Scaptotrigona bipunctata*, também conhecida como Mandaguari Tubuna, pertence ao grupo de *Trigonas* (Figura 2d). É uma abelha muito agressiva, quando ameaçada libera um tipo de grude (cera mole), principalmente nos cabelos da vítima, e morde com suas mandíbulas. A colmeia dessas abelhas pode atingir populações de 2.000 a 50.000 indivíduos. Embora pequena em tamanho, a abelha Tubuna é considerada a maior produtora de mel entre as abelhas sem ferrão (OLIVEIRA, 2011b).

FIGURA 2. ESPECIES DE ABELHAS SEM FERRÃO: A) MELIPONA QUADRIFASCIATA; B) MELIPONA MARGINATA; C) MELIPONA BICOLOR; D) SCAPTOTRIGONA BIPUNCATA.



FONTE: O AUTOR (2016).

As abelhas sem ferrão diferem do gênero *Apis* em termos de cor, sabor e viscosidade do mel. Eles têm um teor de umidade mais alto (GUERRINI et al., 2009; ALMEIDA-MURADIAN, DE et al., 2014; BILUCA et al., 2016), bem como uma morfologia diferente (ausência de ferroada), diferente forma de construção do ninho e de coleta de néctar. Eles percorrem distâncias mais curtas na colheita quando procuram comida, constroem suas colmeias em posição horizontal e constroem potes de mel em vez de favos para armazenar o mel. Eles apresentam seletividade floral (VIT et al., 2004; MICHENER, 2013b) e os ninhos da maioria das abelhas sem ferrão são encontrados em cavidades de troncos, galhos e raízes de árvores, em casas de formigas inativas ou vazias e em ninhos de cupins (ROUBIK, 1989).

O mel produzido por essas abelhas é conhecido por sua doçura distinta misturada com um sabor ácido; uma textura mais fluida e cristalização lenta (BILUCA et al., 2016; JIMENEZ et al., 2016; ABD JALIL et al., 2017). Por todas estas

razões, o mel de abelha sem ferrão é muito diferente do produto tradicional da apicultura (ZUCCATO et al., 2017).

3. PARÂMETROS DE QUALIDADE E VALOR NUTRICIONAL DE MEL DE ABELHA SEM FERRÃO

As análises físico-químicas preconizadas pela legislação quanto ao controle de qualidade do mel puro de *Apis mellifera* são as seguintes: maturidade (açúcares redutores, umidade, sacarose aparente); pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas, pólen); e deterioração (acidez livre, atividade diastásica e hidroximetilfurfural - HMF) (BRASIL, 2000). Os dados físico-químicos referentes ao MASF atualmente disponível em artigos acadêmicos são apresentados na Tabela 1 e uma comparação entre MASF e mel de *Apis mellifera* é apresentada na Tabela 2.

Como pode ser observado na Tabela 1, quando comparados aos padrões relativos ao mel de *A. mellifera*, o MASF apresentou quantitativamente maior umidade (28,3 g/100g); maior acidez (76,3 meq /kg) e teor de carboidrato total ligeiramente menor (69,7 g/100g) (BILUCA et al., 2016).

TABELA 1. COMPOSIÇÃO FÍSICO QUÍMICA DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO.

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Cephalotrigona capitata</i>	2	3,04	34,33	0,19	0,73	35,40	-	75,21	0,36	32,10	0,18	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Frieseomelitta</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	21,00	-	Brasil	(SOUZA, B. et al., 2009)
<i>Frieseomelitta aff. Varia</i>	7	-	73,00	0,76	ND	1,10	1,34	61,00	4,80	19,90	7,80	Venezuela	(VIT et al., 1994)
<i>Geniotrigona thoracica</i>	1	3,36	-	-	-	-	0,96	-	-	28,17	-	Malásia	(ABU BAKAR et al., 2017)
<i>Heterotrigona itama</i>	4	3,32	-	0,44	-	-	2,80	-	-	28,43	-	Malásia	(ABU BAKAR et al., 2017)
<i>Homotrigona fimbriata</i>	1	3,30	528,00	1,00	2,60	46,00	-	22,40	-	41,00	-	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Hypotrigona sp</i>	3	3,75	35,57	-	0,30	-	5,74	60,49	1,83	17,50	-	Nigéria	(NWEZE et al., 2017)
<i>Lepidotrigona doipaensis</i>	2	3,50	197,50	0,66	1,19	2,30	-	27,80	-	32,00	1,7	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Lepidotrigona flavibasis</i>	4	3,70	168,00	0,51	1,30	8,50	-	29,00	-	28,00	3,1	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Lepidotrigona terminata</i>	1	3,50	194,00	0,24	0,78	-	-	13,00	-	30,00	0,29	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Lisotrigona furva</i>	2	3,90	53,00	0,32	0,34	0,21	-	60,00	-	28,00	-	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Melipon arufivestris mondory</i>	1	4,21	38,20	-	0,25	<LOQ	-	65,60	<LOQ	27,70	<3	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona asilvai</i>	7	3,55	54,20	0,09	5,46	14,70	0,33	61,70	3,30	37,50	-	Brasil	(SOUZA, B. DE A. et al., 2009)
<i>Melipona asilvai</i>	11	3,27	41,64	-	3,63	2,44	-	68,89	4,70	29,49	-	Brasil	(SOUZA, B. D. A. et al., 2004)
<i>Melipona beecheii</i>	8	3,20	41,52	0,46	0,58	9,23	2,71	-	-	28,62	1,3	Cuba	(SUAREZ et al., 2018)
<i>Melipona bicolor</i>	5	3,77	91,62	-	0,58	<LOQ	-	60,14	<LOQ	34,68	<3	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona bicolor</i>	4	3,32	48,58	0,18	0,54	31,58	-	68,43	0,57	36,18	0,12	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)

(continuação)

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Melipona Capixaba</i>	9	3,62	79,28	-	-	-	-	-	-	30,51	-	Brasil	(LAGE et al., 2012)
<i>Melipona Compressipes</i>	5	-	48,40	0,30	ND	1,00	0,49	75,70	1,60	23,40	1,10	Venezuela	(VIT et al., 1994)
<i>Melipona Compressipes</i>	2	3,74	23,88	-	-	-	-	60,39	0,14	26,70	-	Brasil	(ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA, 2007)
<i>Melipona compressipes manaosensis</i>	3	-	-	0,21	-	-	-	-	-	30,73	-	Brasil	(SOUZA, R. C. DA S. et al., 2004)
<i>Melipona crinita</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	28,80	-	Venezuela	(RODRÍGUEZ-MALAVÉ et al., 2009)
<i>Melipona eburnea</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	23,80	-	Venezuela	(FERNANDES et al., 2018)
<i>Melipona fasciculata</i>	20	4,35	29,05	0,32	-	-	-	51,35	7,85	25,45	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona fasciculata Smith</i>		3,15	145,28	0,10	-	3,14	-	50,13	1,45	24,00	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona favosa</i>	14	-	62,90	0,29	ND	1,20	0,41	72,10	1,50	25,50	0,90	Venezuela	(VIT et al., 1998)
<i>Melipona favosa</i>	6	-	36,80	0,15	2,06	17,10	0,71	70,30	2,00	24,20	2,86	Venezuela	(LEMOS et al., 2017)
<i>Melipona flavolineata</i>	4	3,41	143,67	-	-	34,62	-	59,31	5,52	35,11	-	Brasil	(RODRÍGUEZ-MALAVÉ et al., 2009)
<i>Melipona grandis</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	27,50	-	Venezuela	(RODRÍGUEZ-MALAVÉ et al., 2009)
<i>Melipona ilota</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	28,00	-	Venezuela	(VIT et al., 1998)
<i>Melipona lateralis kangarumensis</i>	3	-	40,70	0,11	1,65	3,90	0,23	64,80	1,10	28,80	2,76	Venezuela	(ALVES et al., 2005)

(continuação)

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Melipona mandacaiá</i>	20	3,27	43,48	-	3,52	5,79	-	74,82	2,91	28,78	-	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona marginata</i>	6	3,67	79,82	-	0,44	<LOQ	-	63,50	<LOQ	32,65	<3	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Melipona marginata</i>	3	2,93	22,55	0,14	0,62	48,09	-	67,39	0,85	32,44	0,19	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona mondury</i>	2	5,18	61,10	-	0,69	<LOQ	-	67,45	<LOQ	29,75	<3	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Melipona mondury</i>	3	3,50	37,89	0,25	0,51	51,38	-	67,77	0,85	29,97	0,20	Brasil	(LAGE et al., 2012)
<i>Melipona mondury</i>	11	4,19	61,51	-	-	-	-	-	-	-	-	Brasil	(VIT et al., 1998)
<i>Melipona paraenses</i>	4	-	30,40	0,14	1,37	3,40	0,14	60,80	1,20	26,40	2,90	Venezuela	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona quadriciata</i>	12	3,71	42,52	-	0,33	<LOQ	-	61,77	<LOQ	32,47	11,25	Brasil	(ÁVILA et al., 2016)
<i>Melipona quadriciata</i>	1	3,71	66,90	0,48	-	0,60	-	48,32	1,78	56,27	-	Brasil	(ALVES et al., 2005)
<i>Melipona quadriciata</i>	20	3,27	43,48	-	3,52	5,79	-	74,82	2,91	28,78	-	Brasil	(SOUZA, B. DE A. et al., 2009)
<i>Melipona quadriciata</i>	2	3,71	37,70	0,09	2,83	30,90	0,17	75,50	2,90	31,40	-	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Melipona quadriciata</i>	4	3,18	35,00	0,16	0,58	42,63	-	71,63	0,85	36,89	0,13	Brasil	(SOUZA, B. DE A. et al., 2009)
<i>Melipona quadriciata anthidioides</i>	9	3,99	40,60	0,10	5,48	16,00	0,29	68,30	3,10	32,10	-	Brasil	(LAGE et al., 2012)
<i>Melipona rufiventris</i>	7	4,24	42,00	-	-	-	-	-	-	-	-	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona rufiventris mondury</i>	1	4,21	38,20	-	0,25	-	-	65,60	-	27,70	<3	Brasil	(SOUZA, R. C. DA S. et al., 2004)

(continuação)

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Melipona rufiventris paraensis</i>	1	-	-	0,20	-	-	-	-	-	23,90	-	Brasil	(SOUSA, R. C. DA S. et al., 2004) (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005)
<i>Melipona seminigra merrillae</i>	1	-	-	0,30	-	-	-	-	-	27,00	-	Brasil	(SOUSA, B. DE A. et al., 2009)
<i>Melipona scutellaris</i>	1	4,66	28,33	0,17	-	18,92	-	-	-	25,26	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona scutellaris</i>	15	4,43	19,90	0,19	5,70	2,00	0,25	70,70	1,80	29,10	-	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Melipona scutellaris</i>	3	2,5	26,93	0,03	1,89	38,08	-	51,23	3,51	23,00	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona scutellaris</i>	1	4,52	28,70	-	0,15	<LOQ	-	62,70	<LOQ	23,40	<3	Brasil	(SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016)
<i>Melipona scutellaris</i>	4	3,48	27,25	0,16	0,54	40,86	-	66,41	0,70	33,98	0,11	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Melipona scutellaris Latrelle</i>	4	3,95	42,65	0,16	5,24	-	0,37	96,47	2,37	25,50	-	Brasil	(ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA, 2007)
<i>Melipona seminigra</i>	3	3,72	30,44	0,22	0,55	29,50	-	69,12	1,61	27,85	0,20	Brasil	(SILVA, T. M. S. et al., 2013)
<i>Melipona seminigra</i>	2	3,78	26,54	-	-	-	-	61,49	0,18	30,40	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona subnitida</i>	9	3,34	41,58	0,07	-	13,60	0,19	57,67	-	23,17	-	Brasil	(SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016)
<i>Melipona subnitida Ducke</i>		3,67	20,55	0,03	1,20	8,64	-	61,17	0,78	27,00	-	Brasil	(ALVES et al., 2011)
<i>Melipona subnitida Ducke</i>	4	3,82	42,75	0,19	5,13	-	0,35	97,10	1,85	26,40	-	Brasil	(SOUSA, B. et al., 2009)
<i>Melipona trinitatis</i>	4	-	24,20	0,12	ND	1,30	0,48	73,70	1,50	25,70	1,00	Venezuela	(SOUSA, B. et al., 2009)

(continuação)

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Nannotrigona</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	27,87	-	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Partamona</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	36,60	-	Brasil	(OLIVEIRA et al., 2013)
<i>Scaptotrigona bicunctata</i>	2	4,48	48,95	-	0,63	<LOQ	-	62,95	<LOQ	23,95	4,34	Brasil	(JIMENEZ et al., 2016)
<i>Scaptotrigona depilis</i>	3	3,40	98,43	0,18	-	27,75	-	65,30	-	>25	-	Brasil	(LEMOS et al., 2017)
<i>Scaptotrigona mexicana</i>	3	3,82	35,10	0,45	0,40	16,40	-	57,79	-	20,61	-	México	(SOUZA, B. et al., 2009)
<i>Scaptotrigona sp</i>	3	3,89	60,98	-	-	-	-	62,34	4,83	30,22	-	Brasil	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Scaptotrigona</i>	4	-	-	-	-	-	-	-	-	35,90	-	Brasil	(ODDO et al., 2008)
<i>Scaptotrigona xanthotricha</i>	3	3,58	28,78	0,21	0,62	58,27	-	66,32	1,22	29,84	0,62	Brasil	(BILUCA et al., 2016)
<i>Tetragona carbonaria</i>	8	4,00	128,90	0,48	1,64	1,20	2,02	42,00	1,80	26,50	0,40	Austrália	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetragona clavipes</i>	1	4,28	91,20	-	1,01	<LOQ	-	48,60	<LOQ	25,20	19,10	Brasil	(SOUZA, B. et al., 2009)
<i>Tetragonilla collina</i>	1	3,70	25,00	0,24	0,43	5,90	-	52,00	-	28,00	0,34	Taiilândia	(OLIVEIRA et al., 2013)
<i>Tetragonisca</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	26,60	-	Brasil	(PUCCIARELLI et al., 2014)
<i>Tetragonisca angustula</i>	1	4,20	69,06	0,36	-	55,63	-	53,00	-	25,00	-	Brasil	(VIT et al., 1998)
<i>Tetragonisca angustula</i>	28	3,72	79,00	-	-	-	-	43,00	-	24,00	-	Argentina	(BILUCA et al., 2016)
<i>Tetragonisca angustula</i>	3	-	48,30	0,38	7,32	9,80	1,42	65,90	2,10	23,20	23,00	Venezuela	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Tetragonisca angustula</i>	2	4,77	41,15	-	0,95	<LOQ	-	63,75	<LOQ	23,75	49,60	Brasil	(FUENMAYOR et al., 2012)
<i>Tetragonisca angustula</i>	4	4,08	27,00	0,33	0,72	27,99	-	66,75	0,82	25,99	22,43	Brasil	(ANACLETO et al., 2009)

(continuação)

Nome Científico	N	pH	Acidez Total (meq/kg)	Cinzas (g/100g)	Cond. Elétrica (mS/cm)	HMF (mg/kg)	Proteína (mg/g)	Açúcar redutor (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Umidade (g/100g)	Atividade Diastásica (Gothe)	País	Referência
<i>Tetragonisca angustula</i>	41	4,20	39,20	0,21	0,66	1,30	-	53,60	4,20	24,30	16,70	Colômbia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetragonisca angustula latreille</i>	28	4,10	45,23	0,39	13,37	9,39	0,37	55,46	0,95	24,37	32,28	Brasil	(SUNTIPARAPOP et al., 2015)
<i>Tetragonula fuscobalteata</i>	2	3,60	96,50	0,67	1,35	22,00	-	32,70	-	26,00	4,7	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetragonula laeviceps</i>	19	3,62	81,37	0,26	0,62	1,07	-	47,87	19,15	26,98	-	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetragonula laeviceps-pagdeni complex</i>	10	3,60	76,00	0,22	0,37	5,40	-	29,00	-	28,00	0,63	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetragonula festaceitarsis</i>	2	3,20	70,50	0,21	0,59	2,40	-	41,00	-	30,50	0,22	Tailândia	(CHUTTONG et al., 2016a)
<i>Tetrigona apicalis</i>	2	3,40	495,00	1,40	2,60	0,26	-	12,65	-	42,00	4,9	Tailândia	(BILUCA et al., 2016)
<i>Tetrigona melanoleuca</i>	1	3,60	592,00	3,10	2,80	28,00	-	7,45	-	43,00	0,15	Tailândia	(ISSARO et al., 2013)
<i>Trigona fuscipennis</i>	1	3,44	46,70	-	0,31	<LOQ	-	56,60	<LOQ	34,40	<3	Brasil	(ISSARO et al., 2013)
<i>Trigona sp.</i>	1	3,35	78,14	0,20	0,57	3,18	-	29,34	-	13,26	16,67	Tailândia	(ISSARO et al., 2013)
<i>Trigonataeviceps Smith</i>	1	3,44	50,83	0,14	0,57	3,32	-	27,37	-	15,73	13,64	Tailândia	(NASCIMENTO et al., 2015)
<i>Trigonapagdenis Shwarz</i>	1	4,01	20,00	0,22	0,45	3,97	-	41,64	-	14,66	11,11	Tailândia	(SOUZA, B. et al., 2009)
Média		3,74	76,34	0,34	1,79	16,41	1,04	57,11	2,59	28,33	7,00		
Desvio Padrão		0,44	102,44	0,44	2,33	17,05	1,35	17,56	3,15	6,18	10,86		
Limites para mel de <i>Apis mellifera</i>		3,3-4,6**	Maximo 50 mEq/kg *	Maximo 0,6 g/100g *	Maximo 60 mg/Kg *	Maximo 60 g/100g *	Maximo 5 g/100g *	Maximo 60 g/100g *	Maximo 5 g/100g *	Maximo 20 g/100g *	Maximo 20 g/100g *		

*CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2001). **BRASIL (1985).

TABELA 2. COMPARAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL E DA ATIVIDADE BIOLÓGICA ENTRE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO E MEL DE *APIS MELLIFERA*.

Análises	Abelha sem Ferrão	Referência	<i>Apis Mellifera</i>	Referência
Umidade (g/100g)	13,3 to 56,3	(VIT et al., 1994; PUCCIARELLI et al., 2014; ÁVILA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016a; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)	15,0 to 19,4	(BUBA et al., 2012; SOUZA et al., 2018)
Açúcar Total (g/100g)	50,0 to 98,8	(VIT et al., 1994; ALVES et al., 2005, 2011; SOUZA, B. et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2015; ABU BAKAR et al., 2017)	77,6 to 86,2	(BUBA et al., 2012)
Proteína (mg/g)	0,12 to 3,1	(SOUSA, J. M. et al., 2016; ABU BAKAR et al., 2017; OLIVEIRA, R. G. DE et al., 2017; VALE, DO et al., 2017; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)	0,02 to 1,8	(BUBA et al., 2012; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)
Lipídeos (g/100g)	<0,0 to 0,15	(SOUZA, R. C. DA S. et al., 2004; ALMEIDA-MURADIAN, DE et al., 2013; ABU BAKAR et al., 2017)	0,2 to 0,4	(BUBA et al., 2012; ALMEIDA-MURADIAN, DE et al., 2013)
Sódio (µg/g)	12,7 to 261,0	(BILUCA et al., 2017)	251,3 to 453,5	(BOUSSAID et al., 2018)
Potássio (µg/g)	263,0 to 4980,0	(BILUCA et al., 2017)	172,5 to 976,75	(BOUSSAID et al., 2018)
Calcio (µg/g)	88,7 to 138,0	(BILUCA et al., 2017)	113,8 to 221,1	(BOUSSAID et al., 2018)
Magnésio (µg/g)	25,9 to 231,0	(BILUCA et al., 2017)	37,3 to 78,1	(BOUSSAID et al., 2018)
Carotenóides (mg/kg)	0,6 to 6,2	(JIMENEZ et al., 2016)	1,2 to 4,7	(BOUSSAID et al., 2018)
Fenólicos Totais (mg GAE/100g)	1,3 to 5270,0	(ODDO et al., 2008; SILVA, I. A. A. DA et al., 2013; BILUCA et al., 2016; JIMENEZ et al., 2016; ABU BAKAR et al., 2017; NWEZE et al., 2017; OLIVEIRA, R. G. DE et al., 2017)	26,0 to 618,1	(GIORDANO et al., 2016; KUŠ et al., 2017; SOUZA et al., 2018)

(continuação)

Análises	Abelha sem Ferrão	Referência	Apis Mellifera	Referência
Flavonóides Totais (mg QE/100g)	1,9 to 5490,0	(ODDO et al., 2008; SOUSA, J. M. et al., 2016; ABU BAKAR et al., 2017; NWEZE et al., 2017; OLIVEIRA, R. G. DE et al., 2017)	0,2 to 87,3	(GIORDANO et al., 2018; SOUZA et al., 2018)
Ácido p-coumaric (µg/100g)	4,5 to 4500,0	(SOUSA, J. M. et al., 2016; BILUCA et al., 2017)	40 to 997,0	(GAŠIĆ et al., 2014; GASIC et al., 2015)
Ácido Ellagic (µg/100g)	120,0 to 4100,0	(SOUSA, J. M. et al., 2016)	28,0 to 848,0	(GAŠIĆ et al., 2014)
Hesperitina (µg/100g)	30,0 to 770,0	(SOUSA, J. M. et al., 2016)	4,0 to 84,0	(GASIC et al., 2015; KIVRAK et al., 2016)
Quercetina (µg/100g)	5,0 to 2330,0	(SOUSA, J. M. et al., 2016; BILUCA et al., 2017)	7,0 to 153,0	(GAŠIĆ et al., 2014; GASIC et al., 2015)
Naringenina (µg/100g)	4,0 to 910,0	(BILUCA et al., 2017)	102,0 to 368,0	(KIVRAK et al., 2016)
Canferol (µg/100g)	260,0 to 610,0	(SOUSA, J. M. et al., 2016)	3,0 to 172,0	(GAŠIĆ et al., 2014; GASIC et al., 2015; KIVRAK et al., 2016)
DPPH ^a (EC50 mg/mL)	3,8 to 54,4	(BASTOS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012; MURUKE, 2014; OLIVEIRA, R. G. DE et al., 2017)	4,3 to 41,8	(MURUKE, 2014)
DPPH ^a (RSA%)	1,4 to 97,3	(SILVA, I. A. A. DA et al., 2013; JIMENEZ et al., 2016; SOUSA, J. M. et al., 2016; ABU BAKAR et al., 2017; BILUCA et al., 2017; TUKSITHA et al., 2018)	1,3 to 25,6	(GAŠIĆ et al., 2014)
FRAP ^b (µmol Fe ²⁺ /100g)	61,1 to 5060,0	(BILUCA et al., 2016; JIMENEZ et al., 2016; NWEZE et al., 2017; TUKSITHA et al., 2018)	200,0 to 500,0	(KUŠ et al., 2017)
ORAC ^c (µmol TE/100g)	8,9 to 667,0	(BILUCA et al., 2016, 2017; SOUSA, J. M. et al., 2016)	89,43 to 597,1	(MAHMOODI-KHALEDI et al., 2016; GIORDANO et al., 2016)

2018)

(continuação)

Análises	Abelha sem Ferrão	Referência	Apis Mellifera	Referência
ABTS ^d (µmol TE/100g)	23,2 to 233,9	(ODDO et al., 2008; SOUSA, J. M. et al., 2016)	11,8 to 60,52	(MAHMOODI-KHALEDI et al., 2016)
<i>Staphylococcus aureus</i> (CIM %) ^e	2 to 16	(BOORN et al., 2010; EWNETU et al., 2013; SOUSA, J. M. et al., 2016; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018; TUKSITHA et al., 2018)	2 to 10	(TENORE et al., 2012; EWNETU et al., 2013; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)
<i>Listeria monocytogenes</i> (CIM %) ^e	3 to 20	(BOORN et al., 2010; SOUSA, J. M. et al., 2016; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)	2 to 17	(TENORE et al., 2012; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)
<i>Bacillus cereus</i> (CIM %) ^e	4 to 8	(BOORN et al., 2010)	2 to 15	(TENORE et al., 2012)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIM %) ^e	3 to 12	(BOORN et al., 2010; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018; TUKSITHA et al., 2018)	10 to 25	(TENORE et al., 2012; SOUSA, J. M. et al., 2016; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)
<i>Candida albicans</i> (CIM %) ^e	3 to 10	(BOORN et al., 2010; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)	20 to 40	(TENORE et al., 2012; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018)

GAE equivalente ao ácido gálico; QE equivalente a quercetina; EC50 concentração proporcionando 50% de inibição; RSA atividade de eliminação de radicais; TE equivalentes ao TROLOX; ^aDPPH capacidade de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrylhidrazil; ^bFRAP poder de redução de ferro (III)/complexo de ferricianeto; ^cORAC capacidade de absorção de radicais de oxigênio; ^dABTS Atividade de captura de radical do ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolono-6-sulfônico; ^eCIM concentração inibitória mínima.

O mel é uma solução concentrada de açúcares redutores, com frutose e glicose representando a maior proporção de sua composição. Apesar do alto nível de frutose relatado, 48,1% dos MASF (Tabela 1) contém níveis mais baixos de açúcares redutores quando comparados aos padrões de mel de *Apis mellifera* (BILUCA et al., 2014, 2016; CHUTTONG et al., 2016a; SOUSA, J. M. et al., 2016). Segundo Sousa et al. (2016), após a frutose, o tipo de açúcar presente em maior quantidade no mel das abelhas sem ferrão é a glicose, seguida da sacarose. O perfil de carboidratos em mel de onze espécies de abelhas sem ferrão da Ásia apresentou $51,0 \pm 21,0$ g/100g de açúcar total; $17,0 \pm 9,7$ g/100g de frutose; $14,0 \pm 8,6$ g/100g de glicose; $41,0 \pm 15,0$ g/100g de maltose; e $1,2 \pm 2,7$ g /100g de sacarose (CHUTTONG et al., 2016a). Em relação ao espectro de açúcares, o dissacarídeo maltose foi detectado em apenas em três de 11 espécies de abelhas sem ferrão avaliadas, mas quando presente foi frequentemente a molécula de carboidratos dominante (BILUCA et al., 2016).

Biluca et al. (2016) relataram teor de açúcar redutor em 67% das amostras brasileiras de MASF (n = 33) similar ao mel de *Apis mellifera*, com média de 62 g/100g. No entanto, outro estudo de Chuttong et al. (2016a) indicou uma média inferior a 60% para o teor de açúcares redutores de todas as amostras analisadas (n = 28). Esses dados contraditórios sugerem que o perfil de açúcar do mel das abelhas sem ferrão pode variar de uma região para outra, dependendo das espécies florais predominante naquela região (SE, KUAN WEU et al., 2018). De acordo com estudos, o tempo necessário para o mel cristalizar depende principalmente da proporção de frutose e glicose (F/G), isto é, o mel com uma razão superior a 1,3 pode permanecer fluido durante mais tempo. A quantidade de água presente no mel também é importante pois a frutose tem uma maior solubilidade na água do que a glicose (ESCUREDO et al., 2014). Em um estudo de Sousa et al. (2016), a relação F/G no mel avaliado variou de 1,1 a 1,5; os autores mencionam que essa proporção influenciou diretamente o sabor adocicado do mel porque a frutose apresenta um poder edulcorante maior que a glicose.

No mel produzido por *Apis mellifera*, o valor de sólidos solúveis (Brix) é sempre descrito como maior que o encontrado em mel de abelha sem ferrão, relacionado ao maior teor de água e conseqüentemente menor teor de açúcar (BILUCA et al., 2016). Não foram observadas diferenças ($p \geq 0,05$) em relação à fonte floral entre as 24 amostras compostas por uma mistura de mel de abelha sem

ferrão do Sudeste Asiático, e o Brix variou de 71,1 a 74,7 (SOUSA, J. M. et al., 2016).

O teor de água é considerado uma das características mais importantes do mel, pois afeta várias de suas características, como viscosidade, peso específico, maturidade, sabor e cristalização (NASCIMENTO et al., 2015). A ocorrência de mel aquoso em abelhas sem ferrão pode estar relacionada à umidade de ambientes tropicais, em que é difícil extrair néctar com baixo teor de água, além de outros fatores como coleta de néctar de flores rasteiras e frutos maduros ricos em água, ou mesmo devido as diferentes espécies de abelhas (RAMÓN-SIERRA et al., 2015). Além disso, altos níveis de atividade de água ($> 0,6$) permitem que os microrganismos sobrevivam e sejam ativos, para que eles possam fermentar naturalmente dentro da embalagem (ZUCCATO et al., 2017).

Segundo Evangelista-Rodrigues et al. (2005), mel de abelhas africanizadas e nativas (*Melipona scutellaris*) diferem em termos de teor de umidade, mesmo quando são produzidas na mesma região. Os autores supracitados relatam que as abelhas nativas apresentaram maior teor de umidade. Nos méis monoflorais produzidos pelas abelhas sem ferrão *M. Subnida Duke* e *Melipona scutellaris Latrelle*, o conteúdo de água variou de 23,9 a 28,9 g/100g (SOUSA, J. M. et al., 2016); no caso das espécies *Homotrigona*, *Lepidotrigona*, *Lisotrigona*, *Tetragonilla*, *Tetragonula* e *Tetrigona*, a umidade variou de 25,0 a 47,0 g/100g (CHUTTONG et al., 2016a). Em um estudo realizado por Biluca et al. (2016), 33 amostras de mel de dez espécies foram analisadas e os resultados mostraram níveis de umidade de 23,1 a 43,5% (p/p). Deve-se notar que a legislação estabelece que o mel *Apis* não deve conter mais de 20 g de umidade/100g de mel (BRASIL, 2000).

A atividade da água (a_w) é um parâmetro que foi recentemente adotado para mel; não há limites sugeridos na legislação atual. Um estudo de 20 amostras de mel de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) na cidade de Piracicaba, São Paulo, Brasil, encontrou valores de a_w variando de 0,59 a 0,82 (ANACLETO et al., 2009). No mel das plantas de Jupará (*Melipona compressipes manoenseense*) e Jandaíra (*Melipona seminigra merribae*) coletadas na Amazônia, a a_w variou de 0,74 a 0,76 (ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA, 2007). A atividade de água necessária para o desenvolvimento de microrganismos é abaixo de 0,98 e depende da classe de microrganismos (em torno de 0,7 para bolores; 0,8 para leveduras e 0,9 para bactérias). Uma vez que as leveduras osmofílicas só são capazes de crescer em

níveis de atividade de água acima de 0,6, o MASF investigado não seria considerado seguro em relação à fermentação (GLEITER et al., 2006).

O valor da acidez (número de íons hidrogênio presentes em uma substância na forma de ácido fixo ou volátil) corresponde ao balanço de ácidos orgânicos presentes no mel e varia de acordo com a composição floral e as espécies de abelhas. O valor da acidez também pode ser devido à fermentação de açúcares pelo álcool por microrganismos e posterior oxidação a ácidos carboxílicos (RAMÓN-SIERRA et al., 2015; SOUSA, J. M. et al., 2016). Sousa et al. (2016) relataram que MASF de diferentes fontes florais e/ou espécies apresentou valores de acidez variando de 17,9 a 86,8 mmol H⁺/L no Brasil. Em outro estudo das espécies *Melipona*, *Scaptotrigona*, *Tetragonisca*, *Tetragona* e *Trigona*, a acidez livre ficou entre 16,2–139,0 mEq/kg (BILUCA et al., 2016). Além disso, quatro amostras de mel de três espécies da Tailândia (*Homotrigona fimbriata*, *Tetrigona apicalis* e *Tetrigona melanoleuca*) exibiram extraordinariamente alta acidez total, variando de 440,0 a 592,0 mEq/kg (CHUTTONG et al., 2016b).

Segundo Sousa et al. (2016), as faixas de pH encontradas no mel das abelhas sem ferrão foram de 3,1 a 5,3. Biluca et al. (2016) relataram valores de pH de 3,3 a 6,6 e Chuttong et al. (2016b) encontraram valores de pH entre 3,1 e 3,9 para os MASF. Estes valores estão de acordo com aqueles estabelecidos para os padrões de mel *A. mellifera* apresentados na Tabela 1 (BRASIL, 1985). Curiosamente, as substâncias mandibulares das abelhas, como enzimas (proteases, lipases e lactases) e proteínas, que são adicionadas ao néctar durante o transporte até a colmeia, também podem alterar o pH do mel (ELIAS-SANTOS et al., 2013; KARABAGIAS; HALATSI; et al., 2017).

Ao definir o teor de cinzas, é possível determinar algumas irregularidades no mel, como a falta de higiene ou a falta de decantação e/ou filtração do mel no final do processo pelo apicultor (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005). Os dados referentes ao teor de cinzas no MASF da Ásia apresentaram uma amostra de mel de *Tetrigona melanoleuca* com teor de 3,1g/100g e outras amostras com <1,8g/100g de mel (CHUTTONG et al., 2016b). Sousa et al. (2016) relataram que o alto teor de cinzas em alguns méis pode ser devido às características do néctar de algumas espécies botânicas. Por outro lado, o mel da mesma origem botânica não diferiu ($p \geq 0,05$) em termos de teor de cinzas para diferentes espécies de abelha produtoras (faixa de 0,03 a 0,52 g/100 g).

A condutividade elétrica do mel também está associada ao teor de cinzas (teor mineral) e acidez, revelando a presença de íons, ácidos orgânicos e proteínas (SILVA, DA et al., 2016). Alves et al. (2005) sugerem que a avaliação da condutividade elétrica poderia substituir a análise de cinzas, já que a primeira medida é diretamente proporcional ao teor de cinzas. Em mel de *Melipona subnitida*, *Melipona scutellaris* e *Melipona mexicana*, os valores foram da ordem de 0,12, 0,19 e 0,45 mS/cm, respectivamente (ALVES et al., 2011). Em onze espécies da Tailândia, o intervalo foi de 0,32-2,80 mS/cm; em dez espécies brasileiras a variação foi de 0,15 a 1,34 mS/cm (BILUCA et al., 2016); e as espécies *M. subnitida* Duke e *M. scutellaris* Latrelle apresentaram valores de 0,30 a 0,67 mS/cm (SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016). Todos esses valores foram inferiores aos requeridos para *Apis M.* pelo Codex Alimentarius (2001), que estipula 0,80 mS/cm.

Os parâmetros de cor L* (claridade), a* (vermelhidão-verdura) e b* (amarelo-azul) usando os valores CIE-LAB as abelhas *Scaptotrigona mexicana* indicaram que o mel apresentou componentes vermelho e amarelo, a* (-0,68) e b* (7,98). O parâmetro L* (16,13) apresentou um valor ≤ 50 , classificando-o como um mel escuro. Todo o mel puro escurece gradualmente devido a várias reações não-enzimáticas, conhecidas como reações de *Maillard* (CAN et al., 2015). De acordo com Chuttong et al. (2016b), a faixa de cor do mel foi de 30,0 a 104,0 mm na escala Pfund, e a cor média do mel se classificaria como âmbar claro, que cai na faixa de 50,0–70,0 mm Pfund. Em outro estudo, a cor apresentou valores maiores ($p < 0,05$) na escala Pfund de 35,8 a 103,4 mm para mel de Juazeiro, no Brasil, sendo classificado como âmbar. Curiosamente, este tipo de mel também apresentou os maiores valores de cinzas e pH ($p < 0,05$) quando comparado a todas as outras amostras de mel. Da mesma forma, Guerrini et al. (2009) relataram que amostras de cor âmbar marrom (15,0 mm Pfund) apresentaram valores de cinzas mais elevados do que aqueles relatados para o mel de cor clara. Fatores como exposição à luz, calor e tempo de armazenamento, bem como reações enzimáticas, também podem afetar esse parâmetro (SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016).

Hidroximetilfurfural (HMF) é amplamente conhecido como um parâmetro de frescor e qualidade dos méis. O HMF é um composto orgânico heterocíclico de seis carbonos contendo grupos funcionais aldeído e álcool (hidroximetil) que é formado pela degradação de açúcares através da reação de *Maillard* (uma reação de escurecimento não enzimático). A produção desta substância é influenciada

principalmente pelo processo de aquecimento, bem como pelo tempo prolongado de armazenamento. A formação de HMF está correlacionada com as características químicas dos méis, como a presença de açúcares simples (glicose e frutose), ácidos e minerais, os quais, por sua vez estão relacionados à fonte floral do mel (SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016). O conteúdo de HMF também pode ser influenciado pelo clima. Amostras de regiões tropicais, que estão expostas a altas temperaturas por um longo período, podem fornecer HMF (SUNTIPARAPOP et al., 2015; CHUTTONG et al., 2016b).

Sousa et al. (2016a) analisaram 24 amostras de mel fresco monofloral produzidas por abelhas sem-ferrão *M. subnida* e *M. scutellaris* e não detectaram HMF. Esses resultados são comparáveis aos de Biluca et al. (2016), que estudaram dez espécies diferentes de abelhas sem ferrão produzidas no estado de Santa Catarina, no sul do Brasil, que apresentavam teor de HMF abaixo do limite de quantificação. O Codex estabelece que o teor de HMF do mel após processamento e/ou mistura não deve ser superior a 40 mg/kg. No entanto, no caso de mel de origem declarada de países ou regiões com temperaturas ambientes tropicais, bem como misturas desses méis, o teor de HMF não deve ser superior a 80 mg/kg (Codex Alimentarius Commission, 2001). Chuttong et al. (2016b) relataram que o mel de abelha sem ferrão da Tailândia mostrou um alto nível de variabilidade entre espécies. Uma amostra analisada a partir de *Homotrigona fimbriate* apresentou o maior teor de HMF, que foi de 46 mg/kg.

Segundo Biluca et al. (2014), nenhuma das treze amostras de MASF apresentou HMF, e após as mesmas condições de tratamento térmico (75, 85 e 95° C por 20, 40 e 60s), o mel *Apis mellifera* apresentou maior teor de HMF. Esses resultados também sugerem que a alta temperatura relacionada a um tratamento térmico mais breve pode ser uma maneira eficiente de prolongar o prazo de validade sem afetar o conteúdo de HMF em MASF. A possível resistência à formação de HMF em MASF pode ser explicada pelo teor de umidade e acidez elevados (GUERRINI et al., 2009). Quando a a_w é maior, a reação de *Maillard* diminui e, assim, a formação de HMF diminui (FENNEMA, 2000). Edelky et al. (2010) também relataram que o tratamento térmico causou uma redução no teor de umidade e acidez total, mas aumentou o HMF e reduziu o teor de açúcar no mel de *Melipona subnitida*. Além disso, este estudo enfatizou que o conteúdo de HMF aumenta à

medida que o mel é aquecido ou armazenado por longos períodos de tempo em temperaturas mais altas.

O mel das abelhas sem ferrão pode deteriorar-se mais rapidamente que o mel *Apis mellifera* devido ao seu menor nível de doçura e maior teor de umidade. Esses são critérios-chave para fatores como: a determinação dos melhores processos em termos de conservação e armazenamento; a prevenção da fermentação ou cristalização; e o controle de aumentos de aw para valores em que certos fungos filamentosos como *Penicillium* e *Mucor* poderiam crescer em sua superfície (GOMES et al., 2010). Este mel requer maiores níveis de cuidado durante a colheita e precisa ser refrigerado, pasteurizado ou submetido a desumidificação para garantir sua durabilidade. Se for refrigerado ao longo do tempo, a cristalização pode ocorrer. Os processos de pasteurização e desumidificação reduzem o teor de água, mas podem ser responsáveis pela perda de aromas e sabores no mel (SILVA et al., 2009).

Curiosamente, os apicultores brasileiros sem ferrão recomendam e utilizam uma técnica de preservação conhecida como maturação, na qual o mel recém-colhido é fermentado pela microbiota naturalmente presente (leveduras osmofílicas) (CAMARGO et al., 2017). Analisando o mel fermentado (ácido e alcoólico) e armazenado por 180 dias à temperatura ambiente, Ribeiro et al. (2018) estudaram os efeitos da refrigeração, pasteurização e maturação em temperaturas controladas (20° C e 30° C) sobre as características físico-químicas e sensoriais do mel de Tiúba (abelha nativa). Observou-se que o congelamento causou uma redução na viscosidade e no teor de umidade, e que a pasteurização levou a uma redução no pH do mel de Tiúba. O perfil sensorial das amostras maturadas mostrou que os atributos eram um aroma ácido, sabor fermentado, viscoso e um gosto arenoso. No entanto, quando o mel de *Melipona fasciculata* foi preservado por congelamento, pasteurização e maturação a 20° C e 30° C, foi aprovado e aceito pelos consumidores.

O elemento mineral mais abundante no mel das abelhas sem ferrão é o potássio (263-4980 µg/g), seguido pelo cálcio (88,7-138 µg/g), sódio (12,7-261 µg/g) e magnésio (25,9-231 µg/g) (BILUCA et al., 2017). O mel reflete os componentes químicos das plantas das quais as abelhas coletam seus alimentos, de modo que o conteúdo dos oligoelementos presentes no mel depende do tipo de solo em que as plantas e o néctares são encontrados (ESCUREDO et al., 2014). Há relatos de que

o mel de abelha *Apis mellifera* apresentou os mesmos níveis de conteúdo mineral que o MASF (ALQARNI et al., 2014; BOUSSAID et al., 2018).

4. CONTEÚDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Centenas de compostos bioativos já foram identificados em MASF em diferentes países (SILVA et al., 2013a,b; BILUCA et al., 2017). Os compostos fenólicos presentes no mel estão diretamente relacionados a fontes botânicas, como pólenes, néctares, resinas e óleos, que estão disponíveis para as abelhas. Conseqüentemente, o mel de diferentes origens florais possui propriedades bioativas distintas (VIT, 2013).

O processo pelo qual o MASF é feito (dentro de potes de cerume) pode explicar suas propriedades bioativas. Cerume é um produto da resina vegetal que as abelhas sem ferrão coletam; eles combinam secreções salivares das glândulas do abdômen e da cera de abelha para construir e selar suas colmeias (SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010). Há uma mudança física inicial no néctar nos locais de cerume devido à evaporação de uma grande quantidade de água. Subseqüentemente, uma transformação biológica ocorre através do processo de fermentação por leveduras e bactérias. Finalmente, ocorre uma transformação química quando as operárias secretam as enzimas de suas glândulas cefálicas, induzindo a hidrólise da sacarose no néctar em frutose e glicose. Portanto, a composição fitoquímica do mel é influenciada pela presença dos fitoquímicos do cerume (TEMARU et al., 2007; MICHENER, 2013a; ABD JALIL et al., 2017).

Em um estudo realizado na Austrália por Massaro et al. (2011) em extratos de ceras de abelhas sem ferrão, foi observado a presença de ácido gálico, ácido pimerico e isômero de ácido pítrico. Além disso, em um estudo *in vitro* utilizando ensaios isentos de células 5-lipoxigenase (5-LOX), que é uma enzima conhecida por catalisar a produção de mediadores pró-inflamatórios, o cerume demonstrou um potencial para prevenir a oxidação lipídica do ácido linoleico, exibindo assim um efeito antioxidante potente (MASSARO et al., 2014).

É importante enfatizar que o mel contém compostos antioxidantes significativos, incluindo substâncias como carotenoides, enzimas, aminoácidos, proteínas, produtos de reação de *Maillard*, ácidos orgânicos e polifenóis, especialmente flavonoides e ácidos fenólicos (SILVA et al., 2013a; RAMÓN-SIERRA

et al., 2015; CHUTTONG et al., 2016a). O teor de carotenoides no MASF nativas do México foi de 0,6 a 6,2 mg/kg (JIMENEZ et al., 2016). Com relação ao teor de proteínas do mel, isso variou de acordo com a espécie (SILVA, DA et al., 2016). Em uma região semiárida brasileira, *M. subnida* Duke e *Melipona scutellaris* Latrelle continham de 0,2 a 0,5 g/100 g de proteína, enquanto os níveis de prolina variaram de 20,5 a 4,6 mg/kg (SOUSA et al., 2016a). O teor total de compostos fenólicos nas amostras de mel variou de 1,3 a 126,0 mg de equivalente em ácido gálico (GAE)/100g (SILVA, et al., 2013a; BILUCA et al., 2016; JIMENEZ et al., 2016) e teor de flavonoides totais de $4,2 \pm 0,6$ a $1,9 \pm 0,1$ mg de equivalentes de quercetina (QE)/100g (SOUSA et al., 2016b).

Biluca et al. (2017) encontraram 26 compostos fenólicos individuais, 12 ácidos fenólicos, nove flavonoides, três aldeídos fenólicos, uma cumarina e um diterpeno na maioria das amostras estudadas no sul do Brasil. Os compostos mais presentes no mel foram: ácido salicílico (8,0-94,8 $\mu\text{g}/100\text{g}$), ácido p-cumárico (4,5-64,3 $\mu\text{g}/100\text{g}$), naringina (4,0-32,0 $\mu\text{g}/100\text{g}$) e taxifolina (12,0 -1920 $\mu\text{g}/100\text{g}$). Em outro estudo, a espécie de *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* mostrou a presença de quatorze compostos fenólicos, incluindo o flavonoide taxifolina e o catecol (SILVA et al., 2013a).

Em *M. subnitida*, Jandaíra, mel do estado da Paraíba (Brasil), foram quantificados os ácidos gálico, vanílico, 3,4-di-hidroxibenzóico e cumárico, assim como os isômeros do ácido abscísico (*trans-trans* e *cis-trans*) (SILVA et al., 2013b). Foi relatado que ácido 2,4-dihidroxibenzóico, ácido 3,4-hidroxibenzóico, ácido ferúlico, ácido elágico, ácido *trans*-cinâmico, ácido p-cumárico, ácido siríngico e os flavonoides, miricetina, quercetina, catequina, rutina, caemferol, hesperetina, naringenina e crisina foram encontrados em mel de *M. subnitida* e *M. scutellaris* Latrelle. Um total de 19 compostos foram identificados no mel de *M. beecheii* analisando por HPLC-DAD-ESI-MS/MS (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018). Os autores encontraram a presença de C-pentosil-C-hexosil-apigenina, ácido cumárico, quercetina, isoramnetina, caemferol, luteolina, apigenina, quercetina, ácido ferúlico e ácido di-hidráulico.

Em outro estudo, três espécies de abelhas (*Melipona flavolineata*, *M. Mexicana* e *Apis mellifera*) de diferentes regiões da Amazônia mostraram a presença de quatorze compostos fenólicos; os compostos em quantidade expressiva foram: ácido gálico e quercetina (OLIVEIRA et al., 2012). Da mesma forma, Souza et al.

(2018) relataram que o ácido gálico foi o composto fenólico mais abundante encontrado no mel brasileiro de *Apis mellifera*, enquanto os ácidos protocatecúico, cinâmico e *p*-cumárico e quercetina e miricetina também foram detectados em menores quantidades. O ácido gálico tem demonstrado possuir várias propriedades bioativas, como atividade bacteriostática e antioxidante, efeitos anticancerígenos nas células do carcinoma da próstata, apoptose e atividade indutora de necrose nas células do câncer do colo uterino (HELENO et al., 2015). Todos os compostos bioativos presentes no mel de *Apis* podem ser encontrados em mel de abelha sem ferrão; em ambos os tipos de mel, o perfil fenólico é dependente de sua origem botânica (SOUZA et al., 2018).

A origem botânica e geográfica do mel pode ser avaliada pela técnica de melissopalínologia, que é utilizada para avaliar os tipos de pólen presentes no mel e sugerir sua fonte floral. As abelhas sem ferrão podem mudar seu nicho trófico ao longo do ano devido a fatores como a disponibilidade de recursos florais (pólen, néctar e resina); oscilações climáticas; a distância entre a colônia e as espécies de plantas com flor; bem como a competição exercida por espécies exóticas e outras espécies de abelhas nativas (SILVA et al., 2013a).

A análise melissopalínológica do mel de *M. subnitida* do Brasil indicou a presença de 19 tipos polínicos de nove famílias e *M. caesalpinifolia* foi o tipo de pólen predominante em oito das nove amostras de mel analisadas (SILVA et al., 2013b). O mel de abelhas sem ferrão equatoriano oriental mostrou diferentes tipos de pólen pertencentes a 14 famílias botânicas (dados consistentes com a distribuição fitogeográfica das espécies vegetais na área amostrada e saqueada) (GUERRINI et al., 2009). Em um estudo por Silva et al. (2013a), que investigou a análise melissopalínológica do mel de abelha sem ferrão da região amazônica, foram identificados 22 tipos polínicos, pertencentes a 16 famílias botânicas diferentes. A família *Fabaceae* destacou-se no espectro polínico, com seis tipos de pólen reconhecidos, e as amostras com um tipo predominantemente de pólen apresentaram o maior teor fenólico total.

5. POTENCIAL ANTIOXIDANTE E MEDICINAL

Mel de abelhas sem ferrão contém elevado nível de flavonoides e potencial antioxidante do que o mel proveniente de *Apis mellifera* (Tabela 2). Alvarez-Suarez

et al., (2018) avaliaram o poder antioxidante do mel de *M. beecheii* e encontraram valores mais altos de capacidade antioxidante, além de maior teor de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, aminoácidos livres e proteínas, em comparação com o mel de *A. mellifera*. Oddo et al. (2008) avaliaram o mel de *Trigona carbonaria* na Austrália e concluíram que a atividade antioxidante era maior que a do mel floral europeu, embora sua atividade de eliminação de radicais fosse igual à encontrada em amostras de mel europeu.

Um estudo realizado na região Nordeste do Brasil revelou que o mel de abelha sem ferrão de *Melipona* (Michmelia) *seminigra merrillae* apresentou alto potencial antioxidante (Silva et al., 2013a). Além disso, mel de *T. mexicana*, *Melipona fasciculata*, *Melipona subnitida* e *Melipona aff. Fuscopilosa* apresentaram atividade antioxidante significativa *in vitro*. De todas as amostras de mel de abelha sem ferrão, *T. carbonaria* mostrou a melhor atividade antioxidante, indicando que a atividade antioxidante do mel varia dependendo do tipo de mel (RAO et al., 2016).

Segundo Biluca et al. (2016), trinta e três amostras de dez espécies de mel apresentaram atividade antirradical (em relação ao DPPH), com valores de 1,4 mg EAA/100g a 18,5 mg EAA/100g. Silva et al. (2013b) também analisaram o mel de abelhas sem ferrão e encontraram valores variando de 10,6 a 12,9 mg EAA/100g. No semiárido brasileiro, um raro mel monofloral produzido por uma espécie distinta de abelhas sem ferrão mostrou atividade eliminadora de radical (RSA) pelo DPPH de $11,2 \pm 1,3$ para $46,9 \pm 1,9\%$ (SOUSA et al., 2016b). Os valores da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox – TEAC para ORAC (capacidade de absorção de radicais de oxigênio) variaram de $8,9 \pm 0,1$ a $54,3 \pm 0,3$ $\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ g}$ (SOUSA et al., 2016b). Além disso, o valor TEAC para análise de FRAP em MASF (redução do poder de Fe^{3+}) foi de 61,1 mmol Fe (II)/100g para *M. Mexicana* e 624,0 mmol Fe (II)/100g para *M. marginata* (BILUCA et al., 2016). O mel monofloral produzido por *M. subnitida* Ducke e *M. scutellaris* Latrelle apresentou maiores potenciais de inibição em relação ao radical ABTS que o DPPH (até quatro vezes). Curiosamente, foram encontradas correlações significativas ($p \leq 0,01$) entre o ORAC e a atividade de eliminação de radicais livres (RSA) ($r^2 = 0,93$); TPC - conteúdo fenólico total ($r^2 = 0,96$); TFC - teor de flavonoides totais ($r^2 = 0,89$); DPPH ($r^2 = 0,93$) e ABTS ($r^2 = 0,98$) (SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016).

Em um estudo da atividade de eliminação do radical DPPH (%) do mel de *S. mexicana* de quatro diferentes anos de coleta, foi relatado um intervalo de 15,0 a

19,0%. O poder redutor (FRAP) apresentou valores de 50,4 a 61,1 $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$; no entanto, os valores diminuíram em ambas as temperaturas de armazenamento de 25,4 e 45° C. As amostras frescas apresentaram maior capacidade redutiva, indicando que alguns compostos, como o ácido ascórbico, presente no mel, podem ser doadores de elétrons e podem determinar reações em cadeia de radicais livres, convertendo os radicais livres em produtos mais estáveis (JIMENEZ et al., 2016).

O mel é um produto curativo eficaz: uma revisão retrospectiva dos usos medicinais do mel de *Melipona beecheii* pelos antigos maias destacou o fato de que ele foi usado para restaurar o equilíbrio de pacientes doentes (MICHENER, 2013a). Sua ampla gama de atributos pode sugerir que o mel de abelha sem ferrão fortalece vários sistemas, como no controle digestivo, respiratório, fertilidade feminina, pele e distúrbios visuais (VIT et al., 2004).

O mel não é apenas consumido diretamente, ele também é usado na medicina tradicional, sozinho ou misturado com plantas medicinais. É usado para tumores, olhos (catarata ocular, conjuntivite), inflamações, infecções na garganta, sangue (hematomas, varizes, purificação do sangue, limpeza do sangue após o parto), doenças renais e em tratamentos para cicatrização de feridas (VIT, 2002, 2013; GUERRINI et al., 2009; ILECHIE et al., 2012; KWAPONG et al., 2013; BORSATO, DÉBORA M. et al., 2014; VIT et al., 2015). O uso medicinal mais frequente foi relacionado ao sangue em 27% dos usos relatados (VIT et al., 2015; RAO et al., 2016).

A capacidade de mel de abelha sem ferrão da espécie *Geniotrigona thoracica* (que é comumente encontrada nas regiões tropicais do Sudeste Asiático) para aliviar o dano pancreático e manter perfis metabólicos em condições diabéticas foi investigada. Aziz et al. (2017) revelaram que o mel das abelhas sem ferrão tem grande potencial para ser utilizado como agente protetor do pâncreas contra danos e disfunções.

O mel de *Geniotrigona toracica* administrado a ratos diabéticos preveniu um aumento nos níveis de glicose no sangue em jejum, colesterol total, triglicérides e lipoproteína de baixa densidade. Da mesma forma, os níveis séricos de lipoproteína de alta densidade aumentaram, e as alterações histopatológicas e o nível de expressão dos marcadores de estresse oxidativo, inflamação e apoptose nas ilhotas pancreáticas diminuíram. Adicionalmente, os compostos bioativos nos extratos de mel de abelhas sem ferrão identificados por LC-MS foram 2-amino-3-metil-1-butanol;

dulcitol; L-galactose; Ácido 2S-aminoheptanóico; Leu Pro; pirbuterol; éster metílico suprofen; oxalacetato de etilo; 7-hidroxi-etil-teofilina; hipoxantina; etil-glucuronido; hidroxicarboxílico de pirrolina; ácido 3R-aminononano; L-fenilalanina; 2,6-xilidina; estireno; d-valerolactama; e-caprolactama; seu-gln-ala; desidrocicloxanthohumol; hidrato de C16. esfinganina; amida palmica; (-)-varfarina; e Emmotin A (AZIZ et al., 2017).

O mel de abelha sem ferrão desempenha um papel importante no tratamento de cataratas induzidas quimicamente. Mel de *Melipona favosa favosa* demonstrou atividade contra catarata induzida por selenito de sódio em ratos Wistar quando usada como um colírio (VIT, 2002). Em outro estudo, a atividade antimicrobiana do mel de *Meliponula spp.* foi investigada para o tratamento da conjuntivite bacteriana causada por *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa* em cobaias Hartley. A potência do mel de abelhas sem ferrão era comparável à gentamicina, um antibiótico padrão que inibe a síntese de proteínas pela combinação com o mRNA. Os autores relataram que esse mel pode servir como um substituto efetivo no caso de falha terapêutica do fármaco (ILECHIE et al., 2012).

Similarmente, os resultados do mel de *Meliponula bucaudei* encontrado em Gana mostraram atividade antimicrobiana contra três isolados de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*) de sítios oculares infectados. O MASF apresentou um efeito mais inibitório sobre os micróbios testados do que oito antibióticos comumente usados em oftalmologia, reduzindo a inflamação e a infecção (KWAPONG et al., 2013).

Boorn et al. (2010) relataram atividade antimicrobiana substancial de MASF australiano e sugeriram que as amostras possuíam atividade de cicatrização de feridas. Outro estudo de mel extraído de *M. marginata* mostrou efeito anti-inflamatório quando aplicado sobre a pele e os autores enfatizaram que essa atividade poderia ser devida a um efeito sinérgico dos compostos fenólicos identificados nas amostras de mel (BORSATO, D. M. et al., 2014). As propriedades bioativas do mel têm sido atribuídas a fatores específicos, como a ação sinérgica do açúcar e do peróxido de hidrogênio na cicatrização de feridas (VIT et al., 2015). Também se postulou que o teor de antioxidantes do MASF é maior ou semelhante ao de outros tipos de mel, e que a atividade antioxidante do MASF pode quebrar a

cadeia de radicais livres que causam efeitos prejudiciais a determinada área da ferida (ABD JALIL et al., 2017).

Agentes antimicrobianos são atualmente o único método conhecido de tratamento de doenças infecciosas (NWEZE et al., 2016). O uso inadequado de antibióticos levou a muitas formas de resistência bacteriana, limitando assim o uso desses agentes em cepas de microrganismos resistentes a antibióticos (OSÉS et al., 2016). No mel das abelhas sem ferrão, o efeito antibacteriano é influenciado pela atividade não peróxida, que não pode ser facilmente destruída pelo calor ou pela presença de catalase nos tecidos do corpo e no soro. A atividade não peróxica do mel está relacionada com a estrutura anatômica das abelhas sem ferrão e é um mecanismo mais significativo e substancial em termos de ação antimicrobiana em comparação com *Apis mellifera* (ABD JALIL et al., 2017).

Deve-se notar que as abelhas sem ferrão armazenam seu mel em potes (ODDO et al., 2008) que são feitos de cera e compostos antimicrobianos cuticulares combinados com própolis, que é composto de uma grande variedade de resinas vegetais (BOORN et al., 2010; ABD JALIL et al., 2017). Por outro lado, as abelhas *Apis mellifera* armazenam seu mel em favos criados apenas com cera (ODDO et al., 2008). Consequentemente, o mel de abelha sem ferrão tem uma maior exposição à própolis e, portanto, tem maior probabilidade de ser infundido com compostos antimicrobianos derivados de plantas do que o mel de *Apis mellifera* (TEMARU et al., 2007; EWNETU et al., 2013). Assim, a aplicação destes méis, que apresentam agentes antimicrobianos, pode diminuir a infecção microbiana em áreas lesadas e iniciar o processo de cicatrização (TEMARU et al., 2007; NISHIO et al., 2016).

Um estudo recente relatou que onze tipos de MASF, incluindo *Trigona carbonaria*, tinham potencial de atividade antimicrobiana em relação a vários tipos de microrganismos coletados de treze amostras clínicas, além de cepas padrão de referência (BOORN et al., 2010). Da mesma forma, a combinação de dois tipos de mel de abelhas sem ferrão produzidos por *Scaptotrigona bipunctata* e *Scaptotrigona postica* foi testada em relação a várias linhagens bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas multirresistentes. Nishio et al. (2016) concluíram que a combinação desses méis envolve uma interação sinérgica que poderia levar ao desenvolvimento de novos antimicrobianos de amplo espectro que têm o potencial de prevenir o surgimento de cepas bacterianas resistentes.

Segundo Nweze et al. (2016), o mel de *Hypotrigena* sp. (Okotobo) e *Melipona* sp. (Ifufu), que não é consumido tão amplamente quanto o mel de abelha regular, demonstrou ter propriedades antimicrobianas semelhantes às do mel de abelha comum. O mel de *M. beecheii* também possui uma capacidade antimicrobiana mais eficiente em relação ao *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* quando comparado ao *A. mellifera* (CHAN-RODRÍGUEZ et al., 2012; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018). O mel de *angustula* foi eficiente em relação a bactérias Gram-positivas, como *S. aureus* e *Enterococcus mexica*, assim como bactérias coagulase-negativas, sensíveis à metilicina e Gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *E. coli* (SGARIGLIA et al., 2010).

Além disso, Chan-Rodríguez et al. (2012) e Temaru et al. (2007) mostraram que bactérias Gram-positivas podem ser mais sensíveis ao mel de abelha sem ferrão em comparação com bactérias Gram-negativas. Outro estudo demonstrou que o mel de *Melipona compressipes manasensis* apresenta uma atividade antibacteriana diferente em relação às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, dependendo da época em que o mel foi coletado (úmido ou seco); o mel coletado na estação seca apresentou maior atividade (PIMENTEL et al., 2013). Amostras representativas de mel de quatro diferentes anos de coleta (2012 a 2015) mostraram atividade antibacteriana em relação às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mas não mostraram inibição na levedura e mofo testados (JIMENEZ et al., 2016).

Alguns estudos classificaram a fonte floral do mel em termos de atividade antimicrobiana, como segue: Juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart)> Velame Branco (*Macrosiphonia velame*)> Jurema Branca (*Mimosa verrucosa*)> Malícia (*Mimosa pudica*). As amostras que apresentaram as atividades antimicrobianas mais fortes também apresentaram o maior conteúdo de compostos fenólicos totais. Considerando a concentração inibitória mínima (CIM) detectada, observou-se que a sensibilidade das bactérias testadas tem a seguinte classificação: *Salmonella* spp.> *S. aureus*> *E. coli*/*P. aeruginosa*> *Listeria monocytogenes* (SOUSA et al., 2016b).

O efeito do mel na atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é altamente complexo devido ao envolvimento de múltiplos compostos e à grande variação nas concentrações destes compostos entre diferentes tipos de mel (KWAKMAN; ZAAT, 2012). Segundo Massaro et al. (2014), o mel apresenta baixo pH e contém peróxido de hidrogênio, metilglioxal e peptídeos antimicrobianos (defensina⁻¹ de abelha), que contribuem para a sua atividade. No

entanto, Kwakman et al. (2010) concluíram que não é possível quantificar a contribuição de diferentes fatores em relação à atividade bactericida do mel, pois esses fatores podem ter atividade redundante, ser mutuamente dependentes ou ter atividade aditiva ou sinérgica dependendo da espécie bacteriana alvo.

6. DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MODIFICAÇÕES EM MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO

Considerando sua produção limitada, o fato de não possuir um padrão internacional e também seu alto valor econômico e terapêutico, a crescente demanda por mel de abelha sem ferrão autêntico e de alta qualidade resultou em um aumento significativo de tentativas fraudulentas de oferecer ao mercado qualidade inferior, e/ou mel adulterado. Devido à sua disponibilidade e custo baixo, misturas de frutose e glicose são comumente usadas como adulterantes para produzir mel de baixa qualidade (SE et al., 2018), e tais práticas podem reduzir seus benefícios nutricionais e medicinais (SHADAN et al., 2018). Por outro lado, numerosas técnicas analíticas foram desenvolvidas para detectar e quantificar a pureza do mel na tentativa de investigar atividades fraudulentas (SHADAN et al., 2018). Técnicas que foram relatadas para a análise de MASF incluem: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (SHADAN et al., 2018); espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (OLIVEIRA et al., 2017b); ressonância magnética nuclear (RMN) (ZUCCATO et al., 2017); e reflectância infravermelha total e atenuada de transformada de Fourier (FTIR-ATR) (SE, KUAN WEU et al., 2018).

Shadan et al. (2018) usaram espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado para determinar as distribuições de multi-elementos (Ag, Al, B, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn e Zn¹) em mel de abelha sem ferrão coletados na Malásia. Aplicando técnicas quimiométricas, foi possível identificar com precisão a origem geográfica do MASF. Oliveira et al. (2017b) também desenvolveu um método analítico por ICP-MS quádruplo, que foi capaz de quantificar 21 elementos em méis de abelhas nativas brasileiras. Eles

¹ Prata, Alumínio, Boro, Bário, Berílio, Cádmiu, Cobalto, Cromo, Cobre, Ferro, Magnésio, Manganês, Molibdênio, Níquel, Chumbo, Antimônio, Selênio, Estanho e Zinco.

relataram que esse método era preciso e adequado para monitorar fatores como o ambiente, a saúde das abelhas e a qualidade do mel de *Tetragonisca angustula*. Além disso, a composição mineral do mel e do pólen representa uma impressão digital em relação às origens geográficas e botânicas, bem como à contaminação ambiental. Um estudo recente com mel de *Apis mellifera*, *Melipona beecheii* e *Trigona* spp., coletados em Yucatán, México, sugeriu o uso de parâmetros físico-químicos convencionais em combinação com padrões de eletroforese de proteínas como método alternativo para determinar a origem entomológica (RAMÓN-SIERRA et al., 2015).

Através de um estudo sistemático, Zuccato et al. (2017) verificaram o potencial da espectroscopia de RMN acoplada à quimiometria em relação à rastreabilidade de mel de abelhas sem ferrão *Melipona*, *Geotrigona-Trigona* e *Scaptotrigona*. Os autores concluíram que as impressões digitais metabólicas desses diferentes tipos de mel são únicas, e que um espectro de RMN de ¹H rápido do extrato de clorofórmio de um mel foi suficiente para mostrar os compostos marcadores entomologicamente relacionados. Os sinais marcadores específicos foram metabólitos derivados do cerume secretado pelas mesmas abelhas, o que pode ser considerado a assinatura da espécie de abelha em relação ao mel. Além disso, o éter diacilgliceril endógeno foi reconhecido como marcador chave da adulteração de MASF e mel de *Apis mellifera*.

Foi proposto um método preciso e rápido para detectar e quantificar a adulteração de mel de abelha sem ferrão (*Heterotrigona itama*) colhido na Malásia. Esse método exigiu apenas 7 a 8 min para ser concluído, comparado a 3 horas para o método padrão AOAC 2018, 998.12. A refletância total de infravermelho e atenuado de transformada de Fourier (FTIR-ATR) com quimiometria foram capazes de quantificar com precisão cinco adulterantes (frutose, glicose, sacarose, xarope de milho e açúcar de cana) (SE, KUAN WEU et al., 2018).

Os efeitos a longo prazo do armazenamento no mel das abelhas sem ferrão (*Tetragonula laeviceps-pagdeni*) do sudeste da Ásia (Tailândia) foram avaliados usando parâmetros físico-químicos. As amostras de mel foram coletadas de colônias de abelhas sem ferrão com seringas individuais. MASF fresco foi armazenado a 4, 30 e 45° C por seis e doze meses. O teor de umidade e cinzas, assim como a condutividade elétrica, pouco mudaram em relação ao tempo e temperatura de armazenamento. A acidez total aumentou quando armazenada por seis e doze

meses. O pH, diastase e HMF demonstraram mudanças estatisticamente significativas tanto no tempo como na temperatura de armazenamento. Os carboidratos (frutose, glicose e maltose) diminuíram em linha com o aumento dos tempos de armazenamento e temperaturas, mas as mudanças não foram estatisticamente significativas. O armazenamento por mais tempo (12 meses) e a temperatura mais alta (45° C) resultou nas maiores mudanças. O mel com menor alteração em relação ao mel fresco foi armazenado a 4° C por 12 meses (CHUTTONG et al., 2016b).

Jimenez et al. (2016) relataram que algumas propriedades, como cor, pH e acidez titulável, foram afetadas pela temperatura de armazenamento de MASF *Scaptotrigona mexicana* (2012–2015), sendo mais afetadas em 45° C. É importante ressaltar que as amostras de mel de abelhas de *S. mexicana* também foram coletadas de colmeias em caixas de madeira rústicas usando uma seringa, e os autores observaram que tais amostras poderiam ser armazenadas sem serem significativamente afetadas por suas propriedades físico-químicas e antioxidantes por três anos, indicando alta estabilidade e potencial de comercialização e processamento de alimentos.

Uma abordagem que tem sido usada para detectar adulteração de mel é a análise de espectrometria de massa de razão de isótopos estável (IRMS). Esta abordagem analítica atende ao método oficial da Associação de Química Analítica Oficial, que é baseada na diferença entre a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de C_4 originada de espécies monocotiledôneas de cana-de-açúcar e milho, quando comparada a espécies dicotiledôneas (plantas C_3^2). Como as abelhas produzem principalmente mel de plantas C_3 , as amostras de mel com $\delta^{13}\text{C}$ menores que -23,5‰ são suspeitas. A relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ é -22 a -33‰ em mel de plantas C_3 e -10 a -20‰ em mel de plantas C_4 . Quando o açúcar C_4 é adicionado ao mel puro, a relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ será alterada, enquanto que o correspondente extrato de proteína da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ permanecerá constante (ELFLEIN; RAEZKE, 2008).

Elflein & Raezke (2008) determinaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ para 451 amostras comerciais de mel usando LC/IRMS. Observou-se que o método proposto foi uma

² A fixação do carbono C_3 é uma via metabólica para a fixação do carbono na fotossíntese utilizada pela maioria das plantas, na qual o CO_2 atmosférico entra diretamente no ciclo de Calvin. Este processo converte o dióxido de carbono e a ribulose 1,5-bisfosfato em duas moléculas de 3-fosfoglicerato, que dirigem os carbonos procedentes do CO_2 . O 3-fosfoglicerato é um composto de 3 carbonos, de onde vem a denominação C_3 .

técnica altamente robusta, rápida e de baixo custo que pode detectar com segurança mais adulterações de mel, utilizando diferentes tipos de xaropes de açúcar produzidos a partir de fontes vegetais C₄ e C₃. No entanto, mais estudos são necessários para abordar o conhecimento limitado sobre a aplicação deste método em relação à adulteração de mel de abelhas sem ferrão.

7. CONCLUSÃO

O mel coletado de abelhas nativas apresenta baixo teor de cinzas e baixa condutividade. Diferentemente dos gêneros *Apis*, o mel das abelhas sem ferrão tem um caráter ácido (pH ácido e alta acidez), nível ligeiramente inferior de carboidratos totais e alta higroscopicidade devido ao alto conteúdo de açúcares redutores, umidade e altos valores de atividade de água. Esse produto complexo e natural requer metodologias e padrões internacionais e oficiais a serem estabelecidos para servir como referência para controle de qualidade, para evitar adulterações em potencial e para fins de marketing. No geral, as principais dificuldades têm sido a grande diversidade de espécies de abelhas sem ferrão e sua origem botânica, bem como variações na composição química desses méis. Assim, mais estudos devem ser realizados para investigar e destacar as diferenças entre cada mel e cada espécie; esforços também devem ser feitos para desenvolver possíveis estratégias de conservação para preservar características sensoriais e nutricionais sem desenvolvimento microbiano, a fim de garantir a qualidade do produto.

Inúmeros estudos indicaram que, em comparação com o mel de *Apis mellifera*, o mel de abelhas sem ferrão é rico em compostos bioativos, com alta capacidade antioxidante e propriedades biológicas. O mel de abelha sem ferrão mostra potencial atividade antimicrobiana como tratamento alternativo para inflamação e infecção. Além disso, o mel das abelhas sem ferrão é uma fonte de macrominerais. No entanto, estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos são necessários para avaliar melhor as muitas atividades biológicas e farmacológicas potenciais do mel de abelha sem ferrão. Este tipo de mel representa uma importante inovação potencial para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, e a importância estratégica do mel de abelha sem ferrão deve estimular novas linhas de pesquisa para consolidar seu consumo e aplicação.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DO GÊNERO DE ABELHAS SEM FERRÃO (*SCAPTOTRIGONA* E *MELIPONA*) NO CONTEÚDO MINERAL, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MEL

AVILA, S.; LAZZAROTTO, M.; HORNUNG, P. S.; TEIXEIRA, G. L.; ITO, V. C.; BELLETTINI, M. B.; BEUX, M. R.; BETA, T.; RIBANI, R. H..

Journal of Food Science and Technology. Qualis - Capes A2. JCR 1.262, (2018)

Submetido dia 10 de abril de 2018, em processo de revisão.

(Anexo II)

Influência do gênero de abelhas sem ferrão (*Scaptotrigona* e *Melipona*) no conteúdo mineral, propriedades físico-químicas e microbiológicas do mel

RESUMO:

Abelhas sem ferrão, importantes insetos polinizadores nos trópicos, produzem um mel com características singulares que diferenciam sua origem. Neste contexto, métodos de agrupamento multidimensional podem ser usados para fins de controle de qualidade em relação a diferentes tipos de mel. Assim, investigou-se a viabilidade da análise multivariada de dados para a discriminação de qualidade de mel de abelha sem ferrão de diferentes gêneros (*Melipona bicolor*, *quadrifasciata*, *marginata* e *Scaptotrigona bipuncata*). A análise de componentes principais (PCA) explicou 72,12% da variância total dos dados e obteve-se a separação em dois grupos principais em um gráfico de dispersão. Dois grupos também foram sugeridos pela análise hierárquica de agrupamentos (HCA), corroborando com PCA, na qual o grupo 2 foi formado pelo gênero *Scaptotrigona*. Este grupo apresentou os maiores valores de pH, cinzas e °Brix. O potássio foi o mineral mais abundante quantificado por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), seguido por cálcio e sódio para ambos os grupos. Análises microbiológicas mostraram que os mesófilos aeróbicos totais variaram entre 2,00 e 4,77 log UFC/g. *Salmonella* spp. não foi detectado, enquanto o teor de mofo e levedura estava acima do máximo permitido pela legislação. Em relação aos coliformes a 35 °C, 78% das amostras apresentaram <3 MPN/g e apenas 6% das amostras do gênero *Scaptotrigona* apresentaram coliformes a 45° C. Foram encontradas bactérias que podem ser consideradas benéficas, bactérias do ácido láctico em níveis mais elevados para o gênero *Melipona* em comparação com outras. A análise estatística multivariada foi eficiente no agrupamento de mel de abelha sem ferrão, contribuindo para abordagens que podem ser usadas para padronização e regulação.

Palavras-chave: *Melipona*, *Scaptotrigona*, mel brasileiro, quimiometria, análise de componentes principais, análise hierárquica de clusters.

1. INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão pertencem à família Hymenoptera e à subfamília Meliponinae. Eles são colocados em uma das quatro tribos da família Apidae (Apinini, Bombini, Euglossini e Meliponini) (MICHENER, 2013a). Dentro da tribo Meliponini, atenção foi dada a *Melipona bicolor* (Guaraipo), *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia), *Melipona marginata* (Manduri) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). As abelhas sem ferrão coletam, armazenam e modificam quimicamente os néctares florais da rica vegetação dos ambientes nativos; o resultado é um mel com um grau incomum de acidez, doçura e valor medicinal (CHUTTONG et al., 2016a). A composição química, sabor e aroma do mel estão fortemente associados à sua fonte botânica, área geográfica, condições ambientais, espécies de abelhas envolvidas em suas condições de produção e armazenamento (COSTA et al., 2017). Embora a produção de mel por abelhas sem ferrão seja menor que a tradicional *Apis mellifera* (ZUCCATO et al., 2017), o valor agregado para a primeira é maior que a segunda, cujos preços podem chegar a R\$ 100/kg (SHADAN et al., 2018), ou seja, mais que o dobro do preço do mel proveniente de *Apis mellifera* (R\$ 20-40/kg) (SE, KUAN WEI; IBRAHIM; et al., 2018).

Um problema sério que alguns produtores enfrentam é que os métodos oficiais disponíveis para o controle da qualidade do mel foram desenvolvidos exclusivamente para o mel de abelha *Apis mellifera*. Devido ao conhecimento limitado sobre o mel de abelhas sem ferrão, ainda não existem normas nem regulamentos internacionais criados pelas autoridades para este alimento. Esta falta de legislação resulta numa distribuição mundial restrita deste produto em comparação com o mel *Apis mellifera*. Características microbiológicas, juntamente com físico-químicas, como umidade, açúcares e teores de hidroximetilfurfural, acidez e condutividade específica, constituem os indicadores de qualidade, que descrevem variedades individuais de mel (MANZANARES et al., 2011). Como o controle de qualidade envolve diferentes propriedades, em vez de simplesmente usar comparações uni variadas entre amostras, a aplicação de abordagens matemáticas e estatísticas precisas e inovadoras atualmente é muitas vezes mais confiável (ZIELINSKI et al., 2014). Além disso, técnicas analíticas, como análise multivariada e avaliações quimiométricas, têm sido aplicadas com sucesso no controle de

qualidade de méis de abelhas sem ferrão (FECHNER et al., 2016; AMIRY et al., 2017; SE, KUAN WEI; IBRAHIM; et al., 2018).

As perspectivas de um amplo mercado de produtos naturais e orgânicos, bem como o aumento da produção de mel de abelhas sem ferrão, são importantes para a conservação e manutenção da flora e das abelhas indígenas (BILUCA et al., 2016). Nesse sentido, a avaliação da composição do mel, incluindo as diferenças entre as espécies com maior produção, determinando possíveis estratégias de conservação e parâmetros para proteger os consumidores contra a adulteração para garantir a qualidade do produto, é necessária. Essa abordagem ajudará as autoridades a criar padrões para avaliar o mel das abelhas sem ferrão. Assim, neste estudo foram avaliados o conteúdo mineral, as propriedades físico-químicas e microbiológicas de trinta e duas amostras de mel de dois gêneros de abelhas sem ferrão (*Scaptotrigona* e *Melipona*) e um método para discriminação do mel das abelhas sem ferrão usando ferramentas quimiométricas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

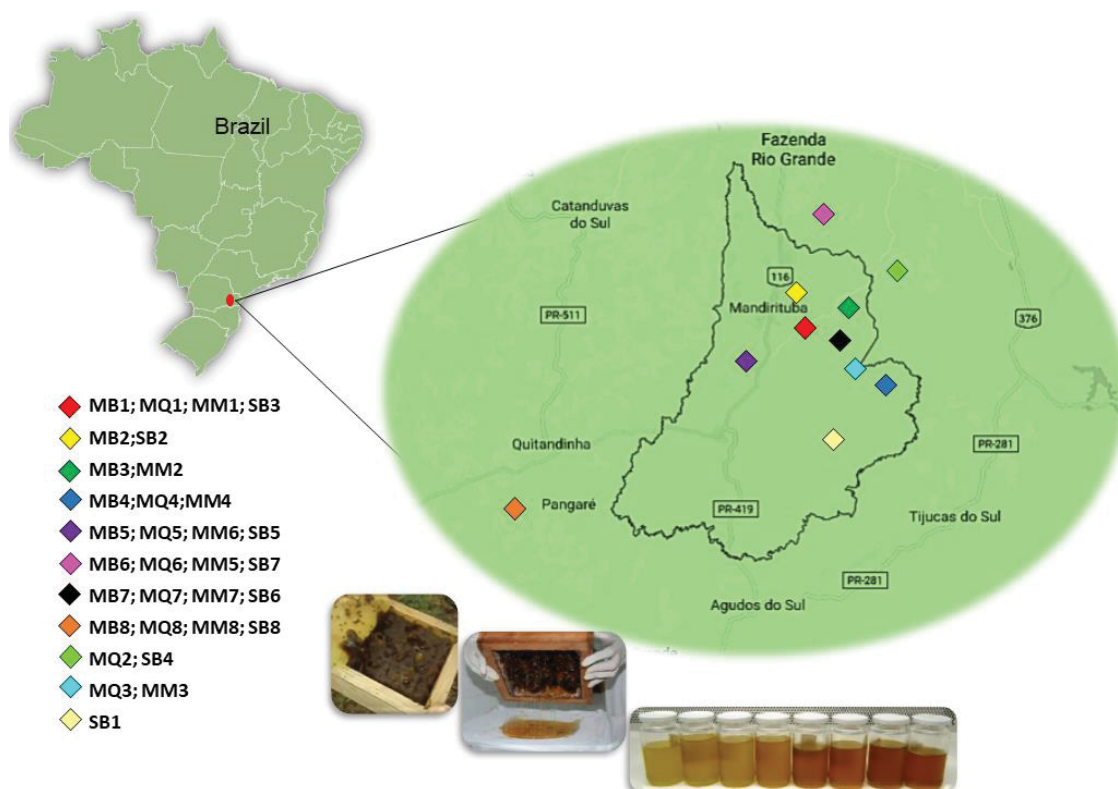
2.1. Amostras

As 32 amostras de mel da Associação de Meliponicultores de Mandirituba (Amamel), Paraná, Brasil (25°91'04.9"S, 49°51'95.4"W ate 25°73'94.1"S, 49°25'38.4"W), foram coletadas de quatro espécies brasileiras de abelhas, durante fevereiro de 2016. As amostras foram coletadas na mesma região em diferentes meliponários para cada tipo de abelha. Assim, a coleção incluiu uma variabilidade de quatro espécies (compreendendo vinte e quatro amostras do gênero *Melipona* e oito do gênero *Scaptotrigona*) totalizando trinta e duas amostras (figura 3).

A coleta de mel foi realizada perfurando os potes de mel com uma ferramenta de aço inoxidável estéril afiada, drenando o mel em um balde estéril usando a força da gravidade. O mel foi primeiramente removido das colmeias do meliponário, depois drenado e finalmente transportado para um local de envase limpo. Posteriormente, cada amostra proveniente de uma colmeia de abelha diferente foi filtrada com o auxílio de uma peneira de nylon (74 microns) para eliminar as sujidades físicas. As amostras envasadas foram transportadas para o laboratório de

Bioativos na Universidade Federal do Paraná e mantidas a 4° C em recipientes fechados de vidro, no escuro, até posteriores análises.

FIGURA 3. LOCALIZAÇÃO DE MANDIRITUBA, PARANÁ, BRASIL (25°79'36"S; 49°32'28"W) ONDE FORAM COLETADAS AS AMOSTRAS DE MEL DE COLMEIAS DE ABELHAS SEM FERRÃO.



FONTE: O AUTOR (2017).

2.2. Análises físico-químicas

Todos os parâmetros físico-químicos foram determinados em triplicata, de acordo com os métodos padrão da International Honey Commission (IHC, 1997) e os Métodos Oficiais de Análise da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (2007) com algumas modificações.

A umidade foi determinada pelo índice de refração (IR) por meio de um refratômetro de bancada Abbe (modelo 2WAJ, Biobrix, Brasil) a 20° C. O IR foi convertido em porcentagem de umidade utilizando a Tabela Chataway (BILUCA et al., 2016). A atividade de água (aw) foi determinada usando um medidor eletrônico de atividade de água do ponto de orvalho AquaLab 3TE (Decagon, Washington) a

25 ± 0,02° C. Os sólidos solúveis (°Brix) foram determinados sob as mesmas condições analíticas descritas acima usando o refratômetro Abbe. Açúcares redutores e sacarose aparente foram determinados pelo teste de Fehling (método de Lane e Eynon).

A condutividade elétrica foi medida a 20° C em solução a 20% (p/v) de mel em água ultrapura com auxílio de um medidor de condutividade Tec-4MP (TECNAL, Brasil) (CHUTTONG et al., 2016a). A cor foi analisada segundo Ferreira et al. (2009) por espectroscopia UV-vis (OPTIZEN POP, Mecasys Co., Coreia) a 635 nm. O mel foi classificado de acordo com a escala de Pfund após conversão dos valores de absorbância pela fórmula $\text{mm Pfund} = -38,70 + 371,39 \times \text{Abs}$. O hidroximetilfurfural (HMF) foi determinado por um método espectrofotométrico de UV-Vis (OPTIZEN POP, Mecasys Co., Korea) baseado na diferença de absorbância UV em 284 e 336 nm, antes e após a adição de bissulfato de potássio às soluções de mel (WILLIAM HORWITZ et al., 2007).

O pH foi obtido com um medidor de pH digital (ION pH B500, Hanna Instruments, EUA); A acidez total foi determinada em amostra de 2 g titulada com solução de hidróxido de sódio 0,05 N até pH 8,5 e os resultados expressos como meq/kg (WILLIAM HORWITZ et al., 2007). O conteúdo de cinzas foi determinado pela incineração das amostras em mufla (Quimis, São Paulo, Brasil) a 550° C. As cinzas das amostras foram solubilizadas em meio ácido em um frasco de 25 mL. A partir da solução de cinzas, os constituintes do conteúdo mineral foram determinados em comprimentos de onda variando de 167 a 766nm, utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, Varian 720 ES-axial, EUA). Vinte e dois minerais: molibdênio (Mo), níquel (Ni), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), estanho (Sn), vanádio (V), zinco (Zn), fósforo (P), chumbo (Pb), cobre (Cu), boro (B), cálcio (Ca), prata (Ag), crômio (Cr), cobalto (Co), alumínio (Al), bário (Ba), cádmio (Cd), lítio (Li), potássio (K), sódio (Na), foram determinados em amostras de mel (n = 32) em triplicata. Todos os minerais com coeficiente de determinação >0,999 foram observados na preparação de curvas padrão.

2.3. Contaminação Microbiológica

A determinação de bactérias mesófilas aeróbias por plaqueamento em superfície usando ágar padrão seguiu o protocolo da norma ISO 21527-2 (2008): bolores e leveduras por superfície utilizando 2% de ágar Sabouraud (ASD) e Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol/DG 18 (DRBC). Coliformes totais e termotolerantes (caldo lauril sulfato) foram enumerados usando uma técnica definida no protocolo pelo Número Mais Provável (ISO 4831, 2006). As bactérias de ácido láctico (plaqueamento em superfície usando ágar Elliker) e *Salmonella* sp (usando o método BAM/FDA) seguindo o protocolo da ISO 6579 (2002).

Para análise das bactérias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes e bactérias lácticas, homogeneizaram-se 25 g de amostras de mel em 225 mL de água peptona e aplicou-se o mesmo para diluições decimais. Para a análise dos esporos bacterianos, 20 gramas de mel foram homogeneizados em 100 mL de água destilada estéril, enquanto para *Salmonella* sp, 25 gramas foram homogeneizados em 225 mL de caldo lactosado (ICMSF, 1996).

2.4. Análises Estatísticas

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão e a normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para todas as variáveis. Posteriormente, foi realizado o teste de Brown-Forsythe para verificar a homogeneidade de todas as variâncias (Action Software v 2.5, Estatcamp, Brasil). One-way ANOVA foi aplicado para detectar diferenças significativas entre as amostras e teste de Duncan foi usado para comparar as médias quando diferenças significativas foram detectadas ($P < 0,05$). Os coeficientes de correlação de Pearson foram calculados usando os valores médios ($n = 32$) para determinar o grau de associação entre as variáveis pareadas. Análises de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foram aplicadas para descrever a relação entre as propriedades físico-químicas ($n = 9$) do mel ($n = 32$) e os gêneros de abelhas sem ferrão. Na PCA, valores próprios superiores a 1,0 foram adotados para explicar a projeção das amostras no gráfico e a análise bidimensional foi baseada em correlações lineares. No HCA, a métrica euclidiana e o método de Ward foram usados para sugerir grupos de amostras semelhantes (Statistic 7.0).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises Físico-químicas

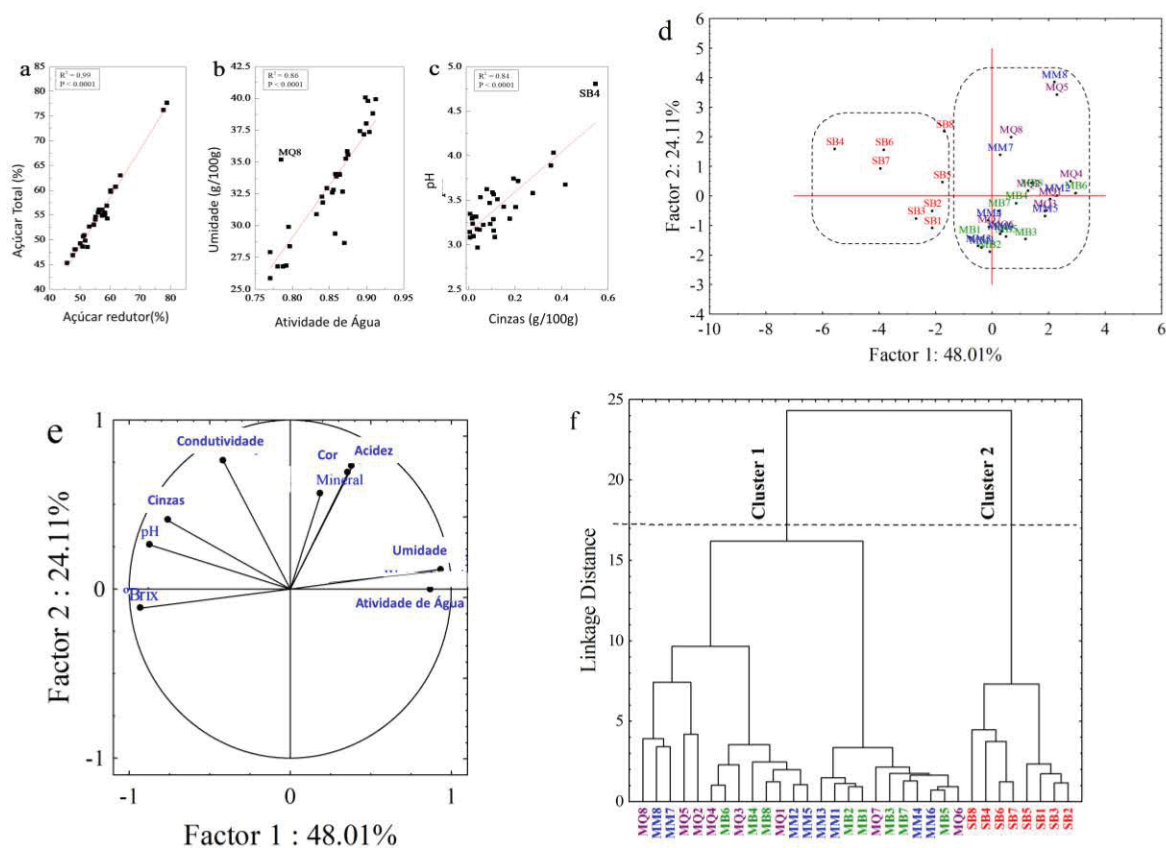
O teor de sólidos solúveis e açúcar do mel é apresentado na Tabela 3. A concentração média de açúcares redutores nas amostras de mel de abelha sem ferrão (MASF) avaliadas foi de $54,92 \pm 7,18\%$ (p/p). A legislação europeia para *Apis mellifera* (Directiva 2001/110 da CE) recomenda um mínimo de 60 g/100 g de açúcares redutores para o mel floral, com exceção do mel de melato, que é de 45 g/100g. Todas as amostras de MASF apresentaram mais de 45 g/100g de açúcares redutores, mas apenas seis apresentaram valores acima de 60 g/100g (Tabela 3) de acordo com as normas internacionais para *Apis mellifera* (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). O teor total de açúcar foi em média $56,32 \pm 7,21$ g/100g. A percentagem média de sacarose aparente foi de 1,40%, mas valores de até 4,78% também foram registrados. Os açúcares redutores apresentaram correlação positiva significativa com o teor total de açúcar, Figura 4a. As amostras investigadas continham menor teor total de açúcar em relação ao mel de *Apis mellifera*. Resultados semelhantes foram relatados para outros mel de abelhas sem ferrão (BILUCA et al., 2014, 2016; CHUTTONG et al., 2016a; SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016).

TABELA 3. SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX) E CONTEÚDO DE AÇÚCARES (% P/P) EM MEIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS MELIPONA E SCAPTOTRIGONA.

Espécies de Abelhas sem Ferrão	Amostras	° Brix	Açúcar Redutor	Sacarose	Açúcar Total
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	66,83 ± 0,76 ^f	56,89 ± 0,42 ^d	1,97 ± 0,60 ^{efgh}	58,86 ± 0,51 ^{de}
	MB2	65,27 ± 0,03 ^{gh}	59,72 ± 2,51 ^c	0,46 ± 0,13 ^{klm}	60,17 ± 1,32 ^{cd}
	MB3	61,75 ± 0,25 ⁱ	77,69 ± 0,86 ^a	1,11 ± 0,63 ^{jkl}	78,80 ± 0,75 ^a
	MB4	63,17 ± 0,52 ⁱ	52,70 ± 0,63 ^{gh}	0,38 ± 0,26 ^{lm}	53,07 ± 0,44 ^{ij}
	MB5	63,67 ± 0,58 ⁱ	48,08 ± 1,03 ^{jk}	0,39 ± 0,19 ^{lm}	48,47 ± 0,61 ^{lmn}
	MB6	57,00 ± 0,25 ⁿ	54,32 ± 1,43 ^{defg}	4,78 ± 0,16 ^a	59,10 ± 0,79 ^{de}
	MB7	64,67 ± 0,14 ^h	53,05 ± 0,72 ^{fgh}	1,50 ± 0,41 ^{fghij}	54,55 ± 0,57 ^{hi}
	MB8	59,83 ± 0,80 ^k	55,55 ± 2,36 ^{def}	0,47 ± 0,22 ^{klm}	56,02 ± 1,29 ^{fgh}
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ1	56,75 ± 0,66 ⁿ	45,33 ± 1,45 ⁱ	0,41 ± 0,13 ^{lm}	45,74 ± 0,79 ^o
	MQ2	62,17 ± 0,29 ⁱ	55,39 ± 0,92 ^{def}	2,88 ± 0,35 ^{cd}	58,26 ± 0,63 ^{def}
	MQ3	60,50 ± 0,66 ^k	50,71 ± 0,64 ^{hij}	0,33 ± 0,30 ^{lm}	51,04 ± 0,47 ^{kl}
	MQ4	58,25 ± 0,25 ^m	48,56 ± 1,82 ^{ijk}	3,95 ± 0,92 ^b	52,52 ± 1,37 ^{ljk}
	MQ5	61,50 ± 0,25 ⁱ	60,00 ± 1,05 ^c	0,18 ± 0,15 ^m	60,17 ± 0,60 ^{cd}
	MQ6	65,67 ± 0,14 ^g	50,95 ± 0,35 ^{hi}	0,51 ± 0,34 ^{klm}	51,47 ± 0,34 ^{jk}
	MQ7	68,42 ± 0,95 ^e	54,64 ± 0,38 ^{defg}	0,48 ± 0,24 ^{klm}	55,12 ± 0,31 ^{ghi}
	MQ8	63,00 ± 0,50 ⁱ	48,07 ± 0,64 ^{kl}	0,26 ± 0,12 ^{lm}	48,32 ± 0,38 ^{mn}
<i>Melipona marginata</i>	MM1	65,08 ± 0,76 ^{gh}	49,82 ± 0,90 ^{li}	1,88 ± 0,88 ^{efghi}	51,70 ± 0,89 ^{jk}
	MM2	59,42 ± 0,38 ⁱ	54,91 ± 1,06 ^{defg}	2,43 ± 0,84 ^{cde}	57,34 ± 0,95 ^{efg}
	MM3	65,75 ± 0,25 ^g	54,98 ± 0,69 ^{defg}	2,86 ± 0,29 ^{cd}	57,84 ± 0,49 ^{def}
	MM4	63,67 ± 0,14 ⁱ	48,61 ± 0,21 ^{ijk}	2,25 ± 0,33 ^{def}	50,86 ± 0,27 ^{klm}
	MM5	59,83 ± 0,14 ^k	55,60 ± 2,42 ^{def}	0,74 ± 0,64 ^{klm}	56,34 ± 1,53 ^{efgh}
	MM6	64,75 ± 0,43 ^h	49,29 ± 0,53 ^{ijk}	0,81 ± 0,19 ^{klm}	50,11 ± 0,36 ^{klmn}
	MM7	65,50 ± 0,00 ⁱ	56,08 ± 1,04 ^{de}	1,33 ± 0,11 ^{hijk}	57,41 ± 0,57 ^{efg}
	MM8	57,17 ± 0,38 ⁿ	46,90 ± 0,46 ^{kl}	0,77 ± 0,43 ^{klm}	47,67 ± 0,45 ^{no}
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	SB1	70,92 ± 0,14 ^b	48,68 ± 0,31 ^{ijk}	2,19 ± 0,22 ^{defg}	50,87 ± 0,26 ^{klm}
	SB2	66,50 ± 0,00 ^f	55,09 ± 2,44 ^{defg}	3,14 ± 0,93 ^c	58,23 ± 1,69 ^{def}
	SB3	70,00 ± 0,43 ^c	55,52 ± 0,53 ^{def}	2,48 ± 0,39 ^{cde}	58,00 ± 0,46 ^{def}
	SB4	71,08 ± 0,14 ^b	60,73 ± 1,64 ^c	1,06 ± 0,70 ^{ijklm}	61,79 ± 1,17 ^{bc}
	SB5	67,83 ± 0,14 ^e	56,08 ± 1,68 ^{de}	0,26 ± 0,02 ^{lm}	56,34 ± 0,85 ^{efgh}
	SB6	72,08 ± 0,14 ^a	63,03 ± 1,54 ^b	0,32 ± 0,02 ^{lm}	63,35 ± 0,78 ^b
	SB7	71,17 ± 0,52 ^b	54,09 ± 1,17 ^{efg}	1,01 ± 0,30 ^{klm}	55,09 ± 0,73 ^{ghi}
	SB8	69,25 ± 0,25 ^d	76,23 ± 3,25 ^a	1,39 ± 0,14 ^{ghij}	77,62 ± 1,69 ^a
P (Normality)*	0,99	0,14	0,18	0,31	
P (Brown-Forsythe)**	0,89	0,84	0,66	0,85	
P (ANOVA)***	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

* Os valores de probabilidade obtidos segundo teste de Kolmogorov-Smirnov; ** Valores de probabilidade para homogeneidade de variâncias obtidos pelo teste de Brown-Forsythe; *** Valores de probabilidade obtidos por ANOVA unidirecional. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados com diferença estatística, conforme o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

FIGURA 4. CORRELAÇÃO ENTRE (A) AÇÚCARES TOTAIS E REDUTORES, (B) ATIVIDADE DE ÁGUA E UMIDADE, E (C) PH E CINZAS. (D) SCATTER PLOT DE PC1 × PC2 PONTOS DAS PRINCIPAIS FONTES DE VARIABILIDADE ENTRE O MEL BRASILEIRO DAS ESPÉCIES DAS ABELHAS SEM FERRÃO. (E) LOADINGS PLOT DO CONTEÚDO MINERAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS UTILIZADAS NO PCA. (F) DENDROGRAMA OBTIDO USANDO O MÉTODO DA WARD E AS DISTÂNCIAS EUCLIDIANAS PARA O CONTEÚDO MINERAL NORMALIZADO E AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E SEU RESPECTIVO MEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO.



O teor de HMF no mel das abelhas sem ferrão (MASF) variou de 0,15 (MB6) a 3,19 (SB4) mg/kg. Os valores típicos de mel não processado estão de acordo com os limites padrão para o mel de *Apis mellifera* de 60 mg/Kg (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). Como as amostras de mel foram coletadas durante o mesmo período, diferenças no conteúdo de HMF podem ser atribuídas às diferentes espécies de abelhas sem ferrão e às variações nas condições climáticas das áreas (FEÁS et al., 2010). De Sousa et al. (2016) analisaram amostras frescas de MASF e não detectaram HMF. Segundo Biluca et al. (2014), nenhuma das treze amostras de MASF avaliadas pelo seu grupo apresentou HMF detectável, sugerindo que a aplicação de uma alta temperatura por um curto período de tempo poderia ser eficaz para prolongar a vida útil sem aumentar o HMF.

As amostras das espécies de *M. quadrifasciata* apresentaram o maior teor de umidade (Tabela 4). Corroborando com o alto conteúdo de umidade no MASF, o valor de a_w variou de 0,77 (SB3, SB6) a 0,91 (MB6, MQ4) (Tabela 4). Como resultado, foi observada uma correlação entre umidade e atividade de água (a_w) (Figura 4b). No geral, as amostras exibiram valores de umidade variando entre 26 a 40%, maior que o máximo permitido para *Apis mellifera* (Tabela 5), que é de 20%. Conforme destacado na Tabela 5, devido à menor poder edulcorante (teor de açúcar reductor) e maior umidade do que a *Apis* convencional, o MASF exigiria maiores níveis de cautela durante a colheita e a refrigeração, pasteurização ou submissão à desumidificação para garantir uma vida útil elevada. Além disso, se refrigerado, a cristalização pode ocorrer ao longo do tempo; no entanto, embora isso não seja um problema nutricional, às vezes, representa um problema na percepção sensorial dos consumidores. O processo de pasteurização e desumidificação reduz o teor de água presente, mas pode ser responsável pela perda ou redução do sabor do mel (SILVA et al., 2009).

TABELA 4. PARÂMETROS DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO (MASF) DO SUL DO BRASIL

Espécies de Abelhas sem Ferrão	Amostras	Cor (mm Pfund)	Umidade (g/100g)	Cinzas (g/100g)	Condutividade Elétrica (mS/cm)	pH	Acidez Total (meq/kg)	HMF (mg/kg)	Atividade de Água (Aw)
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	0,67	30,90 ± 0,70 ^k	0,09 ± 0,01 ^{jk}	0,26 ± 0,01 ^f	3,47 ± 0,02 ⁱ	34,97 ± 3,08 ^{no}	0,19 ± 0,17 ⁱ	0,83 ⁱ
	MB2	6,98	32,28 ± 0,23 ⁱ	0,03 ± 0,02 ^{mn}	0,23 ± 0,01 ^s	3,32 ± 0,02 ^{lm}	29,43 ± 8,49 ^{op}	0,23 ± 0,16 ^{hi}	0,84 ^{hi}
	MB3	0,67	35,58 ± 0,20 ^e	0,01 ± 0,00 ⁿ	0,20 ± 0,01 ^t	3,35 ± 0,03 ⁱ	50,24 ± 1,21 ^{ij}	0,31 ± 0,15 ^{ghi}	0,88 ^{cd}
	MB4	0,30	34,00 ± 0,05 ^g	0,11 ± 0,02 ⁱ	0,23 ± 0,01 ^s	3,29 ± 0,02 ^m	35,64 ± 3,50 ^{no}	0,87 ± 0,17 ^{cde}	0,86 ^{defg}
	MB5	13,29	32,68 ± 0,32 ^j	0,02 ± 0,01 ⁿ	0,28 ± 0,01 ^p	3,30 ± 0,02 ^m	39,80 ± 1,31 ^{mn}	-	0,87 ^{def}
	MB6	23,69	39,94 ± 0,20 ^{ab}	0,02 ± 0,02 ⁿ	0,32 ± 0,01 ^t	3,10 ± 0,03 ^p	63,45 ± 3,05 ^{fg}	0,15 ± 0,00 ⁱ	0,91 ^a
	MB7	46,72	32,94 ± 0,23 ^{ghi}	0,09 ± 0,01 ^j	0,32 ± 0,01 ^t	3,23 ± 0,03 ⁿ	65,54 ± 7,78 ^f	-	0,85 ^{ghi}
	MB8	48,58	37,37 ± 0,52 ^d	0,20 ± 0,01 ^f	0,31 ± 0,01 ^t	3,42 ± 0,01 ^k	58,03 ± 3,01 ^{gh}	0,66 ± 0,05 ^{efg}	0,90 ^{ab}
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ1	0,67	40,07 ± 0,64 ^a	0,18 ± 0,01 ^{fg}	0,29 ± 0,01 ^{op}	3,29 ± 0,04 ^m	45,58 ± 1,21 ^{klm}	1,03 ± 0,04 ^{bcd}	0,90 ^{ab}
	MQ2	14,78	35,25 ± 0,23 ^e	0,11 ± 0,02 ^{hi}	0,29 ± 0,01 ^{op}	3,09 ± 0,04 ^p	48,70 ± 3,60 ^{kl}	0,62 ± 0,08 ^{efgh}	0,87 ^{def}
	MQ3	23,69	37,17 ± 0,86 ^d	0,01 ± 0,01 ⁿ	0,38 ± 0,01 ^b	3,08 ± 0,05 ^p	73,25 ± 0,92 ^e	0,32 ± 0,21 ^{ghi}	0,90 ^{ab}
	MQ4	28,15	38,82 ± 0,30 ^{bc}	0,04 ± 0,00 ^{mn}	0,37 ± 0,01 ^t	2,97 ± 0,04 ^q	83,21 ± 7,23 ^d	0,37 ± 0,18 ^{ghi}	0,91 ^a
	MQ5	33,72	35,85 ± 0,23 ^e	0,11 ± 0,03 ⁱ	0,34 ± 0,01 ^k	3,16 ± 0,01 ^o	84,66 ± 2,91 ^d	0,75 ± 0,63 ^{def}	0,87 ^{cde}
	MQ6	69,00	34,07 ± 0,11 ^{fg}	0,06 ± 0,01 ^{klm}	0,29 ± 0,01 ⁿ	3,22 ± 0,04 ⁿ	45,64 ± 2,22 ^{klm}	-	0,86 ^{defg}
	MQ7	63,80	29,38 ± 0,82 ^{lm}	0,01 ± 0,00 ⁿ	0,31 ± 0,01 ^m	3,14 ± 0,03 ^o	55,80 ± 2,10 ^{hi}	-	0,86 ^{defg}
	MQ8	87,20	35,19 ± 0,73 ^{ef}	0,21 ± 0,02 ^f	0,44 ± 0,01 ^g	3,32 ± 0,02 ^{lm}	101,90 ± 0,57 ^c	1,34 ± 0,07 ^b	0,79 ^{jk}
<i>Melipona marginata</i>	MM1	0,67	32,61 ± 0,71 ⁱ	0,15 ± 0,01 ^{gh}	0,21 ± 0,01 ^t	3,43 ± 0,03 ^k	26,15 ± 0,93 ^p	0,47 ± 0,08 ^{ghi}	0,85 ^{fgh}
	MM2	5,12	38,03 ± 0,30 ^{cd}	0,04 ± 0,01 ^{mn}	0,29 ± 0,01 ^{op}	3,18 ± 0,07 ^o	49,82 ± 5,87 ^{jk}	-	0,90 ^{ab}
	MM3	0,67	31,82 ± 0,20 ^{ij}	0,11 ± 0,01 ^{hi}	0,15 ± 0,01 ^u	3,57 ± 0,04 ^{gh}	18,59 ± 1,47 ^q	0,80 ± 0,09 ^{def}	0,84 ^{hi}
	MM4	13,67	33,87 ± 0,11 ^{gh}	0,12 ± 0,00 ^{hi}	0,34 ± 0,01 ^k	3,51 ± 0,03 ^j	46,99 ± 0,87 ^{klm}	-	0,86 ^{defg}
	MM5	11,07	37,43 ± 0,23 ^d	0,05 ± 0,01 ^{klmn}	0,28 ± 0,01 ^q	3,17 ± 0,01 ^o	43,23 ± 1,45 ^{klm}	0,27 ± 0,02 ^{hi}	0,89 ^{bc}
	MM6	32,98	32,81 ± 0,34 ^{hi}	0,02 ± 0,02 ⁿ	0,32 ± 0,01 ^t	3,24 ± 0,03 ⁿ	28,88 ± 1,07 ^{op}	0,35 ± 0,09 ^{ghi}	0,86 ^{efgh}
	MM7	90,54	34,07 ± 0,11 ^{fg}	0,33 ± 0,02 ^d	0,56 ± 0,01 ^e	3,53 ± 0,01 ^{hi}	119,64 ± 1,41 ^b	1,38 ± 0,09 ^b	0,86 ^{defg}
	MM8	152,57	39,81 ± 0,30 ^{ab}	0,41 ± 0,03 ^b	0,66 ± 0,01 ^a	3,59 ± 0,00 ^g	140,36 ± 2,71 ^a	0,64 ± 0,04 ^{efg}	0,90 ^{ab}
<i>Scaptotrigona bipuncata</i>	SB1	5,87	26,87 ± 0,40 ^{op}	0,08 ± 0,02 ^{kl}	0,29 ± 0,01 ^{no}	3,62 ± 0,02 ^f	35,75 ± 5,16 ^{no}	0,66 ± 0,09 ^{efg}	0,79 ^j
	SB2	14,41	28,39 ± 0,11 ^{mn}	0,19 ± 0,01 ^f	0,38 ± 0,01 ^h	3,74 ± 0,01 ^d	42,81 ± 1,29 ^{klm}	-	0,80 ^j
	SB3	49,32	27,93 ± 0,30 ^{no}	0,21 ± 0,00 ^f	0,32 ± 0,01 ^t	3,72 ± 0,02 ^{de}	41,40 ± 1,13 ^{mn}	1,16 ± 0,16 ^{bc}	0,77 ^k
	SB4	60,46	26,80 ± 0,11 ^{op}	0,55 ± 0,05 ^a	0,64 ± 0,01 ^b	4,81 ± 0,01 ^a	22,70 ± 0,66 ^{pq}	3,19 ± 0,61 ^a	0,78 ^{jk}
	SB5	65,66	29,91 ± 0,23 ^{kl}	0,28 ± 0,05 ^e	0,35 ± 0,01 ^t	3,58 ± 0,02 ^g	40,66 ± 7,78 ^{mn}	1,08 ± 0,11 ^{bcd}	0,80 ^j
	SB6	93,51	25,88 ± 0,20 ^p	0,35 ± 0,04 ^{cd}	0,61 ± 0,01 ^d	3,89 ± 0,00 ^c	63,64 ± 4,78 ^g	-	0,77 ^k
	SB7	99,09	26,80 ± 0,64 ^{op}	0,36 ± 0,02 ^c	0,61 ± 0,02 ^c	4,03 ± 0,01 ^b	46,62 ± 6,65 ^{klm}	-	0,79 ^j
	SB8	118,03	28,65 ± 0,20 ^{mn}	0,42 ± 0,06 ^b	0,49 ± 0,01 ^f	3,68 ± 0,01 ^e	68,27 ± 3,19 ^{ef}	1,15 ± 0,08 ^{bc}	0,87 ^{def}
<i>P</i> (Normality)*	---	0,86	0,69	0,09	0,15	0,81	0,66	0,05	
<i>P</i> (Brown-Forsythe)**	---	0,55	0,53	0,30	0,86	0,80	0,07	0,54	
<i>P</i> (ANOVA)***	---	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

* Valores de probabilidade para normalidade segundo teste de Kolmogorov-Smirnov; ** Valores de probabilidade para homogeneidade de variâncias obtidos pelo teste de Brown-Forsythe;

*** Valores de probabilidade obtidos por ANOVA unidirecional. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados com diferença estatística, conforme o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

TABELA 5. HCA- MÉDIA E FAIXAS PARA OS GRUPOS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO E LIMITES PARA OS PARÂMETROS DA QUALIDADE DE MEL DE *APIS MELLIFERA*

Parâmetros de Qualidade	Média ± Desvio padrão (n = 32)	Faixas (n = 32)	Grupo 1 (n = 24)	Grupo 2 (n = 8)	Limites para mel de <i>Apis mellifera</i>
Umidade	33,22 ± 0,46	25,88–40,07	35,08 (29,38–40,07)	27,65 (25,88–29,91)	Máximo 20 g/100g
Acidez Total	54,73 ± 3,08	18,59–140,36	57,90 (18,59–140,36)	45,23 (18,59–140,36)	Máximo 50 meq/kg
Cinzas	0,13 ± 0,02	0,01–0,55	0,07 (0,01–0,20)	0,30 (0,19–0,55)	Máximo 0,6 g/100g
pH	3,44 ± 0,02	2,97–4,81	3,29 (2,97–3,59)	3,88 (3,58–4,81)	3,3–4,6**
Atividade de Água	0,85 ± 0,04	0,77–0,91	0,87 (0,79–0,91)	0,80 (0,77–0,87)	---
Brix	64,26 ± 4,40	56,75–72,08	62,40 (56,75–68,42)	69,85 (66,50–72,08)	---
Condutividade Elétrica	355,01 ± 131,70	154,17–660,67	319,90 (154,17–660,67)	460,33 (318,33–635,00)	---
Mineral Total	346,84 ± 535,37	37,78–2723,85	359,51 (37,78–2723,85)	308,84 (126,20–670,51)	---
Cor	39,86 ± 40,03	0,30–152,57	41,50 (0,30–152,57)	34,9 (30,67–99,09)	---
Açúcar Redutor	54,92 ± 1,16	45,33–77,69	---	---	Mínimo 60 g/100g
Sacarose	1,4 ± 0,36	0,18–4,78	---	---	Máximo 5 g/100g
HMF	0,56 ± 0,29	0,00–3,19	---	---	Máximo 60 mg/Kg

*CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2001). **BRASIL (1985).

A acidez é atribuída ao equilíbrio dos ácidos orgânicos presentes no mel, especialmente o ácido glucônico, em equilíbrio com suas correspondentes lactonas ou ésteres internos, e até certo ponto, íons inorgânicos, principalmente fosfato, sulfato e cloreto. O ácido glucônico é formado pela atividade da glicose oxidase. A acidez do mel das abelhas sem ferrão é outro parâmetro superior ao exibido pelo mel de *Apis mellifera*. Isso tem sido atribuído à atividade enzimática sobre a glicose, que se mostrou aumentar com a diluição de açúcar no mel (ABADIO FINCO et al., 2010). Todas as amostras de MASF registraram medições de condutividade elétrica abaixo de 0,8 mS/cm (Tabela 4), sugerindo que essas amostras de mel eram de origem floral (FEÁS et al., 2010). Um total de 60% dos méis avaliados estavam de acordo com as normas internacionais para limites máximos de acidez estabelecidos para *Apis mellifera* (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001) (Tabela 5). Os achados foram semelhantes aos relatados por Chuttong et al. (2016a), Biluca et al. (2016) e Pucciarelli et al (2014).

O teor de sólidos solúveis no MASF foi menor que o do mel de *Apis mellifera* devido ao maior teor de umidade. O menor °Brix foi observado nos méis de *M. quadrifasciata* e o mais alto nas espécies de *S. bipunctata* (Tabela 3 e 5). As amostras apresentaram pH médio de 3,44 ± 0,35 (Tabela 4), sendo observados valores mais elevados nas espécies de *Scaptotrigona bipunctata* e menores valores

na espécie *M. quadrifasciata*. Estes valores estavam de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1985), que estabelece um intervalo de 3,3 - 4,6 para o pH do mel de *Apis mellifera* (Tabela 5). O baixo pH do mel o tornaria compatível com muitos produtos alimentícios, além da inibição da presença e crescimento de microrganismos patogênicos, enquanto influencia positivamente a estabilidade, o prazo de validade e a textura do mel (FEÁS et al., 2010). Uma correlação entre pH e conteúdo mineral das amostras de MASF foi observada (Figura 4c). Isso pode ter sido influenciado pela origem geográfica e botânica dos néctares (VANHANEN et al., 2011). Os teores de cinzas de mel para *Scaptotrigona* foram superiores aos de *Melipona*.

O mel pode ser classificado como mel de flor (néctar de plantas) ou mel de melato (secreções de partes vivas de plantas ou excreções de insetos sugadores de plantas) (PITA-CALVO; VAZQUEZ, 2017). Nesse contexto, todas as MASF apresentaram teor de cinzas inferior a 0,60%, o que é recomendado para o mel da floral (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). O baixo teor de cinzas é uma característica do mel de cor clara (KHALAFI et al., 2015). A avaliação de cor Pfund mostrou que 28,1% das amostras foram classificadas como branco-água, 15,6% extra branco, 15,6% branco, 12,5% âmbar claro, 12,5% âmbar, 9,4% âmbar extra claro e 6,3% âmbar escuro.

Os níveis minerais para MASF foram semelhantes aos de outros tipos de mel analisados em outras partes do mundo (BILUCA et al., 2016; KARABAGIAS; LOUPPIS; et al., 2017). O potássio (K) foi o elemento mais abundante em todas as amostras analisadas (Tabela 6). É considerado o mineral mais importante (quantitativamente) no mel de *Apis mellifera* (3,90-491,40 mg/100g), representando cerca de 50% do conteúdo mineral total (CZIPA et al., 2015). O eletrólito é importante para um sistema nervoso saudável e para uma frequência cardíaca regular, reduzindo a pressão arterial e o risco de doença cardiovascular, acidente vascular cerebral e doença coronariana em humanos adultos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012). O segundo mineral mais abundante foi o cálcio (Ca) em todas as amostras de MASF. Os outros dois minerais frequentemente presentes no MASF foram Mg e Na que também são considerados importantes para a nutrição humana. Mn, um metal pesado considerado como um micronutriente essencial estava presente no MASF. O conteúdo dos minerais em MASF foi semelhante aos valores relatados para o mel *Apis mellifera* (CZIPA et al., 2015). De acordo com a

quantidade de minerais encontrada, a ingestão de uma colher de sopa (aproximadamente 20 g) de MASF forneceria: 4,55 mg de K, 0,64 mg de Ca, 0,59 mg de Na, 0,31 mg de Mg, 47,29 µg de Zn, 40,24 µg de Mn, 22,69 µg de Fe, 13,44 µg de Cr, 4,21 µg de Cu e 0,46 µg de V. Conforme a ingestão diária de minerais recomendada para adultos, 2 colheres de MASF corresponderia a ingestão de 0,12% do recomendado para Ca, 0,24% de Mg, 1,14% de Zn, 3,5% de Mn, 3,2 de Fe, 76% de Cr e 0,02% de Cu

Poucas amostras (MB2, MB4 e MQ7) apresentaram traços de estanho (Sn), com valores variando de 0,002 a 0,006 mg/100 g. As amostras MQ8, SB2 e SB7 apresentaram valores variando de 0,001 a 0,002 mg/100g para o cobalto. Pb, Cd e Al são classificados como micro contaminantes ambientais e não são necessários para o organismo vivo em qualquer quantidade. As amostras de MB3, MB7 e SB6 apresentaram traços de cádmio em níveis variando de 0,001 a 0,004 mg/100g.

Considerando a diversidade e a garantia de qualidade do produto, tanto para o consumo interno quanto para o mercado de exportação, é necessária a caracterização da MASF em termos de seus parâmetros físico-químicos. Para entender o conjunto de dados, as inter-relações e as diferenças entre os grupos de espécies de abelhas, foi aplicada a análise de componentes principais (PCA) para os dados umidade, aw, condutividade elétrica, acidez total, °BRIX, pH, cor, cinza e mineral total da ASF brasileiras (Tabelas 3, 4 e 5). O PCA explicou 72,12% da variância total dos dados (Figura 4d). Nos escores, os méis foram separados com sucesso em dois grupos, méis de *Scaptotrigona* e de *Melipona*.

O grupo do gênero *Melipona* (Figura 4d e 4e, lado direito) apresentou maiores teores de umidade, atividade de água, cor, condutividade elétrica, acidez total e mineral total no loading plot. O grupo do gênero *Scaptotrigona* (Figura 4d e 4e, lado esquerdo), apresentou maiores teores de °Brix, pH e cinzas (Tabela 5). A Análise Hierárquica de Clusters (HCA) foi realizada para verificar o agrupamento das amostras de acordo com seu conteúdo mineral e propriedades físico-químicas no dendrograma da Figura 4f. Dois grandes grupos podem ser observados no dendrograma, que separa as amostras das espécies do gênero *Melipona* (Cluster 1) e as amostras das espécies do gênero *Scaptotrigona* (Cluster 2). Esses achados corroboram com os resultados obtidos pelo PCA.

TABELA 6. VALORES MÉDIOS DE MINERAIS DE TRAÇOS DE METAIS PESADOS (MG / 100 G) EM MEL DE MELIPONINI.

Espécies de Abelhas sem Ferrão	Mo	Ni	Fe	Mg	Mn	V	Zn	P	Pb	Cu	B	Ca	Ag	Cr	Al	Ba	Li	K	Na	Total
MB1	0,007	0,015	1,10	14,34	1,94	0,011	0,68	41,39	1,26	0,12	1,25	28,61	0,031	0,041	2,55	0,74	0,16	109,42	19,31	222,98
MB2	0,009	0,011	0,57	9,98	2,77	0,012	0,52	7,41	0,04	0,09	2,15	18,01	0,053	0,030	1,82	0,34	0,06	49,65	9,79	103,33
MB3	0,008	0,192	2,54	19,59	2,87	0,024	0,35	2,78	-	0,38	2,16	28,05	0,037	0,084	55,51	0,38	0,09	53,19	94,90	263,14
MB4	-	0,017	0,13	6,29	2,00	0,013	0,32	4,46	-	0,25	1,33	13,66	0,039	0,012	0,57	0,30	0,02	12,21	5,84	47,50
MB5	-	0,061	1,18	8,95	1,63	0,024	0,38	23,85	-	0,08	1,16	20,01	0,032	-	1,08	0,33	0,28	58,33	12,77	130,15
MB6	0,010	-	0,44	6,49	1,75	0,011	0,46	3,94	-	0,14	1,55	19,61	0,030	0,035	1,56	0,27	0,06	45,73	13,42	95,51
MB7	0,022	0,027	1,57	16,95	2,19	0,016	1,55	66,47	0,11	0,32	0,65	34,25	0,038	0,094	5,65	1,22	0,53	78,93	24,79	235,39
MB8	-	0,021	0,62	10,41	0,75	0,022	0,71	19,53	0,02	0,08	1,44	24,85	0,040	0,013	1,43	0,60	0,35	96,20	17,29	174,38
MQ1	-	0,33	3,00	9,62	3,00	0,017	0,51	4,66	-	0,09	1,74	18,52	0,031	-	1,20	0,37	0,13	25,60	5,92	71,76
MQ2	-	0,17	8,62	2,85	0,11	0,27	3,76	0,04	0,15	1,44	14,53	0,028	0,008	0,008	0,72	0,26	0,16	11,48	5,56	50,06
MQ3	0,009	0,020	0,75	12,41	2,02	0,024	0,52	31,18	0,04	0,08	0,88	22,75	0,034	0,030	1,56	0,37	0,15	51,71	16,19	140,73
MQ4	0,010	0,010	0,40	3,80	0,55	0,014	0,32	4,26	-	0,08	0,91	13,64	0,033	0,017	1,40	0,18	-	52,65	11,29	89,56
MQ5	0,006	0,015	0,26	7,96	1,54	0,020	0,36	14,61	-	0,14	0,71	16,31	0,031	0,012	0,68	0,31	0,17	34,64	11,57	89,34
MQ6	-	0,056	1,56	16,02	1,90	0,026	1,77	34,18	0,02	0,11	1,02	27,28	0,051	0,020	16,56	0,61	0,13	66,49	23,05	190,85
MQ7	0,025	0,023	0,41	10,29	1,36	0,100	0,45	26,75	0,03	0,10	0,71	22,79	0,030	0,026	1,37	0,46	0,29	46,18	14,57	126,02
MQ8	-	0,025	0,39	14,84	0,59	0,011	0,90	47,28	-	0,10	1,41	31,23	0,021	0,020	1,75	0,79	0,27	173,39	21,65	294,68
MM1	0,009	0,014	0,34	6,65	3,22	0,019	0,71	2,92	0,05	0,15	2,60	17,77	0,043	0,009	2,31	0,52	0,40	37,58	9,48	84,79
MM2	0,005	-	0,65	5,37	1,45	0,012	0,56	5,47	0,05	0,06	1,93	16,26	0,042	0,030	1,66	0,33	0,37	43,81	15,88	88,47
MM3	0,010	0,010	0,20	5,66	2,38	0,010	0,23	2,64	-	0,18	1,87	12,12	0,041	0,013	0,78	0,17	-	6,66	4,81	37,78
MM4	0,034	0,503	9,11	73,48	10,56	0,046	15,74	112,63	0,12	0,75	12,71	151,16	0,302	0,254	54,11	11,58	2,77	1104,65	152,74	1713,25
MM5	0,012	0,008	1,36	11,32	2,77	0,026	0,37	16,02	0,07	0,14	1,30	21,96	0,108	0,098	2,30	0,35	0,38	57,56	10,05	126,20
MM6	0,017	0,014	0,49	9,91	1,33	0,012	0,58	29,65	0,04	0,11	1,23	24,82	0,046	0,019	2,39	0,50	0,17	52,55	22,52	146,40
MM7	0,007	0,089	0,91	11,11	1,10	0,012	1,66	23,56	0,05	0,17	2,06	23,56	0,040	0,007	6,36	0,67	0,30	345,16	28,96	445,79
MM8	0,012	0,341	3,81	86,65	0,97	0,086	4,53	82,45	-	1,21	8,37	155,08	0,191	0,065	23,41	2,31	3,01	2198,57	152,78	2723,85
SB1	0,009	0,008	0,84	10,30	2,14	0,025	1,66	14,62	0,04	0,09	1,85	19,48	0,032	0,032	3,37	0,30	0,18	92,22	15,26	162,44
SB2	0,070	0,082	1,42	15,84	1,08	0,021	4,09	39,13	0,03	0,25	1,58	33,74	0,039	0,032	18,35	3,02	0,62	236,15	51,86	407,42
SB3	0,009	0,012	0,48	8,78	2,00	0,020	0,60	9,80	0,04	0,20	2,26	17,28	0,036	0,003	3,26	0,37	0,21	184,33	18,01	247,70
SB4	-	0,033	0,63	12,90	0,85	0,015	1,82	20,84	0,05	0,11	2,68	32,24	0,033	19	6,89	1,26	0,43	539,12	31,61	670,51
SB5	0,007	0,029	0,49	13,88	2,24	0,020	0,82	9,21	-	0,12	2,29	25,77	0,044	0,011	3,61	0,59	0,09	182,38	18,46	260,06
SB6	0,011	0,034	1,27	21,08	0,98	0,017	28,94	27,38	0,05	0,24	2,62	42,94	0,048	0,089	8,35	0,71	0,24	431,04	44,04	610,12
SB7	0,009	0,029	1,20	15,71	0,93	0,015	2,22	30,09	0,05	0,51	2,49	40,37	0,046	0,043	7,12	1,77	0,28	452,87	32,94	588,70
SB8	0,007	-	0,68	16,99	0,67	0,019	1,06	22,70	0,03	0,13	1,94	31,63	0,063	0,019	3,47	0,83	0,27	352,91	26,57	459,99
Média	0,014	0,063	1,13	15,69	2,01	0,023	2,36	25,17	0,11	0,21	2,20	31,88	0,054	0,672	7,60	1,03	0,42	227,61	29,50	
DP ^a	0,014	0,113	1,64	17,49	1,74	0,020	5,59	24,92	0,27	0,23	2,33	32,72	0,055	3,462	13,51	2,03	0,69	422,93	36,60	
Mediana	0,009	0,023	0,640	10,760	1,825	0,018	0,640	20,185	0,040	0,135	1,660	23,175	0,039	0,028	2,350	0,480	0,255	62,410	17,650	
Varição do DP ^a	0,001-	0,001-	0,01-	0,01-	0,01-	0,001-	0,01-	0,03-	0,01-	0,01-	0,01-	0,04-	0,001-	0,001-	0,02-	0,01-	0,01-	0,04-	0,01-	
	0,010	0,015	0,11	0,09	0,04	0,013	0,12	0,89	0,06	0,03	0,15	0,94	0,013	0,028	1,24	0,08	0,38	10,59	2,23	

^a Devio Padrão. MB: *Melipona Bicolor*, MQ: *Melipona Quadrifasciata*; MM: *Melipona Marginata*; SB: *Scaptotrigona Bipunctata*. Números de 1 ao 8 representam 8 meliponários diferentes onde as amostras foram coletadas.

3.2. Avaliação Microbiológica

Os méis *in natura* geralmente apresentam microrganismos que sobrevivem em condições de açúcares concentrados, baixo teor de água, condições de acidez e propriedades antimicrobianas, influenciando sua qualidade e segurança para o consumo. Microrganismos de interesse a saúde comumente encontrados no mel, como bactérias formadoras de esporos, certas cepas de leveduras, e aqueles em condições de germinação e crescimento em alimentos não tratados termicamente (ou seja, *Clostridium* e *Salmonella* spp.) podem causar doenças humanas. Outros microrganismos como coliformes e leveduras são utilizados como indicativos da qualidade sanitária e comercial do mel (ESTEVINHO et al., 2012).

A Tabela 7 mostra os níveis de contaminação microbiana nas amostras de MASF. Devido ao seu baixo pH e alta acidez (Tabela 3 e 4), os méis de abelhas sem ferrão criam um ambiente inóspito para microorganismos, especialmente os patógenos, sendo portanto, considerados um alimento de baixo risco para os consumidores. Em nível internacional, o saneamento, a qualidade, a integridade e o valor nutricional do mel vêm recebendo atenção devido ao crescente teor de substâncias químicas presentes na matriz (ESTEVINHO et al., 2012).

TABELA 7. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ABELHAS SEM FERRÃO BRASILEIRAS.

Espécies de Abelhas sem Ferrão	Amostras	Aeróbias mesófilas (log CFU/g)	Bactérias Lácticas (log CFU/g)	Bolores e Leveduras (log CFU/g)	Coliformes Totais 35 °C (MPN)	Coliformes Termotolerantes 45 °C (MPN)
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	3,29 ± 0,17 ^{cdef}	3,83 ± 0,04 ^{ghij}	4,18 ± 0,08 ^{bc}	<3	<3
	MB2	2,20 ± 0,17 ^{ijk}	3,16 ± 0,24 ^{lm}	3,88 ± 0,07 ^{cdefg}	<3	<3
	MB3	2,63 ± 0,06 ^{ghijk}	4,98 ± 0,02 ^{bcde}	4,09 ± 0,07 ^{bcd}	<3	<3
	MB4	2,10 ± 0,17 ^{jk}	3,21 ± 0,01 ^{klm}	3,52 ± 0,08 ^{hijk}	<3	<3
	MB5	3,19 ± 0,13 ^{cdefg}	5,36 ± 0,10 ^{acd}	4,28 ± 0,55 ^b	20	<3
	MB6	2,30 ± 0,30 ^{hijk}	4,30 ± 0,17 ^{fg}	3,06 ± 0,32 ^{mno}	9,2	<3
	MB7	3,98 ± 0,05 ^{bc}	4,01 ± 0,04 ^{gh}	3,42 ± 0,13 ^{ijkl}	<3	<3
	MB8	3,57 ± 0,29 ^{bcde}	3,45 ± 0,03 ^{ijkl}	2,90 ± 0,10 ^{op}	<3	<3
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ1	3,21 ± 0,24 ^{cdefg}	5,02 ± 0,70 ^{bcde}	4,06 ± 0,18 ^{bcd}	<3	<3
	MQ2	3,29 ± 0,08 ^{cdef}	5,82 ± 0,08 ^a	3,27 ± 0,08 ^{klmn}	<3	<3
	MQ3	3,40 ± 0,08 ^{bcdef}	5,43 ± 0,17 ^{abc}	3,70 ± 0,13 ^{efghi}	93	<3
	MQ4	3,25 ± 0,67 ^{cdef}	5,18 ± 0,47 ^{bcde}	2,86 ± 0,17 ^{op}	<3	<3
	MQ5	2,36 ± 0,32 ^{hijk}	3,42 ± 0,02 ^{ijklm}	2,67 ± 0,19 ^p	<3	<3
	MQ6	3,00 ± 0,87 ^{efgh}	4,64 ± 0,05 ^{ef}	3,81 ± 0,05 ^{defgh}	<3	<3
	MQ7	2,72 ± 0,64 ^{ghijk}	5,47 ± 0,04 ^{ab}	3,14 ± 0,25 ^{lmno}	3,6	<3
	MQ8	3,03 ± 0,79 ^{efgh}	4,35 ± 0,14 ^{fg}	2,87 ± 0,15 ^{op}	<3	<3
<i>Melipona marginata</i>	MM1	2,89 ± 0,41 ^{efghi}	2,48 ± 0,01 ⁿ	4,62 ± 0,09 ^a	<3	<3
	MM2	2,88 ± 0,06 ^{efghij}	4,26 ± 0,25 ^{fgh}	3,33 ± 0,06 ^{ijklm}	<3	<3
	MM3	2,16 ± 0,28 ^{ijk}	3,12 ± 0,13 ^{lm}	4,01 ± 0,09 ^{bcde}	3	<3
	MM4	2,90 ± 0,18 ^{efghi}	2,96 ± 0,26 ^{lmn}	3,63 ± 0,15 ^{fghij}	<3	<3
	MM5	4,77 ± 0,15 ^a	3,87 ± 0,38 ^{ghij}	3,93 ± 0,13 ^{cdef}	<3	<3
	MM6	3,95 ± 1,09 ^{bcd}	4,91 ± 0,14 ^{cde}	3,17 ± 0,15 ^{lmno}	<3	<3
	MM7	2,26 ± 0,24 ^{hijk}	1,65 ± 0,07 ^o	2,10 ± 0,17 ^q	<3	<3
	MM8	2,36 ± 0,32 ^{hijk}	1,69 ± 0,30 ^o	2,26 ± 0,24 ^q	<3	<3
<i>Scaptotrigona bipuncata</i>	SB1	2,46 ± 0,41 ^{ghijk}	3,74 ± 0,06 ^{hijk}	3,57 ± 0,08 ^{ghijk}	29	9,4
	SB2	3,38 ± 0,60 ^{bcdef}	3,97 ± 0,10 ^{ghi}	3,17 ± 0,13 ^{lmno}	<3	<3
	SB3	3,57 ± 0,18 ^{bcde}	2,87 ± 0,20 ^{mn}	2,98 ± 0,07 ^{nop}	<3	<3
	SB4	3,18 ± 0,16 ^{defg}	4,87 ± 0,02 ^{de}	3,82 ± 0,16 ^{defgh}	93	29
	SB5	2,00 ± 0,01 ^k	1,24 ± 0,34 ^o	3,55 ± 0,03 ^{ghijk}	<3	<3
	SB6	4,06 ± 0,06 ^b	3,35 ± 0,49 ^{ijklm}	3,08 ± 0,29 ^{mno}	<3	<3
	SB7	3,38 ± 0,43 ^{bcdef}	4,94 ± 0,07 ^{bcde}	3,54 ± 0,14 ^{hijk}	<3	<3
	SB8	2,26 ± 0,24 ^{hijk}	3,45 ± 0,21 ^{ijkl}	2,20 ± 0,17 ^q	<3	<3
<i>P</i> (Normality)*		0,37	0,44	0,85		
<i>P</i> (Brown–Forsythe)**		0,54	0,09	0,96		
<i>P</i> (ANOVA)***		<0,001	<0,001	<0,001		

*Valores de probabilidade obtidos segundo teste de Kolmogorov-Smirnov para normalidade; **Valores de probabilidade obtidos pelo teste Brown-Forsythe para homogeneidade de variâncias; ***Valores de probabilidade obtidos pela Anova unidirecional. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados com diferença estatística, de acordo com o teste duncan ($p \leq 0,05$).

A microbiota que pode crescer em pH menor que 4,5 compreende os bolores e leveduras além das bactérias lácticas. As flores são as principais fontes de leveduras tolerantes ao açúcar, enquanto a presença de fungos está relacionada ao contato com a colmeia, a grama e o conteúdo intestinal das abelhas (ESTEVINHO et al., 2012). Para o consumidor, esses microrganismos do mel inerentes ao pólen, ao trato digestivo das abelhas, solos, poeira e néctar não são patogênicos (SNOWDON; CLIVER, 1996). Leveduras e fungos foram detectados em MASF em altas contagens, com um valor médio de $3,4 \pm 0,61$ log UFC / g. Um valor menor que 3 logs CFU/g foi relatado para leveduras e fungos em mel de *Apis mellifera*. O meio DRBC foi aplicado para detectar fungos que se espalham como *Mucor* e *Rhizopus* e para a detecção de fungos e leveduras que apresentam uma pequena taxa de crescimento. Tem sido relatado ser bastante eficaz na inibição do desenvolvimento bacteriano devido ao inibidor do cloranfenicol (SAMSON et al., 1996). Valores semelhantes para esses microrganismos foram relatados para *Tetragonisca angustula* por Pucciarelli et al. (2014) e *Melipona Illiger* por Souza et al. (2009).

A variação na contagem bacteriana pode ser devida a fatores como o tempo de colheita, as técnicas analíticas, a frescura do mel, o tipo de amostra (crua, acabada ou varejista) (SNOWDON; CLIVER, 1996). Sua presença pode indicar contaminação durante o manuseio, processamento e armazenamento, e eles podem ser evitados pela aplicação de boas práticas de fabricação (RÓŽAŃSKA, 2011). No entanto, existe uma grande flora de bactérias de ácido láctico (BAL) no mel que são geralmente reconhecidas como bactérias seguras e desempenham um papel importante na fermentação e preservação de alimentos. Os BAL no MASF variaram de 1,24 log UFC/g para *Scaptotrigona bipunctata* (SB5) a 5,82 log UFC/g para *Melipona quadrifasciata* (MQ2), sugerindo a presença de um conservante natural. As BAL melhoram a qualidade higiênica e a segurança dos alimentos ao inibir a flora concorrente, que inclui muitas bactérias deteriorantes e patogênicas. Também produz ácidos orgânicos (principalmente ácido láctico), resultando em um pH mais baixo e em vários compostos antimicrobianos (CINTAS et al., 2001).

As contagens totais de mesófilos aeróbicos variaram de 2,00 (SB5) a 4,77 (MM5) log CFU/g, de acordo com aquelas relatadas por Pucciarelli et al. (2014). Em relação à segurança, *Salmonella* sp. não foi detectado em nenhuma das 32 amostras (Tabela 7). Para o grupo coliforme a 35 °C, 78% das amostras de mel analisadas apresentaram <3MPN/g e 94% não apresentaram coliformes a 45° C.

Assim, apenas duas amostras da espécie *Scaptotrigona bipuncata* (SB1, SB4) apresentaram coliformes termotolerantes. Essas abelhas podem ter um hábito anti-higiênico quando coletam material para a construção da colmeia (SOUZA, B. et al., 2009). Isso também poderia ser atribuído a alguma contaminação antrópica que pode ocorrer durante a coleta do mel ou mesmo no transporte das amostras, uma vez que esses microrganismos foram detectados em menos de 6% das amostras de MASF, sugerindo que eles não estão naturalmente presentes nos méis.

4. CONCLUSÕES

Os méis coletados de abelhas sem ferrão nativas têm origem floral e são derivados de néctares que apresentam baixa condutividade e baixo teor de cinzas. Diferente da *Apis mellifera*, os méis de abelha sem ferrão (MASF) aqui avaliados apresentaram um caráter ácido, nível ligeiramente inferior de carboidratos totais e higroscopicidade devido a seus altos valores em açúcares redutores, umidade e atividade de água. Além disso, a MASF pode ser considerada uma boa fonte de minerais, particularmente K e Ca. Este estudo também demonstrou que as espécies de abelhas de diferentes gêneros afetam as propriedades do mel. A análise estatística multivariada foi eficaz para discriminar os grupos de MASF. Utilizando a abordagem quimiométrica, a Análise de Componentes Principais (PCA) explicou 72,12% da variabilidade dos dados, conseguiu distinguir os méis nos gêneros *Scaptotrigona* e *Meliponina*. Dois clusters sugeridos pela Análise de Agrupamento Hierárquico corroboraram com o PCA, no qual o cluster 2 foi formado pelo gênero *Scaptotrigona*, que apresentou os maiores valores de pH, cinzas e °BRIX. A fim de criar padrões e assegurar um tratamento adequado para reduzir a microbiota da MASF, é necessário considerar a grande variação existente entre a produção de mel de diferentes gêneros de abelhas sem ferrão. A crescente produção comercial desses méis exige que metodologias e padrões analíticos oficiais sejam estabelecidos, com o objetivo de ajudar ambos os produtores a preservar características sensoriais e nutricionais, e analistas na avaliação e prevenção da adulteração de MASF.

CAPÍTULO 3

COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO MEL DE ABELHA SEM FERRÃO BRASILEIRO TÊM FORTE RELAÇÃO COM A ORIGEM FLORAL DO PÓLEN

AVILA, S.; HORNUNG, P. S.; TEIXEIRA, G. L.; MALUNGA, L. N.; APEABAH, F. B.; BEUX M. B.; BETA, T.; RIBANI, R. H.

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente no Food Research International Journal. Qualis - Capes A1. JCR 3.520, (2019)

(Anexo III)

Compostos bioativos e propriedades biológicas do mel de abelha sem ferrão brasileiro têm forte relação com a origem floral do pólen

RESUMO

Estudou-se a viabilidade multivariada de análise de dados para a avaliação de mel de abelha sem ferrão (MASF) brasileiro pelo espectro de pólen, teor de compostos bioativos, análise físico-química, antioxidante e antimicrobiana. Foram analisados o conteúdo fenólico total e por HPLC-PDA os compostos fenólicos individuais. A capacidade antioxidante foi realizada pelos ensaios de radical livre de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e poder antioxidante férrico (FRAP). O total de compostos fenólicos das trinta e dois MASF foram positivamente correlacionados com a capacidade antioxidante. Compostos bioativos como ácido *p*-cumárico, quercetina e hesperetina foram identificados em todas as amostras. MASF brasileira mostrou atividade antibacteriana mais efetiva contra bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *S. typhimurium*) em comparação com bactérias Gram-positivas. Os resultados também revelaram que o MASF pode atingir até 45% mais atividades antioxidantes e biológicas do que o mel *Apis mellifera* tradicional. A quimiometria mostra que as propriedades químicas e biológicas do MASF têm uma forte relação com a origem botânica do pólen. A análise de componentes principais (PCA) agrupou o mel em três categorias com predominância de pólen das famílias Verbenaceae, Asteraceae e Sapindaceae, confirmando que MASF pertencentes à mesma origem floral apresentam características semelhantes.

Palavras-chaves: capacidade antioxidante, atividade antimicrobiana, melissopalínologia, compostos bioativos, cromatografia líquida de alta eficiência.

1. INTRODUÇÃO

O mel produzido por abelhas sem ferrão é conhecido por sua textura fluida e lenta cristalização (BILUCA et al., 2016; ABD JALIL et al., 2017). Essas abelhas coletam e modificam quimicamente os néctares florais da rica vegetação de ambientes nativos, com substâncias orgânicas específicas, por exemplo, secreções salivares das glândulas em seus abdomens e enzimas de suas glândulas cefálicas (CHUTTONG et al., 2016a; ÁVILA et al., 2018). O mel é armazenado e deixado para amadurecer dentro das colônias, resultando em mel exclusivo com um grau incomum de acidez, doçura e valor medicinal (CHUTTONG et al., 2016a; ABD JALIL et al., 2017). O mel das abelhas sem ferrão (MASF) desempenham um papel importante no tratamento de tumores, infecções na garganta, inflamações, doenças renais, purificação do sangue, doenças oculares e cicatrização de feridas. Isso faz com que o MASF seja bastante diferente do produto tradicional da apicultura *Apis mellifera* (ZUCCATO et al., 2017; ÁVILA et al., 2018).

O papel benéfico do mel é atribuído aos seus compostos antioxidantes como aminoácidos, proteínas, enzimas, carotenoides, ácidos orgânicos e polifenóis, especialmente flavonoides e ácidos fenólicos (CHUTTONG et al., 2016a; ÁVILA et al., 2018). O sabor, aroma e teor de compostos fenólicos presentes no mel estão fortemente associados às fontes botânicas de pólen, néctar, resina, óleo, à área geográfica, condições ambientais e de armazenamento e às espécies de abelhas envolvidas na sua produção (COSTA et al., 2017). Consequentemente, mel de diferentes origens florais apresentam propriedades bioativas distintas (VIT, 2013). Uma ampla gama de análises diferentes sobre constituintes fitoquímicos da MASF, associados à quimiometria, pode fornecer um banco de dados para autenticar a origem botânica da flora do mel, particularmente quando a análise de pólen não é tão prontamente aplicável (SANT ANA et al., 2012).

Portanto, o presente estudo foi realizado para caracterizar o MASF brasileiro por meio do espectro de pólen, análise físico-química, conteúdo fenólico, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana. Aplicou-se análise multivariada para verificar a influência da origem botânica do pólen em suas propriedades.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras de méis

A amostragem foi realizada conforme item 2.1 do capítulo 2.

2.2. Análise melissopalínológica e físico-química

O caráter polifloral do mel foi confirmado de acordo com os métodos melissopalínológicos, como relatado anteriormente (LOUVEAUX et al., 1978; OHE et al., 2004). A frequência de ocorrências foi determinada pela contagem de 500 pólenes de um único slide. Em seguida, a contagem de pólen foi convertida em porcentagem para calcular a dominância relativa (OHE et al., 2004; BELAY et al., 2017). Os parâmetros físico-químicos (cinza, pH, condutividade elétrica e cor) foram determinados em triplicata de acordo com métodos padronizados propostos pela Comissão Internacional de Mel (IHC, 1997) e Métodos de Análise Oficial da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (2008).

2.3. Extração de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram extraídos usando o tubo de extração em fase sólida (SPE XAD-2) com base no método de Gheldd et al. (2002) e Wang et al. (2004), com modificação. Amostras de mel (40 g) foram dissolvidas em 200 mL de água acidificada (pH 2,0) e homogeneizadas em banho ultrassônico por 30 min em temperatura ambiente. As soluções foram então centrifugadas a 1000 rpm durante 10 min para remover partículas sólidas. O tubo de SPE foi condicionado por lavagem com 10 ml de metanol e 10 ml de água acidificada. O filtrado foi passado através da resina Amberlite XAD-2. Açúcares e compostos polares foram eluídos com água acidificada (200 mL). Depois, os compostos fenólicos foram recuperados com metanol (120 mL). O extrato metanólico foi evaporado sob vácuo a 35 °C e suspenso em água (5 mL). Esta solução foi extraída três vezes com acetato de etila (5 mL). As frações de acetato de etila foram combinadas e evaporadas sob nitrogênio a 35 °C. Os extratos secos foram redissolvidos em 50% de metanol (400µL) e usados como extratos fenólicos.

2.4. Conteúdo de fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante

O CFT e a atividade sequestradora de radicais DPPH e ABTS foram realizados em microplacas de 96 poços. O CFT dos extratos fenólicos de MASF foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com pequenas modificações. Uma alíquota de 15 µL da solução de extrato de mel foi misturada com 240 µL de água ultrapura e 15 µL do reagente Folin-Ciocalteu e a reação ocorreu a temperatura ambiente (25 ± 2 ° C) por 3 min no escuro. Em seguida, adicionou-se 15 µL de solução de carbonato de sódio (20%, p / v) seguido de ligeira agitação e a mistura foi deixada em repouso durante 1 hora. A absorbância foi medida a 750 nm em um espectrofotômetro de microplacas Epoch (Synergy-BioTek, EUA). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por kg de mel.

A atividade de eliminação do radical DPPH foi determinada de acordo com o método de Blois (1958) e modificada por Brand-Williams et al. (1995) com pequenas modificações. Amostra de extrato fenólico (10 µL) foi adicionada a 190 µL de uma solução de DPPH metanólica a 60 µmol/L. A absorvância foi medida a 515 nm após a mistura ter descansado durante 30 min no escuro. O ensaio ABTS foi realizado conforme relatado por Re et al. (1999) com algumas modificações. Foram preparadas soluções estoque de 7 mmol/L de ABTS e 2,45 mmol/L de solução de persulfato de potássio. A solução de trabalho foi misturada com cada solução mãe e deixada reagir durante 16 h à temperatura ambiente no escuro. A solução foi então diluída misturando a solução de radical ABTS com água para obter uma absorbância de 0,70 a 750 nm. A amostra de extrato fenólico (10 µL) foi adicionada a 300 µL de solução diluída de ABTS.

O ensaio ORAC foi baseado no procedimento descrito por Huang et al. (2002) e modificado por Li et al. (2007). As soluções foram transferidas automaticamente de placa para placa com um sistema de pipetagem de microplacas automatizado Precision 2000 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA). Subsequentemente, utilizou-se um leitor de fluorescência de microplacas FLx 800 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) para obter um comprimento de onda de excitação de 485/20 nm e um comprimento de onda de emissão de 528/20 nm. O leitor foi programado para registrar a fluorescência a cada minuto por 50 min após a adição

do dicloridrato de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH). A curva do decaimento da fluorescência foi integrada usando o software KC4 3.0. Os resultados dos ensaios de capacidade antioxidante foram apresentados como micromole equivalentes de Trolox (TE) por kg de mel.

2.6. Análise HPLC-PDA de compostos fenólicos

A avaliação cromatográfica foi realizada num HPLC (Waters 2695) equipado com um detector de conjunto de fotodíodos (PDA) (Waters 2996), um amostrador automático (Waters 717 plus) e uma bomba quaternária. A separação foi obtida numa coluna analítica Acucore C18 de 100 mm x 3 mm e 2,6 μ m (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA). A fase móvel consistia em A (0,1% de ácido fórmico em água) e B (0,1% de ácido fórmico em metanol). As condições estabelecidas foram as seguintes: temperatura da coluna de 35 °C, vazão de 0,5 mL/min, volume de injeção de 10 μ L. Um gradiente de 25 min foi usado como segue: 0-3,81 min, 9-14% B; 3,81-4,85 min, 14-15% B; 4,85-5,89 min, 15% de B; 5,89-8,32 min, 15-17% B; 8,32-9,71 min, 17-19% B; 9,71-10,40 min, 19% de B; 10,40-12,48 min, 19-26% de B; 12,48-13,17 min, 26-28% de B; 13,17-14,21 min, 28-35% B; 14,21 a 15,95 min, 35 a 40% B; 15,95-16,64 min, 40-48% de B; 16,64-18,37 min, 48-53% de B; 18,37-22,53 min, 53-70% B; 22,53-22,88 min, 70-9% de B; 22,88 a 25 min, 9% de B.

Os compostos fenólicos dos extratos de MASF foram detectados a um comprimento de onda de 280 nm. A identificação foi realizada comparando o tempo de retenção e a correspondência espectral com os padrões externos e foi confirmada por Q-TOF-MS que foi calibrado usando iodeto de sódio para o modo negativo através do intervalo de massa de 100–1000. Uma resolução de 5000 foi alcançada. Os espectros de massa total foram registados em modo negativo utilizando uma voltagem capilar de 900 kV e uma voltagem de cone de 10 V. As taxas de fluxo do gás de dessolvatação (N₂) e cone de gás (He) foram 900 e 50 L/h, respectivamente. A temperatura do gás de dessolvatação e a temperatura da fonte de íons foram fixadas em 250 e 120° C, respectivamente. Os espectros MS/MS foram adquiridos usando energia de colisão de 5 V. A quantificação dos compostos fenólicos foi feita comparando as suas áreas de pico com as dos correspondentes padrões autênticos (concentração variando de 2,5 a 100 μ g / mL) que foram usados para traçar curvas de calibração com equações de regressão linear determinadas

como: : $y = -3.92 + 15088.64x$ ($n = 7$, $R^2 = 0.9999$ para o ácido p-cumárico), $y = -9.61 + 1906.55x$ ($n = 7$, $R^2 = 0.9873$ para o ácido elágico), $y = 1.03 + 3930.16x$ ($n = 7$, $R^2 = 0.9971$ para quercetina) and $y = 3.07 + 9899.72x$ ($n = 7$, $R^2 = 0.994$ para hesperitina).

2.7. Atividade antimicrobiana (CIM)

Cepas padrões de seis espécies bacterianas diferentes foram analisadas. Estes incluíram três Gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*), três Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) e um fungo (*Candida albicans*). A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada com base no método do National Committee for Clinical Laboratory Standards (1997) com o caldo Müller-Hinton em uma microplaca com 96 poços. Diluições em série de mel foram processadas e 5% (v:v) de solução de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (TTC) em metanol foi usado para verificar o crescimento bacteriano. Cloranfenicol e cetoconazol foram usados como agentes antimicrobianos padrão. A determinação das CIMs foi baseada na presença ou ausência de coloração rosa, sendo a presença de coloração relacionada ao crescimento bacteriano. Assim, considerou-se a menor concentração (g/100g de mel) que pode proporcionar uma inibição completa do crescimento.

2.10. Análise de dados

A normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e a homogeneidade (teste de Levene) das variâncias foram verificadas para todas as variáveis, e os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão. A análise de variância unidirecional (ANOVA) foi utilizada para determinar diferenças significativas ($P < 0,05$) entre amostras de mel. Para as variáveis que apresentaram variâncias não homogêneas ($P < 0,05$), foi utilizado o teste de comparações múltiplas não-paramétrico de Kruskal-Wallis. O teste de Duncan foi utilizado para comparação de médias. O grau de associação entre as variáveis pareadas foi avaliado pela correlação de Pearson.

A quimiometria foi aplicada usando análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamentos (HCA) para avaliar os dados, que foram

escalonadas automaticamente para padronizar a importância estatística das respostas. Para PCA, os componentes principais com autovalores maiores que 1,0 foram adotados para explicar a projeção das amostras no bi-plot, e a análise bidimensional foi baseada em correlações lineares. Para o HCA, a métrica euclidiana e o método de Ward foram usados para avaliar semelhanças entre as amostras de mel. A homogeneidade das variâncias foi verificada usando o teste de Levene, enquanto as diferenças entre os grupos foram verificadas por ANOVA unidirecional e teste de Duncan. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado às variáveis com variâncias não homogêneas ($P < 0,05$). Estes testes foram realizados usando o *software Statistica 10* (StatSoft Inc., EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Propriedades melissopalínológicas e físico-químicas

Estudar o teor de pólen no mel permite a determinação da sua variedade botânica específica, permitindo também a sua autenticação no caso de serem vendidos como monoflorais a partir de uma porcentagem de floração específica de pólen. A Tabela 8, Figura 5 mostram a porcentagem das classes de grãos de pólen mais predominantes identificadas nas trinta e duas amostras brasileiras de mel de abelha sem ferrão (MASF). Nove diferentes famílias de grãos de pólen foram encontradas e quantificadas (fig. 2). Algumas famílias de pólen, como Lamiaceae, Asteraceae e Rhamnaceae, foram responsáveis por mais de 75, 77 e 81% do pólen principal no MASF. De acordo com as espécies de abelhas sem ferrão, foi possível identificar uma alta frequência de pólen de algumas famílias de plantas, que mostrou similaridade no tipo de flora visitada, revelando uma possível preferência de algumas espécies florais por cada tipo de abelha.

As Asteraceae, Sapindaceae, Myrtaceae e Verbenaceae foram as famílias mais frequentes identificadas nas amostras de MASF (Tabela 8). Estudos prévios que compreenderam a análise melissopalínológica do mel *Melipona subnitida* do Nordeste do Brasil indicaram a presença de 19 tipos polínicos de nove famílias (SILVA et al., 2013), enquanto o MASF do Equador Oriental apresentou diferentes tipos de pólen pertencentes a 14 famílias botânicas (GUERRINI et al., 2009). O pólen da família Asteraceae foi encontrado em todos os méis de *Scaptotrigona*,

enquanto os pólenes das famílias Meliaceae e Euphorbiaceae foram mais encontrados no MASF da espécie *Melipona*.

Normalmente, o mel é classificado como mel de floral ou mel de melato de acordo com suas propriedades físico-químicas (PITA-CALVO; VAZQUEZ, 2017). Nesse contexto, todo o MASF apresentou teor de cinzas variando de 0,01 a 0,42%, inferior a 0,60%, o que é recomendado para o mel floral (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). O baixo teor de cinzas é uma característica do mel de cor clara (KHALAFI et al., 2015). A avaliação da cor por Pfund mostrou que 28,1% das amostras poderiam ser classificadas como branco-água, 15,6% extra branco, 15,6% branco, 12,5% âmbar claro, 12,5% âmbar, 9,4% âmbar extra claro e 6,3% âmbar escuro. Todas as amostras de MASF registraram medições de condutividade elétrica abaixo de 0,8 mS/cm (variando de 0,15 a 0,66), confirmando que essas amostras de mel eram de origem floral (FEÁS et al., 2010).

As amostras apresentaram um pH médio de $3,44 \pm 0,35$. Maiores valores de pH foram observados em MASF da espécie *Scaptotrigona bipunctata* (pH 4.81) e menores valores na espécie *M. quadrifasciata* (pH 2.97). Embora nenhum padrão de valores de pH seja atualmente recomendado para MASF no Brasil, esses valores estavam de acordo com os padrões brasileiros para o mel de *Apis mellifera*, que estabelece um intervalo de 3,3 a 4,6 (BRASIL, 1985).

FIGURA 5. MORFOLOGIA DO PÓLEN NO MEL DE PLANTAS DOMINANTES (40×). ASTERACEAE: 1-4, EUPHORBIACEAE: 5-8, FABACEAE: 9-15, LAMINACEAE: 16-20, MYRTACEAE: 21-24, RUBIACEAE: 25-28, SAPINDACEAE: 29-33, VERBENACEAE: 34-35.

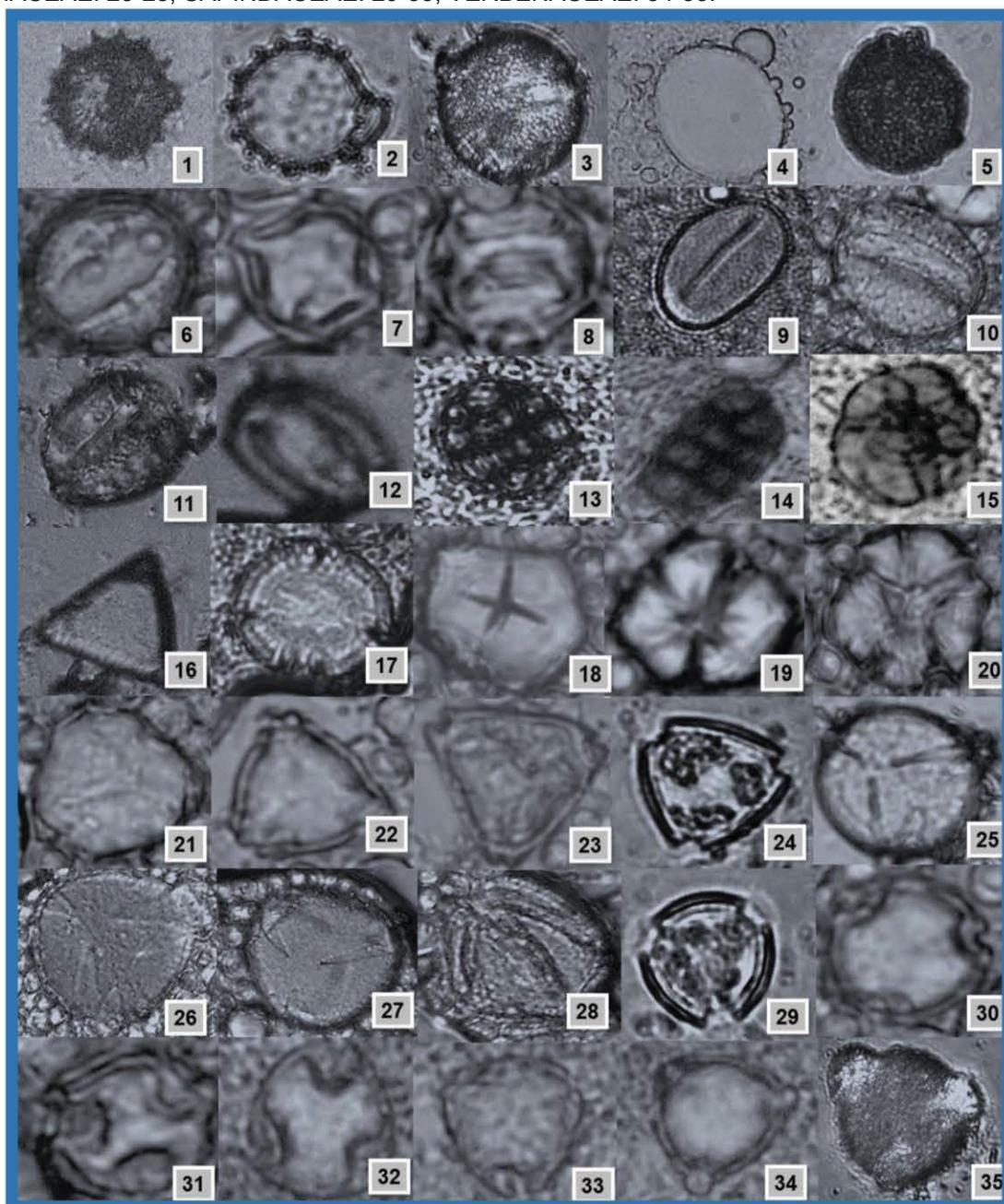


TABELA 8. CONTEÚDO RELATIVO DE DIFERENTES TIPOS DE PÓLEN PRESENTES EM AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO^a.

Amostras	Pólen predominante	%	Pólen secundário	%	Pólen menor importância	%	
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	Laminaceae	68	Rubiaceae	18	Fabaceae	11
	MB2	Verbenaceae	60	Myrtaceae	19	Asteraceae	9
	MB3	Sapindaceae	51	Myrtaceae	33	Asteraceae	10
	MB4	Sapindaceae	59	Verbenaceae	19	Euphorbiaceae	15
	MB5	Laminaceae	53	Myrtaceae	22	Fabaceae	14
	MB6	Sapindaceae	45	Verbenaceae	19	Myrtaceae	15
	MB7	Laminaceae	47	Euphorbiaceae	25	Rubiaceae	13
	MB8	Asteraceae	48	Myrtaceae	38	Sapindaceae	9
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ1	Euphorbiaceae	46	Myrtaceae	27	Verbenaceae	10
	MQ2	Laminaceae	81	Verbenaceae	17	Asteraceae	3
	MQ3	Laminaceae	75	Sapindaceae	18	Myrtaceae	5
	MQ4	Asteraceae	51	Euphorbiaceae	19	Sapindaceae	12
	MQ5	Asteraceae	46	Laminaceae	20	Verbenaceae	6
	MQ6	Laminaceae	60	Asteraceae	35	Sapindaceae	3
	MQ7	Laminaceae	54	Asteraceae	28	Sapindaceae	8
	MQ8	Asteraceae	48	Myrtaceae	26	Euphorbiaceae	10
<i>Melipona marginata</i>	MM1	Verbenaceae	51	Sapindaceae	32	Euphorbiaceae	9
	MM2	Verbenaceae	53	Myrtaceae	21	Sapindaceae	15
	MM3	Verbenaceae	60	Euphorbiaceae	16	Sapindaceae	10
	MM4	Verbenaceae	64	Rubiaceae	17	Euphorbiaceae	13
	MM5	Verbenaceae	48	Meliaceae	21	Euphorbiaceae	7
	MM6	Verbenaceae	47	Sapindaceae	23	Euphorbiaceae	14
	MM7	Asteraceae	45	Sapindaceae	24	Verbenaceae	7
	MM8	Asteraceae	60	Myrtaceae	25	Verbenaceae	8
<i>Scaptotrigona bipuncata</i>	SB1	Laminaceae	58	Asteraceae	28	Sapindaceae	10
	SB2	Fabaceae	46	Laminaceae	31	Asteraceae	14
	SB3	Verbenaceae	49	Asteraceae	21	Fabaceae	17
	SB4	Asteraceae	77	Verbenaceae	24	Euphorbiaceae	4
	SB5	Asteraceae	47	Fabaceae	23	Verbenaceae	13
	SB6	Asteraceae	71	Laminaceae	17	Fabaceae	9
	SB7	Asteraceae	69	Rubiaceae	23	Myrtaceae	8
	SB8	Asteraceae	52	Fabaceae	24	Myrtaceae	15

^a Pólen predominante (>45%); pólen secundário (15-45%); pólen menor importância (3-15%).

3.2. Compostos Fenólicos Totais

É amplamente relatado que MASF é uma fonte rica de compostos bioativos, como os fenólicos, que também desempenham um papel crucial em suas propriedades antioxidantes. A Tabela 10 apresenta o nível de conteúdo fenólico total (CFT) e a capacidade antioxidante no MASF. O CFT medido nos trinta e dois MASF brasileiros variou de 220,4 a 708,1 mg de equivalente de ácido gálico (GAE)/kg. Nossos resultados confirmaram que o MASF fornece grandes quantidades de CFT, que podem variar de acordo com uma ampla gama de fatores, como o tipo de abelha sem ferrão, os aspectos ambientais, a disponibilidade de flores próximas ao meliponário e devido às propriedades climáticas. Vários relatos corroboram que o MASF apresentam uma variância significativa em seu conteúdo fenólico devido a vários motivos, como os acima mencionados, com valores variando de 103 a 980 mg GAE/kg (SILVA et al., 2013; BILUCA et al., 2016; JIMENEZ et al., 2016; NWEZE et al., 2017; ÁVILA et al., 2018), concordando com os resultados encontrados nesta pesquisa. Em alguns casos, os níveis de CFT no MASF observados no presente trabalho foram superiores aos relatados para o mel de *Apis mellifera* (0,56 a 476 mg EAG/kg) (BERTONCELJ et al., 2007; SANT'ANA et al., 2014; KHALAFI et al., 2015; KUŠ et al., 2017; NWEZE et al., 2017; GIORDANO et al., 2018; SOUZA et al., 2018), mas menor do que em outros relatos (1320 a 1810 mg EAG/kg) (ESCUREDO; MÍGUEZ; et al., 2013; HABIB et al., 2014), provando que as abelhas sem ferrão podem concentrar com sucesso esses compostos.

Quantificação de compostos bioativos por HPLC e atividade antioxidante forneceu um perfil único e distinto de compostos fenólicos em cada amostra de mel. A presença de vários flavonóides no mel (por exemplo, flavonóis como derivados de quercetina, kaempferol e isoramnetina) é bem documentada por Gheldof e Engeseth (2002) e parece ser dependente da fonte floral do mel. No que diz respeito aos seus ácidos fenólicos e flavonóides, o ácido p-cumárico, a quercetina e a hesperetina demonstram efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-carcinogênicos, antitumorais e antimicrobianos (SHRIVASTAVA et al., 2018). Como mostrado na Tabela 10, ácido p-cumárico, quercetina e hesperetina foram identificados em todas as trinta e duas amostras de mel avaliadas, enquanto o ácido elágico foi identificado em apenas 50% delas. Os perfis de HPLC do MASF do Brasil são apresentados na

Figura 6. Os tempos de retenção de ácido p-cumárico, ácido elágico, quercetina e hesperitina foram 11,18, 18,07, 20,33 e 21,15 min, respectivamente (Tabela 9).

Comparando os perfis cromatográficos e o conteúdo fenólico total identificado para MASF de origem floral distintas, diferenças podem ser observadas na distribuição dos picos cromatográficos. No entanto, a quercetina foi o composto fenólico mais abundante encontrado em 88% das amostras, o que corrobora com os resultados dos méis *Melipona subnitida* e *A. mellifera* (OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2013). Zhao et al. (2016) sugeriram que tanto as áreas de pico comuns quanto os perfis de ácido fenólico poderiam servir ao propósito de discriminar os tipos distintos de mel. A soma dos compostos fenólicos totais determinados por HPLC para Asteraceae variou de 0,66 a 3,58 µg/g, Laminaceae de 1,38 a 4,63 µg/g, Sapindaceae de 1,28 a 1,90 µg/g e Verbenaceae de 1,97 a 5,83 µg/g (Tabela 10). As variações também foram verificadas nos méis originários das diferentes espécies de abelhas, que provavelmente resultam da preferência floral de cada espécie.

Com base nos métodos disponíveis para a medição da capacidade antioxidante e de acordo com Prior (2005), o ORAC é o ensaio biologicamente mais relevante e pode refletir a ação *in vivo* enquanto o radical ABTS representa uma fonte radical “não fisiológica” que pode ser usada em uma ampla faixa de pH e em múltiplos meios para determinar as capacidades antioxidantes hidrofílicas e lipofílicas dos extratos. No entanto, Sanchez-Moreno (2002) sugeriu que o DPPH é um método fácil e preciso para medir o antioxidante. Os antioxidantes podem responder de uma maneira diferente a diferentes fontes de radicais ou oxidantes e nenhum ensaio único refletirá com precisão todas as fontes radicais ou todos os antioxidantes em um sistema misto ou complexo. Além disso, Sancho et al. (2016) evidenciaram que os valores de mel *in natura* foram superiores aos extratos de mel, utilizando o ensaio espectrofotométrico de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante equivalente a Trolox. Portanto, nossos resultados avaliaram exaustivamente as amostras de mel com um grande número de ensaios antioxidantes (DPPH, ABTS, ORAC e Folin-Ciocalteu) e estes ensaios foram realizados usando extratos dos méis, evitando a interferência de açúcares que podem superestimar os resultados, como no caso do mel *in natura* (HUANG et al., 2005).

Os fenólicos são bem conhecidos como uma classe de compostos bioativos que apresentam fortes efeitos antioxidantes *in vitro* e *in vivo* (GRANATO et al.,

2016). A esse respeito, o TPC na MASF brasileira foi positivamente correlacionado com as capacidades antioxidantes ABTS ($r = 0,77$), DPPH ($r = 0,88$) e ORAC ($r = 0,76$), que variaram de 1,61 a 23,73; 9,71 a 39,10 e 35,49 a 94,35 $\mu\text{mol TE/kg}$ para os ensaios ABTS, DDPH e ORAC, respectivamente. Esses achados foram comparáveis aos valores encontrados para outros MASF Sul-brasileiros (BILUCA et al., 2017) e mexicanos (JIMENEZ et al., 2016)(Jimenez et al., 2016). Assim como os resultados para TPC, as amostras deste estudo apresentaram maior atividade antioxidante do que o mel produzido por *Apis mellifera* que apresentou valores entre 1,18 e 6,69 $\mu\text{mol TE/kg}$ para ABTS, 0,13 a 5,42 $\mu\text{mol TE/kg}$ para o método DPPH e 21,50 para 77,40 $\mu\text{mol TE/kg}$ para ensaios ORAC (JIMENEZ et al., 2016; BILUCA et al., 2017).

Além dos fatores citados, o processo pelo qual o MASF é formado, dentro dos potes de cerume podem também explicar suas propriedades bioativas. Cerume é um produto da resina vegetal que as abelhas sem ferrão coletam. Elas combinam com secreções salivares das glândulas de seus abdomens e com cera, a fim de construir e selar suas colméias (SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010). Portanto, a composição fitoquímica do mel pode ser influenciada pela presença dos fitoquímicos presentes no cerume (ABD JALIL et al., 2017).

FIGURA 6. CROMATOGRAMA REPRESENTATIVO DO HPLC DA ANÁLISE DO PERFIL FENÓLICO DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO. CROMATOGRAMAS MONITORADOS A 280 NM. OS COMPOSTOS IDENTIFICADOS FORMA: (1) ÁCIDO *p*-CUMÁRICO; (2) ÁCIDO ELÁGICO; (3) QUERCETINA E (4) HESPERITINA.

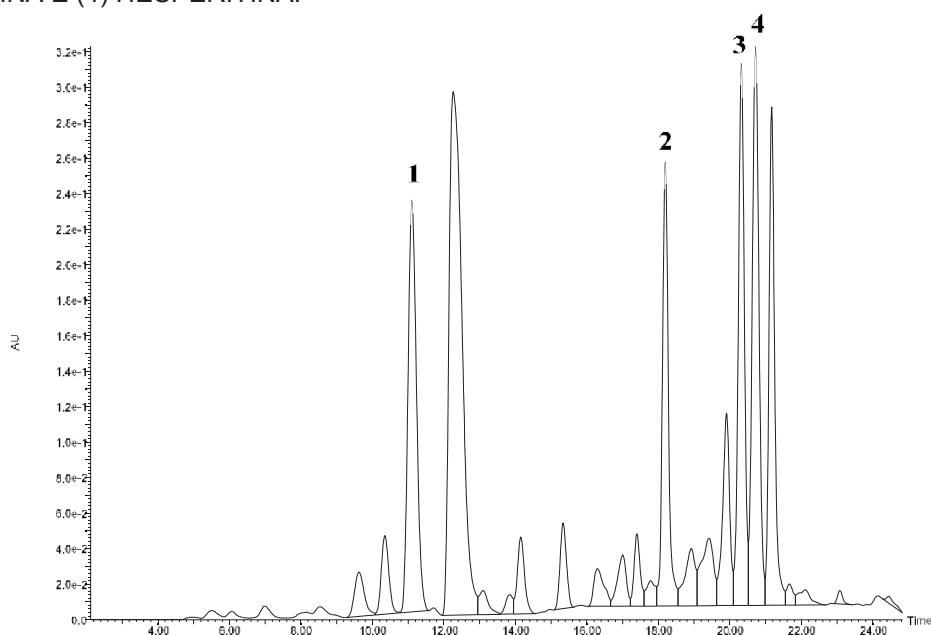


TABELA 9. PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO HPLC-DAD-Q-TOF-MS.

Compostos Fenólicos	UV (nm)	Tempo de Retenção (min)	[M-H] ⁻	MS/MS (m/z)	Equação de Regressão	R ²	LOD (µg)	LOQ (µg)
Ácido <i>p</i> -cumárico	224.68, 308.68	11.13	163	119, 97	$y = 1508.9x - 391.54$	0.9999	0.07	0.23
Ácido Elágico	252.68, 364.68	17.98	301	264, 255, 197	$y = 190.66x - 961.5$	0.9873	0.56	1.85
Quercetina	254.68, 367.68	20.25	301	275	$y = 393.02x + 102.67$	0.9971	0.28	0.94
Hesperitina	211.68, 286.68	20.67	301	291, 269, 231	$y = 989.97x + 307.2$	0.9994	0.11	0.37

TABELA 10. CONTEÚDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AMOSTRAS DE MEL DE ABELHAS BRASILEIRAS.

Espécies de Abelhas	Amostras	Concentração dos Padrões (µg/g)								Fenólicos (CFT)				Atividade Antioxidante (µmolTE/ kg)			
		Ácido p-cumárico	Ácido Elálgico	Hesperitina	Quercertina	Fenólicos (mgGAE/kg)	ABTS ^a	DPPH ^b	ORAC ^c	Ácido p-cumárico	Ácido Elálgico	Hesperitina	Quercertina	Fenólicos (mgGAE/kg)	ABTS ^a	DPPH ^b	ORAC ^c
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	0,38 ± 0,01	nd	1,19 ± 0,14	3,06 ± 0,16	708,13 ± 5,23 ^b	23,73 ± 0,12 ^a	33,49 ± 0,42 ^d	74,15 ± 0,01 ^{de}	0,37 ± 0,01	nd	0,90 ± 0,04	2,54 ± 0,06	406,28 ± 19,70 ^{jl}	10,41 ± 0,28 ^{hj}	17,07 ± 0,15 ^m	73,13 ± 1,18 ^{de}
	MB2	0,37 ± 0,01	nd	0,90 ± 0,04	2,54 ± 0,06	406,28 ± 19,70 ^{jl}	10,41 ± 0,28 ^{hj}	17,07 ± 0,15 ^m	73,13 ± 1,18 ^{de}	0,23 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,01	1,02 ± 0,03	220,38 ± 6,01 ^{lm}	4,88 ± 0,10 ^q	11,04 ± 0,40 ^o	48,05 ± 1,61 ^{kl}
	MB3	0,23 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,01	1,02 ± 0,03	220,38 ± 6,01 ^{lm}	4,88 ± 0,10 ^q	11,04 ± 0,40 ^o	48,05 ± 1,61 ^{kl}	0,24 ± 0,01	nd	0,54 ± 0,12	1,12 ± 0,46	261,18 ± 37,45 ^m	1,61 ± 0,29 ^q	9,71 ± 0,27 ^q	48,54 ± 0,30 ^{kl}
	MB4	0,24 ± 0,01	nd	0,54 ± 0,12	1,12 ± 0,46	261,18 ± 37,45 ^m	1,61 ± 0,29 ^q	9,71 ± 0,27 ^q	48,54 ± 0,30 ^{kl}	0,24 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,45 ± 0,01	1,23 ± 0,01	340,45 ± 9,33 ^{gn}	13,27 ± 0,20 ^{km}	19,75 ± 0,52 ^{jk}	62,02 ± 1,12 ⁿ
	MB5	0,10 ± 0,01	nd	0,32 ± 0,01	0,86 ± 0,01	295,08 ± 45,38 ^m	3,78 ± 0,12 ^{op}	10,43 ± 0,19 ^{pp}	46,33 ± 0,15 ⁱ	0,10 ± 0,01	nd	0,59 ± 0,04	1,94 ± 0,09	408,09 ± 19,91 ^{hi}	12,10 ± 0,71 ^{hj}	18,06 ± 0,90 ^{kl}	60,38 ± 1,83 ^h
	MB6	0,26 ± 0,01	0,86 ± 0,19	0,59 ± 0,04	1,94 ± 0,09	408,09 ± 19,91 ^{hi}	12,10 ± 0,71 ^{hj}	18,06 ± 0,90 ^{kl}	60,38 ± 1,83 ^h	0,26 ± 0,01	0,86 ± 0,19	0,37 ± 0,13	1,07 ± 0,18	449,20 ± 13,92 ^g	21,61 ± 2,32 ^{gh}	20,01 ± 0,20 ^{ef}	76,11 ± 1,82 ^{cd}
	MB7	0,17 ± 0,01	0,58 ± 0,09	0,84 ± 0,05	1,60 ± 0,12	377,34 ± 45,47 ^{hi}	22,12 ± 2,83 ^k	18,05 ± 0,33 ^e	66,65 ± 4,44 ^g	0,17 ± 0,01	0,58 ± 0,09	0,84 ± 0,05	1,60 ± 0,12	377,34 ± 45,47 ^{hi}	22,12 ± 2,83 ^k	18,05 ± 0,33 ^e	66,65 ± 4,44 ^g
	MB8	0,09 ± 0,01	nd	0,38 ± 0,08	0,91 ± 0,11	306,20 ± 17,60 ^k	10,85 ± 0,76 ^{mno}	14,77 ± 0,52 ^{lm}	53,96 ± 0,65 ^{ij}	0,09 ± 0,01	nd	0,38 ± 0,08	0,91 ± 0,11	306,20 ± 17,60 ^k	10,85 ± 0,76 ^{mno}	14,77 ± 0,52 ^{lm}	53,96 ± 0,65 ^{ij}
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ3	0,12 ± 0,01	0,25 ± 0,03	0,54 ± 0,02	1,12 ± 0,02	353,75 ± 38,50 ^{hi}	11,94 ± 0,38 ^{kl}	18,23 ± 0,36 ^{kl}	56,94 ± 1,25 ⁱ	0,12 ± 0,01	0,25 ± 0,03	0,54 ± 0,02	1,12 ± 0,02	353,75 ± 38,50 ^{hi}	11,94 ± 0,38 ^{kl}	18,23 ± 0,36 ^{kl}	56,94 ± 1,25 ⁱ
	MQ4	0,08 ± 0,01	nd	0,25 ± 0,01	0,44 ± 0,01	414,08 ± 6,37 ⁱ	13,67 ± 0,54 ^{hj}	21,36 ± 1,12 ^l	82,87 ± 0,93 ^b	0,08 ± 0,01	nd	0,25 ± 0,01	0,44 ± 0,01	414,08 ± 6,37 ⁱ	13,67 ± 0,54 ^{hj}	21,36 ± 1,12 ^l	82,87 ± 0,93 ^b
	MQ5	0,04 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,57 ± 0,01	253,75 ± 3,41 ⁱ	7,34 ± 0,47 ^{pq}	12,47 ± 0,53 ⁿ	50,84 ± 1,87 ^{jk}	0,04 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,57 ± 0,01	253,75 ± 3,41 ⁱ	7,34 ± 0,47 ^{pq}	12,47 ± 0,53 ⁿ	50,84 ± 1,87 ^{jk}
	MQ6	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01	1,07 ± 0,03	321,87 ± 23,09 ^k	10,03 ± 0,35 ^{mm}	15,77 ± 0,59 ^m	47,49 ± 0,25 ^{kl}	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01	1,07 ± 0,03	321,87 ± 23,09 ^k	10,03 ± 0,35 ^{mm}	15,77 ± 0,59 ^m	47,49 ± 0,25 ^{kl}
	MQ7	0,10 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,80 ± 0,02	324,79 ± 34,01 ^{jk}	10,01 ± 0,96 ^{mm}	16,05 ± 0,77 ^m	55,52 ± 1,03 ⁱ	0,10 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,80 ± 0,02	324,79 ± 34,01 ^{jk}	10,01 ± 0,96 ^{mm}	16,05 ± 0,77 ^m	55,52 ± 1,03 ⁱ
	MQ8	0,06 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,61 ± 0,01	398,54 ± 13,49 ^{de}	13,87 ± 2,01 ^l	24,31 ± 0,51 ⁱ	68,19 ± 3,20 ^{fg}	0,06 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,61 ± 0,01	398,54 ± 13,49 ^{de}	13,87 ± 2,01 ^l	24,31 ± 0,51 ⁱ	68,19 ± 3,20 ^{fg}
	MM1	0,04 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,01	1,51 ± 0,11	314,41 ± 21,93 ^g	13,83 ± 0,79 ^{mmo}	20,12 ± 0,29 ⁱ	49,29 ± 1,11 ^{kl}	0,04 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,01	1,51 ± 0,11	314,41 ± 21,93 ^g	13,83 ± 0,79 ^{mmo}	20,12 ± 0,29 ⁱ	49,29 ± 1,11 ^{kl}
	MM2	0,17 ± 0,01	nd	1,39 ± 0,24	2,36 ± 0,15	416,91 ± 18,71 ^g	2,63 ± 0,30 ^{hi}	20,09 ± 0,26 ^{pq}	69,72 ± 0,79 ^g	0,17 ± 0,01	nd	1,39 ± 0,24	2,36 ± 0,15	416,91 ± 18,71 ^g	2,63 ± 0,30 ^{hi}	20,09 ± 0,26 ^{pq}	69,72 ± 0,79 ^g
<i>Melipona marginata</i>	MM3	0,20 ± 0,01	nd	0,87 ± 0,01	3,03 ± 0,52	424,67 ± 4,44 ^{hi}	11,12 ± 0,43 ^{hi}	18,12 ± 0,13 ^m	73,73 ± 1,10 ^{de}	0,20 ± 0,01	nd	0,87 ± 0,01	3,03 ± 0,52	424,67 ± 4,44 ^{hi}	11,12 ± 0,43 ^{hi}	18,12 ± 0,13 ^m	73,73 ± 1,10 ^{de}
	MM4	0,24 ± 0,01	0,51 ± 0,06	1,09 ± 0,11	3,10 ± 0,19	585,34 ± 25,18 ^f	19,91 ± 0,37 ^c	21,20 ± 0,36 ^g	73,22 ± 0,98 ^{de}	0,24 ± 0,01	0,51 ± 0,06	1,09 ± 0,11	3,10 ± 0,19	585,34 ± 25,18 ^f	19,91 ± 0,37 ^c	21,20 ± 0,36 ^g	73,22 ± 0,98 ^{de}
	MM5	0,28 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,90 ± 0,13	2,12 ± 0,22	356,13 ± 19,12 ^{hi}	14,19 ± 0,11 ^{kl}	18,32 ± 3,80 ⁱ	56,61 ± 2,18 ⁱ	0,28 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,90 ± 0,13	2,12 ± 0,22	356,13 ± 19,12 ^{hi}	14,19 ± 0,11 ^{kl}	18,32 ± 3,80 ⁱ	56,61 ± 2,18 ⁱ
	MM6	0,22 ± 0,01	nd	0,53 ± 0,04	1,48 ± 0,10	524,25 ± 25,29 ^e	16,77 ± 0,53 ^{de}	22,98 ± 0,32 ^h	71,03 ± 0,59 ^{ef}	0,22 ± 0,01	nd	0,53 ± 0,04	1,48 ± 0,10	524,25 ± 25,29 ^e	16,77 ± 0,53 ^{de}	22,98 ± 0,32 ^h	71,03 ± 0,59 ^{ef}
	MM7	0,09 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,07	1,58 ± 0,19	500,63 ± 27,72 ^c	31,32 ± 1,40 ^{ef}	26,95 ± 0,09 ^b	94,35 ± 2,24 ^a	0,09 ± 0,01	nd	0,42 ± 0,07	1,58 ± 0,19	500,63 ± 27,72 ^c	31,32 ± 1,40 ^{ef}	26,95 ± 0,09 ^b	94,35 ± 2,24 ^a
	MM8	0,14 ± 0,02	nd	0,16 ± 0,06	0,36 ± 0,16	548,01 ± 24,96 ^d	32,31 ± 1,66 ^{cd}	25,43 ± 0,41 ^b	85,48 ± 2,55 ^b	0,14 ± 0,02	nd	0,16 ± 0,06	0,36 ± 0,16	548,01 ± 24,96 ^d	32,31 ± 1,66 ^{cd}	25,43 ± 0,41 ^b	85,48 ± 2,55 ^b
	SB1	0,09 ± 0,01	0,68 ± 0,14	0,22 ± 0,03	0,67 ± 0,07	473,57 ± 35,42 ^{hi}	14,80 ± 0,12 ^g	18,07 ± 1,18 ⁱ	62,28 ± 1,56 ^h	0,09 ± 0,01	0,68 ± 0,14	0,22 ± 0,03	0,67 ± 0,07	473,57 ± 35,42 ^{hi}	14,80 ± 0,12 ^g	18,07 ± 1,18 ⁱ	62,28 ± 1,56 ^h
	SB2	0,08 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,62 ± 0,01	559,63 ± 41,48 ^d	20,16 ± 0,26 ^{cd}	24,8 ± 0,44 ^g	62,36 ± 0,61 ^h	0,08 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,62 ± 0,01	559,63 ± 41,48 ^d	20,16 ± 0,26 ^{cd}	24,8 ± 0,44 ^g	62,36 ± 0,61 ^h
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	SB3	0,12 ± 0,01	0,83 ± 0,01	0,53 ± 0,25	4,35 ± 0,50	561,93 ± 21,61 ^d	18,9 ± 0,49 ^{cd}	25,07 ± 0,85 ^b	84,03 ± 4,06 ^b	0,12 ± 0,01	0,83 ± 0,01	0,53 ± 0,25	4,35 ± 0,50	561,93 ± 21,61 ^d	18,9 ± 0,49 ^{cd}	25,07 ± 0,85 ^b	84,03 ± 4,06 ^b
	SB4	0,11 ± 0,01	2,56 ± 0,33	0,19 ± 0,12	0,72 ± 0,26	661,14 ± 9,02 ^a	34,73 ± 0,63 ^b	39,10 ± 0,83 ^a	78,78 ± 1,23 ^c	0,11 ± 0,01	2,56 ± 0,33	0,19 ± 0,12	0,72 ± 0,26	661,14 ± 9,02 ^a	34,73 ± 0,63 ^b	39,10 ± 0,83 ^a	78,78 ± 1,23 ^c
	SB5	0,11 ± 0,01	nd	0,27 ± 0,01	1,28 ± 0,04	471,71 ± 6,01 ⁱ	25,26 ± 1,27 ^g	21,20 ± 0,31 ^d	75,56 ± 3,52 ^{cd}	0,11 ± 0,01	nd	0,27 ± 0,01	1,28 ± 0,04	471,71 ± 6,01 ⁱ	25,26 ± 1,27 ^g	21,20 ± 0,31 ^d	75,56 ± 3,52 ^{cd}
	SB6	0,07 ± 0,01	0,88 ± 0,11	0,10 ± 0,06	0,38 ± 0,18	277,34 ± 32,70 ^k	11,35 ± 0,47 ^{op}	14,61 ± 2,15 ^m	35,49 ± 3,33 ^m	0,07 ± 0,01	0,88 ± 0,11	0,10 ± 0,06	0,38 ± 0,18	277,34 ± 32,70 ^k	11,35 ± 0,47 ^{op}	14,61 ± 2,15 ^m	35,49 ± 3,33 ^m
	SB7	0,07 ± 0,01	1,25 ± 0,15	0,19 ± 0,03	0,76 ± 0,01	379,27 ± 6,67 ^{gh}	13,99 ± 0,56 ^k	19,16 ± 0,44 ⁱ	55,78 ± 0,28 ⁱ	0,07 ± 0,01	1,25 ± 0,15	0,19 ± 0,03	0,76 ± 0,01	379,27 ± 6,67 ^{gh}	13,99 ± 0,56 ^k	19,16 ± 0,44 ⁱ	55,78 ± 0,28 ⁱ
	SB8	0,11 ± 0,01	nd	0,18 ± 0,14	0,94 ± 0,22	489,81 ± 13,0 ^{fg}	27,96 ± 0,30 ^{ef}	20,37 ± 0,21 ^c	76,01 ± 1,46 ^{cd}	0,11 ± 0,01	nd	0,18 ± 0,14	0,94 ± 0,22	489,81 ± 13,0 ^{fg}	27,96 ± 0,30 ^{ef}	20,37 ± 0,21 ^c	76,01 ± 1,46 ^{cd}
	P (ANOVA) ^d					<0,001	<0,0001	<0,0001	<0,0001								

^aABTS: atividade radicalar do ído 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolono-6-sulfato; ^bDPPH: capacidade de eliminação de radicais livres de 2,2-difenil-1-picridrazol; ^cORAC: capacidade de absorção de radicais de oxigênio; ^dValor obtido por análise de variância de fator único (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan (p <0,05). nd, não detectado.

3.4. Propriedades antimicrobianas

Os efeitos antimicrobianos do mel de abelhas sem ferrão brasileiro em diferentes concentrações contra seis bactérias e um fungo são mostrados na Tabela 11. O crescimento desses sete microrganismos foi inibido por todas as amostras de mel. Observou-se um resultado mais eficaz contra bactérias Gram-negativas em comparação com as bactérias Gram-positivas. A atividade antimicrobiana do MASF foi mais do que duas vezes maior que a do mel de *Apis mellifera*, como relatado para *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *B. cereus* (TENORE et al., 2012; EWNETU et al., 2013; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018) e para *Candida albicans* (TENORE et al., 2012; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018). Embora a atividade antimicrobiana do mel esteja associada a suas propriedades osmóticas e ao conteúdo de peróxido de hidrogênio (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010), nossos resultados mostraram que ele também pode estar correlacionado ao conteúdo de polifenóis (DAGLIA, 2012) e ao pH baixo (caráter ácido).

Com relação às origens botânicas das amostras, nossos resultados concordam com os obtidos por Osés et al. (2016) que após estudar a atividade antimicrobiana entre os cinco grupos de origem botânica por diluição em ágar e métodos de diluição em caldo, destacaram o fato de que a atividade antibacteriana não se correlacionou com a fonte floral. Além disso, a diluição do caldo provou ser mais informativa e rápida e forneceu concentrações antimicrobianas e bactericidas mínimas.

O mecanismo envolvido na atividade antibacteriana é altamente complexo devido ao envolvimento de múltiplos compostos e à variação significativa nas concentrações desses compostos entre diferentes tipos de mel (KWAKMAN; ZAAT, 2012). Kwakman et al. (2010) concluíram que não é possível quantificar a contribuição de diferentes fatores em relação à atividade bactericida do mel, pois esses fatores podem ter atividade redundante, serem mutuamente dependentes ou ter atividade aditiva ou sinérgica dependendo da espécie bacteriana alvo.

Os locais onde as abelhas sem ferrão armazenam seu mel são compostos principalmente de cera, compostos antimicrobianos cuticulares e própolis, que compreendem uma ampla variedade de resinas vegetais (ODDO et al., 2008; ABD JALIL et al., 2017). Em contraste, as abelhas *Apis mellifera* utilizam favos de criação

feitos apenas de cera (ODDO et al., 2008) para armazenar seu mel. Consequentemente, o MASF tem uma exposição mais significativa à própolis, apresentando assim maiores possibilidades de saturação com compostos antimicrobianos derivados de plantas do que o mel de *A. mellifera* (EWNITU et al., 2013), o que pode explicar as razões do MASF apresentarem melhores propriedades biológicas em comparação com *A. mellifera*. No entanto, há relatos sobre valores de MIC para *Hypotrigena sp.* e *Melipona sp.* mostrando que estes mel possuem propriedades antimicrobianas contra *E. coli*, *Candida tropicalis*, *C. albicans* e *C. neoformans*, similares ao mel de *A. mellifera* e mel de *Hypotrigena sp.* também exibiu maior atividade que outras variedades de mel contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *S. entérica* (NWEZE et al., 2016).

TABELA 11. CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIM, %) DO MEL DE ABELHA SEM FERRÃO BRASILEIRO CONTRA BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS, E *CANDIDA ALBICANS*^a.

Espécies de Abelhas sem	Amostras	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	S.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B.</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Melipona bicolor</i>	MB1	1,3	0,6	0,3	40,0	40,0	0,6	0,3
	MB2	10,0	0,3	0,3	0,6	5,0	2,5	40,0
	MB3	10,0	0,3	0,6	2,5	2,5	2,5	40,0
	MB4	0,3	0,3	0,3	40,0	0,6	1,3	40,0
	MB5	2,5	0,3	0,3	1,3	0,3	0,3	0,3
	MB6	1,3	0,3	0,6	0,6	5,0	5,0	40,0
	MB7	5,0	0,6	0,3	40,0	1,3	0,6	0,3
	MB8	0,3	0,6	0,6	40,0	2,5	0,6	40,0
<i>Melipona quadrifasciata</i>	MQ1	0,3	0,3	0,6	40,0	0,6	1,3	40,0
	MQ2	2,5	0,3	0,6	0,6	1,3	0,6	40,0
	MQ3	10,0	0,3	0,3	20,0	0,6	0,3	0,3
	MQ4	0,6	0,3	0,6	2,5	0,6	0,6	40,0
	MQ5	0,3	0,3	0,6	10,0	2,5	0,3	40,0
	MQ6	1,3	0,6	0,3	40,0	10,0	0,6	0,3
	MQ7	5,0	0,3	0,6	5,0	0,3	5,0	40,0
	MQ8	0,3	0,6	0,3	0,3	0,3	2,5	40,0
<i>Melipona marginata</i>	MM1	10,0	0,3	0,6	2,5	5,0	0,6	40,0
	MM2	0,6	0,3	0,6	0,6	1,3	1,3	40,0
	MM3	0,6	0,3	0,3	40,0	1,3	2,5	40,0
	MM4	1,3	2,5	0,3	10,0	1,3	0,6	1,3
	MM5	20,0	0,3	0,3	40,0	20,0	0,3	0,3
	MM6	1,3	0,3	0,6	1,3	0,6	5,0	40,0
	MM7	0,3	0,3	0,6	20,0	0,6	10,0	40,0
	MM8	0,3	1,3	0,6	40,0	1,3	0,6	40,0
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	SB1	1,3	0,3	0,6	0,6	1,3	0,6	40,0
	SB2	1,3	0,6	0,3	2,5	1,3	0,6	0,6
	SB3	0,3	0,3	0,3	2,5	0,3	0,3	0,3
	SB4	0,6	0,3	0,6	10,0	1,3	0,6	40,0
	SB5	0,6	0,3	0,6	2,5	0,3	0,6	40,0
	SB6	1,3	0,3	0,3	1,3	0,3	0,3	0,3
	SB7	1,3	0,3	0,3	2,5	0,6	0,3	0,3
	SB8	1,3	0,3	0,6	0,3	0,3	0,6	40,0

^aValores representam a média de duas determinações.

3.5. Análise multivariada

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada com o objetivo de avaliar os dados físico-químicos, CFT, capacidade antioxidante, hesperetina, quercetina e ácido *p*-cumárico do MASF para a discriminação de amostras de mel de acordo com sua origem floral. A avaliação quimiométrica mostra que PC1 explicou até 39% da variância total e PC2 explicou 32%. Assim, os dois primeiros PCs explicaram 71% da variabilidade nos dados (Figura 7). As amostras de mel foram separadas ao longo do PC1 pelas diferenças observadas na condutividade elétrica, cinzas, pH, CFT, ABTS, DPPH e ORAC, enquanto PC2 separou as amostras com base na hesperetina, quercetina, ácido *p*-cumárico e cor.

Esse achado foi amplamente associado à origem floral visitada pelas abelhas sem ferrão. O gráfico PCA mostrou que as amostras de mel foram divididas em três grupos separados, com base na sua aparência próxima na parcela. Os grupos 1 e 3 apresentaram maiores níveis de fenólicos totais, DPPH e ORAC. O grupo 1, com pólen predominante pertencente à família Verbenaceae, apresentou maiores teores de ácido *p*-cumárico, quercetina e hesperetina, e o grupo 3, os maiores valores de cinzas, condutividade elétrica, pH, cor e ABTS com pólen predominante da família Asteraceae. O grupo 2 apresentou os menores níveis de fenólicos totais, ABTS, DPPH e ORAC com pólen predominante da família Sapindaceae (Figura 7).

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) desenha conexões entre as amostras de mel, criando um dendrograma no qual amostras análogas são agrupadas, e a semelhança é uma função da distância entre as amostras. A análise revelou que 3 clusters foram propostos (Figura 8), o que sustentou os resultados encontrados pela PCA e as médias de cada variável resposta foram comparadas (Tabela 12). Os resultados indicaram que os aglomerados de mel Verbenaceae, Sapindaceae e Lamiaceae estavam próximos em distâncias euclidianas, enquanto os aglomerados Asteraceae e Fabaceae estavam distantes dos demais. O cluster 1 foi formado pelas amostras com pólen predominante pertencente à família Verbenaceae (Figura 8a) e apresentou os menores teores de análise físico-química. De acordo com os parâmetros analisados, o Agrupamento 2, com pólen predominante das famílias Sapindaceae e Lamiaceae, foi caracterizado pelos menores valores para os ensaios antioxidantes e para o teor de fenólicos totais. O grupo 3 foi formado majoritariamente pela família Asteraceae e apresentou os maiores teores de atividade antioxidante e os teores físico-químicos mais baixos,

porém, os menores fenólicos individuais (Figura 8b). Utilizando o HCA, foi possível sugerir a formação de grupos para discriminar as amostras com base na origem floral do pólen, propriedades físico-químicas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do MASF.

FIGURA 7. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO DOS ESCORES PC1 × PC2 DAS PRINCIPAIS FONTES DE VARIABILIDADE DE ORIGEM FLORAL ENTRE O MEL BRASILEIRO DAS ABELHAS SEM FERRÃO. (B) GRÁFICOS DE LOADINGS PLOT DE CONTEÚDO FÍSICO-QUÍMICO, FENÓLICO TOTAL, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E HESPERITINA, QUERCETINA E ÁCIDO *P*-CUMÁRICO UTILIZADOS NO PCA.

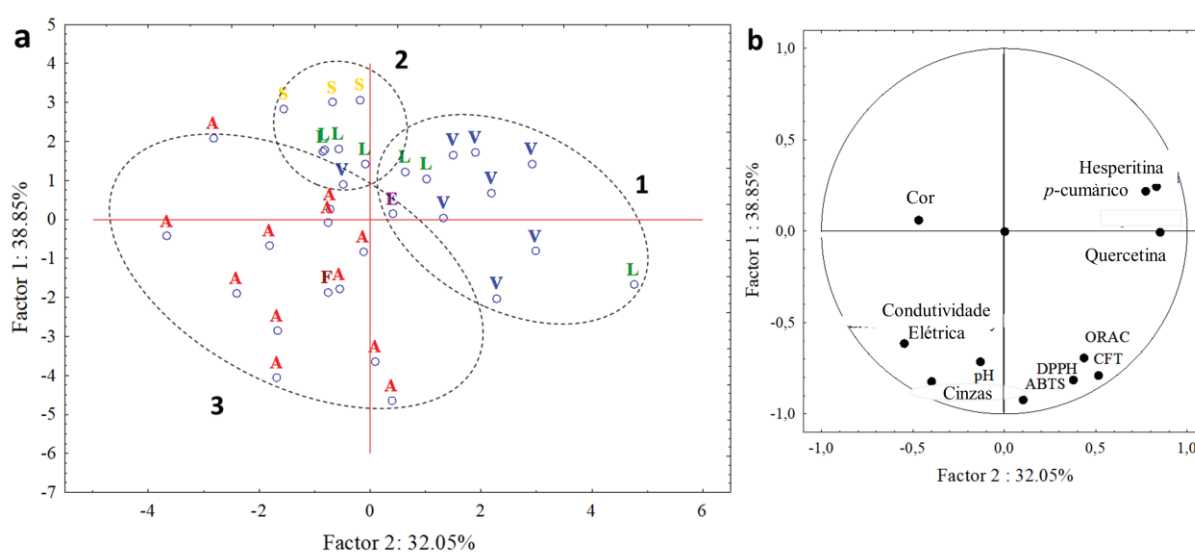


TABELA 12. DADOS AMOSTRAIS DE MEL DE ABELHA SEM FERRÃO AGRUPADOS POR CONTEÚDO FÍSICO-QUÍMICO, FENÓLICO TOTAL, HESPERIDINA, QUERCETINA, ÁCIDO *P*-CUMÁRICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

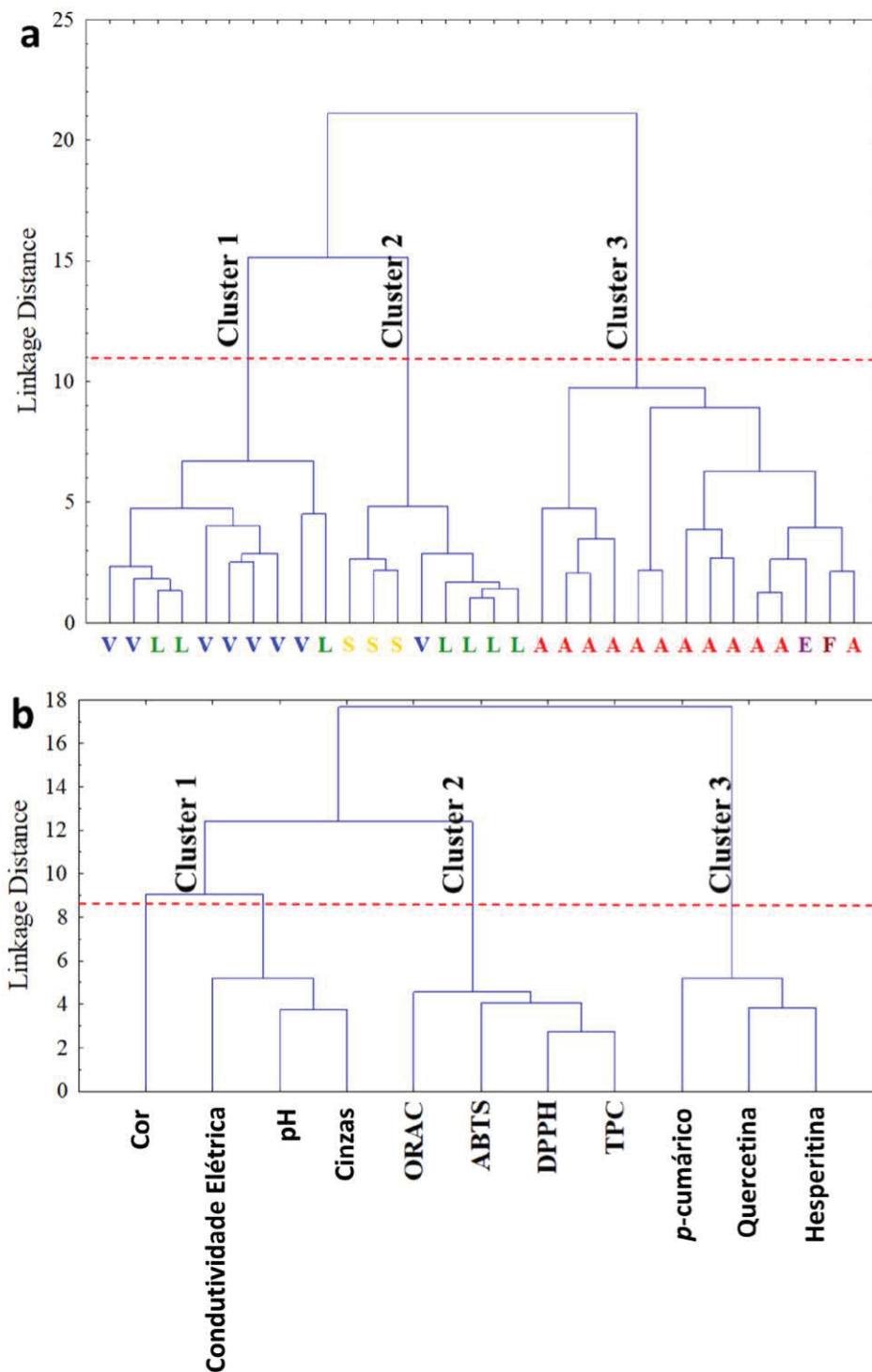
Variáveis	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	DPA	P value*	P
Cinzas (g/100g)	0,08 ^b	0,06 ^b	0,21 ^a	0,13	0,01	0,007
Condutividade Elétrica	278,65 ^b	279,13 ^b	452,9 ^a	131,7	<0,01	<0,0001
pH	3,37 ^{ab}	3,21 ^b	3,62 ^a	0,35	0,15	0,02
Cor (mm Pfund)	24,81 ^b	26,29 ^{ab}	58,37 ^a	40,03	0,30	0,04
Fenólicos Totais (mg GAE/kg)	4,73 ^a	3,00 ^b	4,47 ^a	1,20	0,17	0,002
Ácido <i>p</i> -coumarico (µg/g)	0,25 ^a	0,14 ^b	0,10 ^b	0,09	0,17	<0,0001
Quercetina (µg/g)	2,52 ^a	1,05 ^b	0,83 ^b	0,95	0,01	<0,0001
Hesperidina (µg/g)	0,84 ^a	0,39 ^b	0,27 ^b	0,33	0,05	<0,0001
ABTS (µmol TE/100 g)	14,30 ^b	8,37 ^b	20,75 ^a	8,46	0,07	0,001
DPPH (µmol TE/100 g)	21,41 ^a	14,52 ^b	21,85 ^a	6,12	0,69	0,01
ORAC (µmol TE/100 g)	69,80 ^a	50,76 ^b	69,34 ^a	13,77	0,02	0,001

Nota: Resultados expressos como média ± desvio padrão agrupado (DPA).

* Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Levene para homogeneidade de variâncias.

** Valores de probabilidade obtidos por ANOVA fator único ou teste de Kruskal-Wallis. Letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes (P <0,05).

FIGURA 8. DENDROGRAMA OBTIDO PELO MÉTODO DE WARD (A) E DISTÂNCIAS EUCLIDIANAS PARA O CONTEÚDO FÍSICO-QUÍMICO, FENÓLICO TOTAL, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, HESPERITINA, QUERCETINA E ÁCIDO *p*-CUMÁRICO NORMALIZADOS E SUA VARIEDADE BOTÂNICA ESPECÍFICA (B).



As fontes florais podem afetar essencialmente os padrões fenólicos, a distribuição do pólen e suas atividades antioxidantes e antimicrobianas (NAGAI et al., 2006). Geralmente, houve uma separação das amostras por origem floral; no entanto, algumas amostras se sobrepuseram. Embora o mel seja considerado

predominantemente pertencente a uma origem floral, também pode ser, em certa medida, considerado como misturas. Portanto, algumas das amostras brasileiras de MASF podem não ser totalmente consistentes com a origem floral definida pelo apicultor, o que pode explicar a sobreposição do agrupamento de escore de PCA. Essa tendência, portanto, sugere que a discriminação entre o MASF é possível e o PCA e HCA, podem ser ferramentas quimiométricas eficazes e rápidas, a fim de discriminar as diferenças entre as amostras, em função dos parâmetros utilizados.

4. CONCLUSÃO

Diferenças consideráveis nas propriedades biológicas, parâmetros físico-químicos e palinológicos do mel de diferentes espécies brasileiras de abelhas sem ferrão foram observadas. O uso de análise multivariada foi adequado para discriminar tipos de MASF de origem floral similar, como o caso de mel com predominância de pólen das famílias Verbenaceae, Asteraceae e Sapindaceae. A quimiometria mostra que as propriedades químicas e biológicas do MASF têm uma forte relação com a origem botânica do pólen. O MASF apresentou significativo teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana, apresentando valores superiores aos do mel de *Apis mellifera*, sendo encontrada correlação positiva entre os CFT e a atividade antioxidante. Mais estudos são necessários para avaliar outras variáveis que possam contribuir para a caracterização floral, bem como a aplicação da análise ao mel de outras origens botânicas.

CAPÍTULO 4

ABORDAGEM QUIMOMÉTRICA PARA O CONTROLE DE UMIDADE EM MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

AVILA, S.; HORNUNG, P. S.; TEIXEIRA, G. L.; B.; BEUX, M. R.; LAZZAROTTO, M.; RIBANI, R. H..

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente no Journal of Near Infrared Spectroscopy. Qualis - Capes B4. JCR 1.19, (2018).

(Anexo IV)

Abordagem quimométrica para o controle de umidade em mel de abelhas sem ferrão utilizando espectroscopia de infravermelho próximo

RESUMO

O mel é um produto frequentemente envolvido em fraudes pela adição de água. O mel de abelhas sem ferrão (MASF) naturalmente possui um teor de umidade mais alto do que o produzido pela tradicional abelha *Apis mellifera*. Na maioria dos países, faltam padrões e métodos de qualidade para caracterizar e assegurar a autenticidade do MASF, o que exige o desenvolvimento de métodos rápidos para avaliar suas principais propriedades, evitando fraudes. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método de determinação de umidade não-destrutivo para MASF baseado em refletância difusa próxima à espectroscopia de infravermelho (NIR) combinada com quimiometria. Trinta e duas amostras de mel de quatro espécies de abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata*, *M. marginata*, *M. bicolor* e *Scaptotrigona bipunctata*) foram utilizadas para o desenvolvimento de modelos de calibração por meio da análise de regressão de Partial Least Squares (PLS). Os resultados revelaram intensas bandas de absorção nas vibrações de C-H, O-H e C-O nos espectros de MASF. Um modelo de calibração foi usado para prever a umidade do mel em um grupo externo. A predição desenvolvida pelo NIR para umidade do mel apresentou boa correlação ($R^2 = 0,93$) com o método do índice de refração e um erro médio de 2,14%. As variáveis estatísticas ($R^2 = 0,947$, SEP = 1,005 e RPD = 4,332) revelaram que este modelo pode ser usado para prever a umidade do mel de abelhas sem ferrão e que o NIR é uma ferramenta confiável para ser aplicada para o controle de qualidade com rapidez, simplicidade e precisão.

Palavras-chaves: regressão por mínimos quadrados parciais (PLS); Meliponini; umidade; calibração multivariada; controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

O mel das abelhas sem ferrão (MASF) de diferentes partes do mundo tem sido extensivamente estudado nos últimos anos e os resultados mostram, principalmente, que este produto pode apresentar uma composição rica, porém variável (BILUCA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016a). Embora a produção de mel por abelhas sem ferrão seja menor (1-5 kg por ano) do que a abelha tradicional *Apis mellifera* (20 kg por ano) (CHUTTONG et al., 2016a; ZUCCATO et al., 2017), o valor agregado para a o primeiro é mais alto que o segundo, cujos preços podem chegar a R\$ 100/kg (SHADAN et al., 2018), que é mais que o dobro do preço do mel de *Apis mellifera* (R\$ 20-40/kg) (SE, KUAN WEU et al., 2018). Além disso, o mel de abelha sem ferrão difere do mel produzido pela *Apis* quanto à cor, sabor e viscosidade. Nas abelhas sem ferrão, o teor de água varia de 25 a 56 g/100 g, enquanto que a legislação estabelece que o mel *Apis* não deve conter mais de 20 g de umidade/100 g de mel (ÁVILA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016a; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018). Possui alto teor de umidade, bem como apresentam morfologia (ausência de picada), formas de construção de ninhos e coleta de néctar diferentes (SOUZA et al., 2006; BILUCA et al., 2016).

Devido ao baixo número de estudos, ainda há uma deficiência de padrões de identidade e qualidade em relação ao MASF brasileiro. Nesse sentido, há mais de uma década, o Brasil está tentando estabelecer padrões nacionais para este produto seguindo as diretrizes dos padrões internacionais da Comissão do Codex Alimentarius (SOUZA et al., 2006). No entanto, até o momento, ainda há falta de legislação de âmbito nacional com o objetivo de padronizar os parâmetros de qualidade de MASF.

Além dessas características, o mel é um alimento higroscópico do qual é capaz de alterar seu teor de umidade de acordo com a atmosfera circundante. Este fator influencia suas propriedades físicas (por exemplo, viscosidade, cristalização), assim como outros parâmetros como cor, palatabilidade, sabor, gravidade específica, solubilidade e preservação (GOMES et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2015; RIBEIRO et al., 2018). Consequentemente, a umidade afeta o valor comercial do mel (LENHARDT et al., 2014; THAMASOPINKUL et al., 2017). Nesse sentido, a determinação de umidade é uma análise necessária e de rotina aplicada para estabelecer a qualidade e a comercialização do mel (GALLINA et al., 2010).

Posteriormente, o controle de qualidade do mel de abelhas sem ferrão exige uma avaliação rápida e confiável logo após a coleta da colmeia.

Os métodos oficiais para determinação de umidade são a análise gravimétrica por secagem em estufa ou o índice de refração (IR) acoplado a uma avaliação da porcentagem de umidade usando uma fórmula empírica ou tabela de conversão relativa (BOGDANOV et al., 1997). No entanto, a secagem em estufa é considerada trabalhosa e demorada, enquanto o IR é o método mais utilizado pelos apicultores (WILLIAM HORWITZ et al., 2007) e apresenta duas dificuldades principais: o mel cristalizado requer um tratamento de pré-aquecimento para derreter a amostra anteriormente a análise e a fórmula empírica ou tabela de conversão relativa usada para avaliação do teor de umidade não é igualmente correta para todo tipo de mel (GALLINA et al., 2010), mas foi proposta como método oficial de legislação para o mel de *Apis mellifera* (WILLIAM HORWITZ et al., 2007).

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) é uma técnica rápida, de baixo custo, precisa e multianalítica baseada na absorção eletromagnética de compostos orgânicos na faixa de infravermelho de comprimento de onda (780 a 2500 nm) (JIANQIANG et al., 2018; LI et al., 2018). Essa técnica compreende análises qualitativas e quantitativas de amostras de múltiplos componentes por uma única medida. Além disso, é ecologicamente correto, porque não são necessários reagentes e nenhum resíduo perigoso é produzido (RIGONI et al., 2014). A técnica NIR tem sido aplicada em uma ampla gama de campos nas últimas décadas, e várias dessas aplicações são atualmente utilizadas para análises de rotina, mesmo em sistemas de monitoramento on-line (MA et al., 2014; TAHIR et al., 2016; THAMASOPINKUL et al., 2017).

É bem discutido na literatura que o teor de água do mel é o parâmetro mais importante para a avaliação da maturação e vida de prateleira. Nesse sentido, o mel com teor de umidade superior a 18g/100g pode ser prejudicado pela fermentação (BOGDANOV et al., 1997). Por essa razão, métodos confiáveis e mais rápidos para o controle de umidade são ferramentas importantes na avaliação de MASF. O método NIR aqui desenvolvido permite uma medição precisa desse parâmetro crítico para a determinação do melhor processo visando sua conservação e armazenamento, evitando a fermentação, a cristalização e controlando o aumento de sua atividade de água (KARABAGIAS; HALATSI; et al., 2017). Embora o MASF tenha sido amplamente estudado em relação aos parâmetros físico-químicos

durante os últimos doze anos, informações sobre o processamento de mel de abelhas sem ferrão na indústria brasileira ainda são escassas na literatura (NORDIN et al., 2018).

Nenhuma informação sobre a avaliação do teor de umidade do mel de abelhas sem ferrão usando técnicas espectroscópicas e calibração multivariada foi encontrada na literatura. Métodos de controle de qualidade, combinados com análises estatísticas multivariadas, foram capazes de discriminar o mel de diferentes regiões geográficas e origem floral, detectar adulteração e descrever características químicas (WOODCOCK et al., 2009; CHEN et al., 2012). As técnicas de NIR também têm sido utilizadas com sucesso no desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para a avaliação de propriedades como a umidade (ZHANG et al., 2000; LÜ et al., 2013; MAZUR et al., 2014; HADDADI et al., 2016; HENRIQUES et al., 2017; THAMASOPINKUL et al., 2017) lipídios (SHIROMA; RODRIGUEZ-SAONA, 2009; LÜ et al., 2013), açúcares (CHEN et al., 2007), proteínas (ZHANG et al., 2000) e com previsões feitas pelo método PLS (MALEGORI et al., 2017) para muitos produtos alimentícios. Segundo Evangelista-Rodrigues et al. (2005), o mel de abelhas africanizadas e sem ferrão diferem em termos de teor de umidade, mesmo quando são produzidas na mesma região. Diferentemente do gênero *Apis*, o mel das abelhas sem ferrão possui um caráter ácido (pH ácido e alta acidez), um nível ligeiramente inferior de carboidratos totais, cristalização lenta, textura mais fluida e alta higroscopicidade devido ao alto teor de umidade e alta atividade de água, exigindo maior nível de cuidado durante a colheita e armazenamento. Por estas razões, o mel de abelhas sem ferrão é diferente do produto tradicional da apicultura (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005; SOUZA et al., 2006; BILUCA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016a). Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método rápido e não destrutivo para a determinação da umidade do mel de abelhas sem ferrão em diferentes amostras de mel do sul do Brasil, utilizando o equipamento NIR de reflectância difusa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de Meis

A amostragem foi realizada conforme item 2.1 do capítulo 2. A fonte floral para todos os méis foi uma combinação de espécies de plantas cultivadas nativas e exóticas.

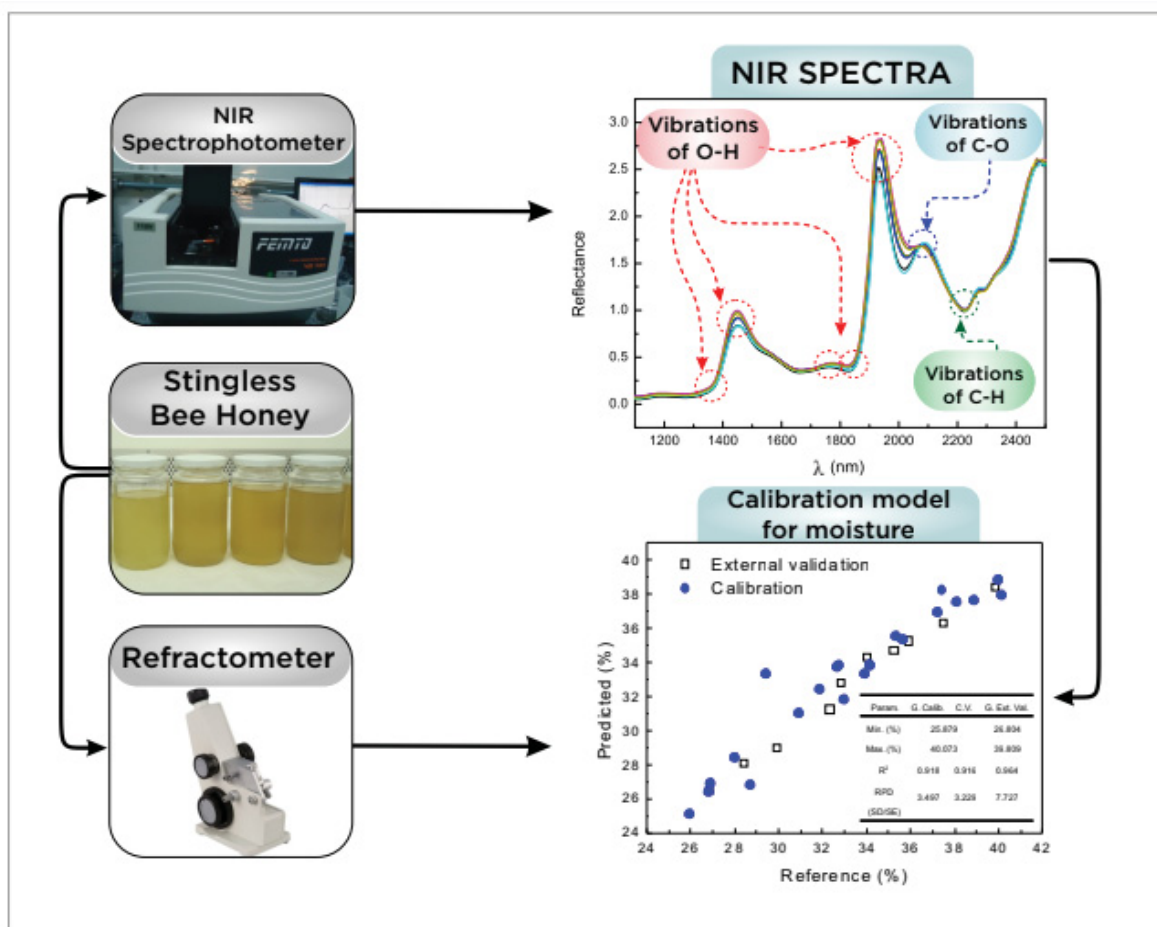
Análise de umidade

O teor de umidade das amostras de mel foi determinado medindo o índice de refração (IR) usando um refratômetro ABBE de bancada com precisão de temperatura de 0,1 °C e erro estimado menor que 0,0002, de acordo com os métodos internacionais de análise e método oficial da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (IHC, 1997; WILLIAM HORWITZ et al., 2007). O refratômetro foi ligado e calibrado com água ultrapura ($n^{20D} = 1,33$) quando a temperatura da célula alcançou a temperatura de 20 °C (GALLINA et al., 2010). Uma porção adaptada da amostra foi adicionada à célula de medição (cerca de 0,4 mL) para obter o IR. O IR medido foi então convertido em porcentagem de umidade usando uma Tabela de Chataway empírica, método oficial (MAPA) (BILUCA et al., 2016). A medição foi realizada em triplicata para cada amostra.

Espectroscopia de infravermelho próximo (NIR)

A análise NIR foi realizada em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) utilizando um sistema NIR (FEMTO, FemWin 900), medido em cubetas de vidro/quartzo. A janela de quartzo mede a refletância na zona de IR de 1100–2500 nm com uma velocidade de varredura de 1400 valores de absorvância em 70 segundos. Os espectros foram gravados em intervalos de 1 nm, realizando 64 varreduras para a referência e amostras, levando aproximadamente 2 horas para fazer todas as varreduras. Todas as amostras foram cuidadosamente misturadas entre as digitalizações e analisadas em triplicata. O *software* Unscrambler® 10.3 (CAMO AS, Noruega) foi usado para analisar os dados. A figura 9 representa um esquema para a avaliação do MASF usando a abordagem NIR.

FIGURA 9. ESQUEMA DA AVALIAÇÃO DA UMIDADE EM MÊIS DE ABELHAS SEM FERRÃO USANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO



FONTE: O AUTOR (2017).

Análise Estatística

O Unscrambler® foi aplicado para processamento e análise de dados. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada em cada dado espectral para descrever as características multidimensionais básicas da matriz de dados NIR (BÁZÁR et al., 2016). Análises de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) foram desenvolvidas para descrever o teor de umidade do mel de abelhas sem ferrão. O algoritmo PLS é mais rápido, os modelos têm maior precisão e fornecem um modelo de calibração mais harmonioso e lidam com sucesso com a correlação de comprimentos de onda (AGELET; HURBURGH, 2010). A introdução de PLS por Wold (1975) foi uma alternativa melhorada à PCR; ambos os métodos realizam regressão em dados projetados para um novo espaço dimensional, mas as novas

coordenadas espaciais criadas em um processo semelhante ao PCA na regressão PLS levam em conta as informações da matriz de valores de referência, e o PLS é classificado como um método de regressão supervisionada; as novas variáveis recebem o nome de variáveis latentes (VLs) em vez de componentes principais (PCs), pois as novas variáveis não são exatamente iguais aos PCs (AGELET; HURBURGH, 2010).

Utilizou-se o algoritmo de quadrados parciais iterativos não lineares (NIPALS) com validação cruzada de venezianas (VC) de 8 vezes em amostras de calibração classificadas de acordo com a concentração conhecida da variável resposta (teor de umidade). Assim, a distribuição de concentrações na validação é organizada para ser similar entre si em cada permutação durante o VC. Para melhorar os modelos de calibração, foi necessário remover os efeitos de espalhamento dos espectros brutos causados pela diversidade do tamanho das partículas nas amostras. Após comparar o desempenho dos modelos, o melhor método de pré-tratamento para todo o conjunto de amostras foi a suavização ponderada (SAVITZKY; GOLAY, 1964) e a Variação Normal Padrão (SNV) (BARNES et al., 1989). O SNV foi usado para normalizar os dados de processamento de espectros, para remover mudanças de linha de base e mudanças de inclinação e curvilinearidade dos espectros antes de desenvolver os modelos de calibração. Isto é, antes do cálculo da PLS, a transformação SNV centralizou cada espectro e, em seguida, escalou-o pelo seu próprio desvio padrão, corrigindo mudanças no eixo y (THAMASOPINKUL et al., 2017).

O método de regressão PLS foi usado para obter as equações NIR. Em PLS, os resíduos NIR em cada comprimento de onda, obtidos após cada fator ter sido calculado, foram padronizados (dividindo pelos desvios padrão dos resíduos em cada comprimento de onda) antes do cálculo do próximo fator. Ao desenvolver equações de PLS, recomenda-se a validação cruzada de venezianas para selecionar o número ideal de fatores e evitar ajustes excessivos. A calibração foi definida com o número máximo de uma variável latente. O subgrupo de validação foi construído usando amostras adicionais. Para a estimação da qualidade dos modelos de calibração, foram utilizados os resultados do coeficiente de determinação (R^2), erro quadrático médio (RMSE), erro padrão (SE) e razão de desempenho para desvio (RPD = desvio padrão/erro padrão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Problemas de fraude envolvendo a adição de água no mel são comumente relatados, o que atualmente é uma preocupação entre produtores e cientistas; isso exige métodos rápidos para avaliar sua autenticação. O mel de abelha sem ferrão (MASF) é frequentemente caracterizado como tendo um teor de umidade mais alto que o padrão de mel *Apis mellifera*, cujo teor de umidade é geralmente de até 20% (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). O teor de umidade das 32 amostras de MASF variou de 25 a 40 g/100 g, com $32,22 \pm 0,46$ g/100 g de média (Tabela 13). Esta informação está de acordo com os resultados relatados por vários MASF de diferentes partes do mundo (SEREIA et al., 2011; BILUCA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016a). Em relação ao modelo de calibração multivariada, outro aspecto importante é que o erro médio de predição observado na Tabela 13 com a validação (2,14%), foi semelhante aos descritos em outros estudos para controle de umidade em diferentes produtos (NI et al., 2011; MAZUR et al., 2014). Erros de previsão menores que 5% demonstram a confiabilidade da análise multivariada para reproduzir os resultados do método de referência.

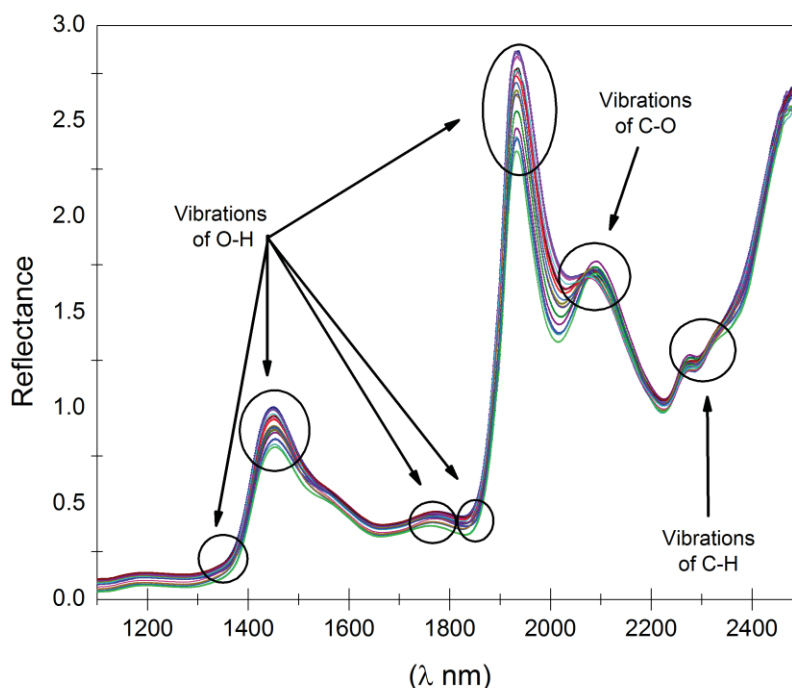
TABELA 13. TEOR DE UMIDADE E RESULTADOS DO MÉTODO MULTIVARIADO OBTIDO PELO MODELO DE REGRESSÃO PLS CALCULADO A PARTIR DE 32 MÉIS DAS TRIBOS MELIPONINI E TRIGONINI.

Espécies de Abelhas sem Ferrão	Método de Referência	Método de Calibração	Erro (%)	Método de Validação	Erro (%)
<i>Melipona bicolor</i>	30,90 ± 0,70	30,80	0,31	30,71	0,62
	32,28 ± 0,23	30,76	4,72	30,88	4,36
	35,58 ± 0,20	35,15	1,22	35,04	1,54
	34,00 ± 0,05	34,07	0,21	34,09	0,27
	32,68 ± 0,32	33,13	1,38	33,14	1,41
	39,94 ± 0,20	39,98	0,10	39,92	0,05
	32,94 ± 0,23	32,07	2,65	31,83	3,39
	37,37 ± 0,52	39,40	5,44	39,64	6,07
<i>Melipona quadrifasciata</i>	40,07 ± 0,64	38,98	2,73	39,15	2,29
	35,25 ± 0,23	35,46	0,58	35,43	0,49
	37,17 ± 0,86	37,10	0,18	37,05	0,32
	38,82 ± 0,30	38,38	1,13	38,29	1,37
	35,85 ± 0,23	35,18	1,86	35,22	1,74
	34,07 ± 0,11	34,37	0,89	34,51	1,30
	29,38 ± 0,82	32,79	11,61	33,03	12,42
	35,19 ± 0,73	34,92	0,76	35,00	0,53
<i>Melipona marginata</i>	32,61 ± 0,71	33,13	1,58	33,25	1,94
	38,03 ± 0,30	37,98	0,12	37,96	0,17
	31,82 ± 0,20	32,25	1,35	32,34	1,62
	33,87 ± 0,11	33,35	1,53	33,13	2,19
	37,43 ± 0,23	36,61	2,20	36,70	1,95
	32,81 ± 0,34	32,24	1,74	32,15	2,00
	34,07 ± 0,11	33,82	0,72	33,85	0,63
	39,81 ± 0,30	39,69	0,30	39,63	0,44
<i>Scaptotrigona bipuncata</i>	26,87 ± 0,40	26,57	1,12	26,69	0,67
	28,39 ± 0,11	28,61	0,78	28,71	1,13
	27,93 ± 0,30	28,50	2,06	28,65	2,58
	26,80 ± 0,11	27,34	2,00	27,66	3,19
	29,91 ± 0,23	29,46	1,49	29,23	2,26
	25,88 ± 0,20	26,13	0,97	26,44	2,18
	26,80 ± 0,64	27,52	2,67	27,26	1,70
	28,65 ± 0,20	27,41	4,34	27,03	5,64
	Erro médio (%)		1,90		2,14

Erro (%) = | (método multivariada – método de referência) / método de referência | x 100%.

O espectro NIR das 32 amostras de MASF (Figura 10) mostra as características típicas do mel, destacando as regiões de absorção de O–H, os modos combinado e harmônico da água (ESCUREDO; SEIJO; et al., 2013). Os sinais espectrais correspondem à combinação de sobretons e vibrações de C–H, O–H e C–O. Os espectros de MASF mostraram quatro bandas de absorção intensas a 1450 nm relacionadas ao primeiro harmônico O–H; 1780 nm foi o primeiro harmônico do alongamento O–H, 1935 nm foi a combinação de alongamento e deformação de O–H, 2100 nm foi o primeiro harmônico da deformação de O–H e da banda de alongamento de C–O. Outras bandas de absorção menores em 1202 e 2321 nm foram relacionadas às ligações C–H. As regiões de 1322–1326 nm e 1358–1366 nm representam sinais de vibrações dominantes –OH livres (XANTHEAS, 1995). No entanto, essa área também foi correlacionada à água altamente organizada na camada de solvatação, já que corresponde ao primeiro harmônico das bandas descritas em relação a prótons aquosos (HEADRICK et al., 2005) e –OH livre em aglomerados de água (MIZUSE; FUJII, 2012).

FIGURA 10. REFLECTÂNCIA DOS ESPECTROS NIR DE 32 AMOSTRAS DE MEIS DE ABELHAS SEM FERRÃO. AS REGIÕES MARCADAS CORRESPONDEM ÀS VIBRAÇÕES O-H, C-O E C-H.



FONTE: O AUTOR (2017).

A análise de PCA foi aplicada a todos os espectros em cada tipo de amostra para avaliar a variabilidade espectral e determinar a estrutura da população. Os gráficos dos pontos de porcentagem de umidade não tratados e tratados são mostrados na Figura 11. A porcentagem de variação explicada por cada componente principal (PC) é indicada entre parênteses. A soma da porcentagem de variação explicada por PC1 e PC2 foi próxima a 100%, indicando que dois PCs explicaram a maioria das variações no mel de abelhas sem ferrão.

Os coeficientes de regressão em função do comprimento de onda com um fator 1 mostrado na Figura 12, estão relacionados aos principais sinais observados na Figura 10. Os loadings de NIR mostraram que a maior variação no conjunto de calibração para o teor de umidade foi associada a uma banda larga em 1935 e 2100 nm devido à combinação de alongamento de O–H e modos de flexão de água. O NIR possui pouco ruído instrumental sugerindo que poderia utilizar os dados espectrais sem manipulação preliminar (pré-processo) ao construir o modelo. No entanto, foi proposto o uso das rotinas de pré-processamento com foco na média (correção dos desvios da linha de base), seguido da derivação de suavização (divulgação de evidências de pequena magnitude) antes de implementar o modelo PLS, a fim de diminuir o efeito prejudicial a relação sinal-ruído. Há também um interesse particular no processamento de sinal obtido por refletância difusa, variação normal padrão (SNV) e correção de dispersão multiplicativa (MSC), que minimiza os efeitos atribuíveis à luz dispersa. O SNV é provavelmente o segundo método mais aplicado para correção de dispersão de dados NIR, onde cada espectro está sendo centrado e depois escalado pelo desvio padrão correspondente. Os efeitos multiplicativos da dispersão podem ser reduzidos após a transformação da SNV. Modelo com pré-processo pode ser mais robusto à previsão do que sua contraparte grosseira (SABIN et al., 2004; BI et al., 2016).

FIGURA 11. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DA UMIDADE DO MEL DA ABELHA SEM FERRÃO, A: GRÁFICO DE ESCORES DO 1º COMPONENTE PRINCIPAL CALCULADO EM TODO O CONJUNTO DE AMOSTRAS E B: APÓS A SUAUIZAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO POR SNV DO ESPECTRO DE NIR (1100–2500 NM).

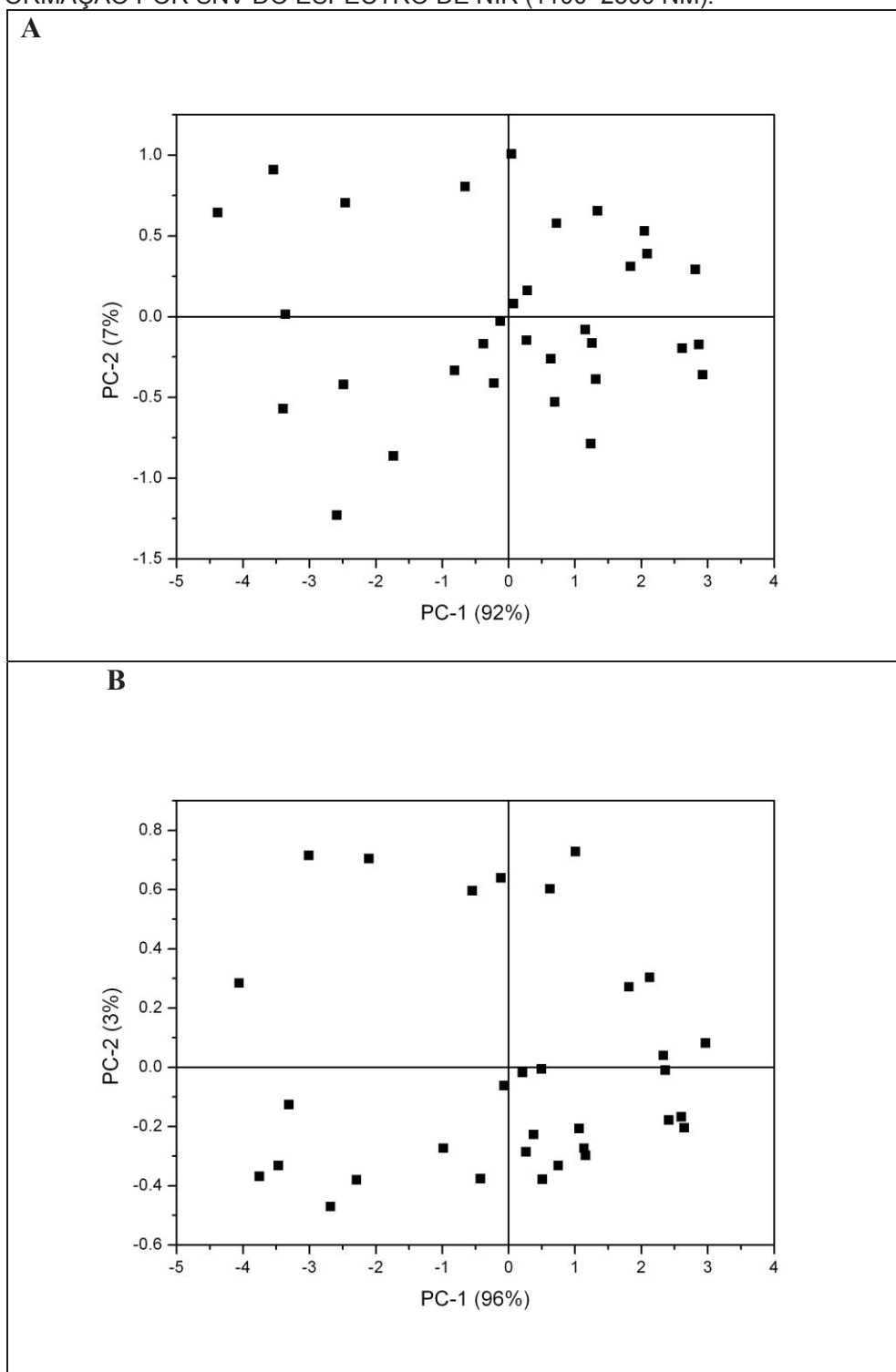
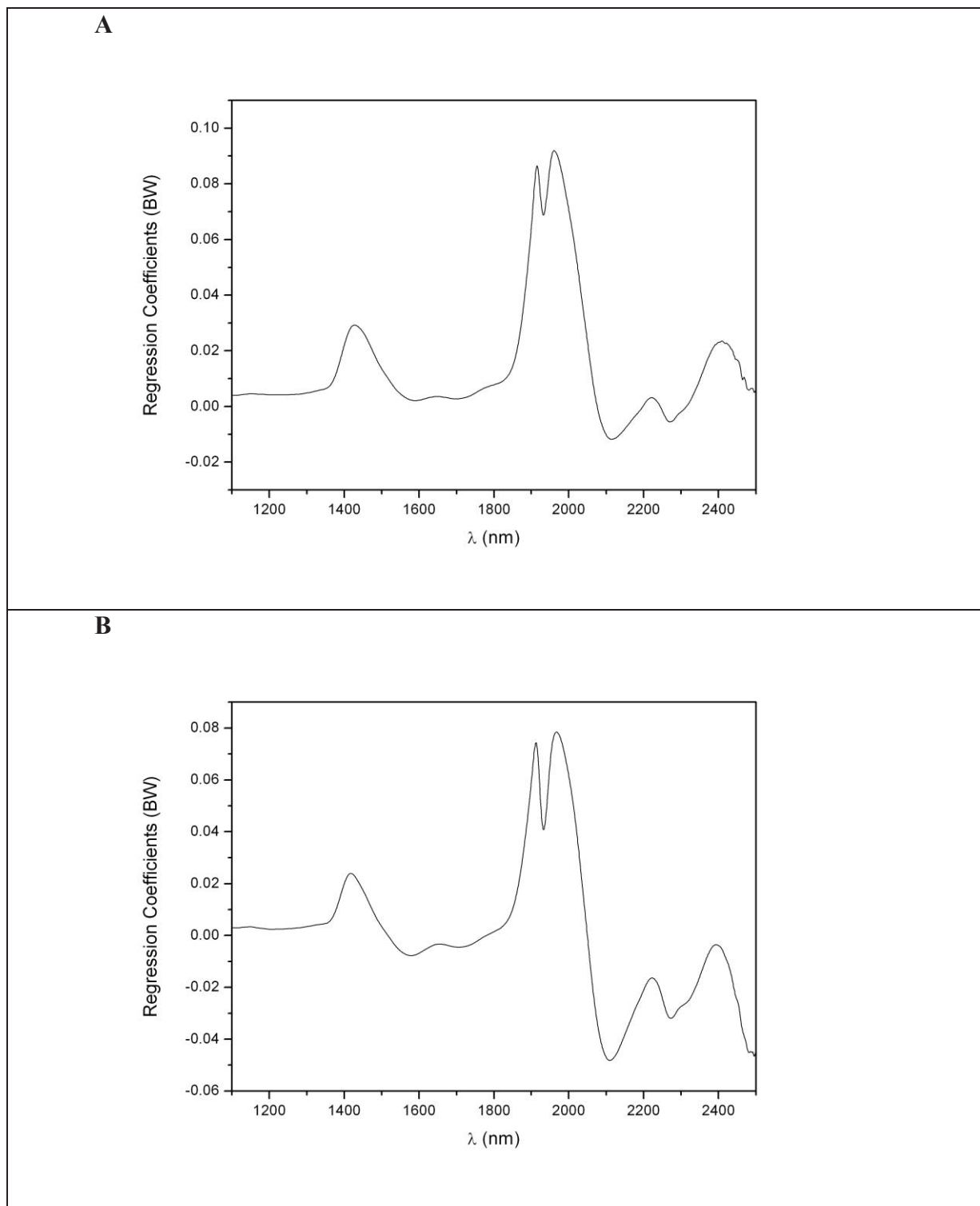


FIGURA 12. COEFICIENTES DE REGRESSÃO OBTIDOS NO MODELO PLS PARA ESTIMAR A UMIDADE DO MEL DE ABELHA SEM FERRÃO USANDO OS ESPECTROS DE REFLETÂNCIA NIR. A SEM MÉTODO DE PRÉ-PROCESSAMENTO E B COM.



A principal vantagem do NIR combinado com algoritmos de calibração multivariada, como o PLS, é a informação quantitativa de ganho para o controle de

qualidade do mel em um curto período de tempo e em uma única medição. Além disso, o conjunto de validação deve conter uma mistura de amostras de diferentes espécies de mel de abelha sem ferrão e de diferentes origens botânicas. Estes são necessários para especificar os limites entre os diferentes tipos de mel e para verificar a confiabilidade da análise. A abelha sem ferrão tem uma preferência floral seletiva (VIT et al., 2004; VIT, 2013) e nesse sentido, o mel foi coletado em diferentes meliponários para cada espécie de abelha, proporcionando uma variabilidade de néctares e pólen das plantas da região. A ocorrência de mel aquoso dessas espécies de abelhas estudadas pode estar relacionada à umidade característica de ambientes tropicais, em que é difícil extrair néctar com baixo teor de água, além de outros fatores como coleta de néctar de flores rasteiras e frutos maduros ricos na água (RAMÓN-SIERRA et al., 2015).

A predição do NIR para o teor de água em MASF fresco mostrou boa correlação com o método de referência ($R^2 = 0,93$). Em geral, observou-se que os erros multivariados (média = 2,14) são da mesma ordem de grandeza que os desvios padrão relativos do método do índice de refração (média = 1,90), o que demonstra a confiabilidade do método de análise multivariada proposto. Os resultados da regressão PLS para umidade mostraram que o erro quadrático médio (RMSE) foi de 0,989% para validação cruzada e 0,906% para o grupo de calibração (Tabela 14). O modelo foi obtido com 1 variável latente explicando 92% dos dados acumulados de variância com 1400 (dados espectrais) e 32 dos dados de umidade (concentração). O erro médio de classificação de validação cruzada de 2,1%, implica em 97,9% de taxa de sucesso do modelo de calibração multivariada, comparável aos resultados de diferentes produtos descritos em outros estudos para controle de umidade (NI et al., 2011; MAZUR et al., 2014).

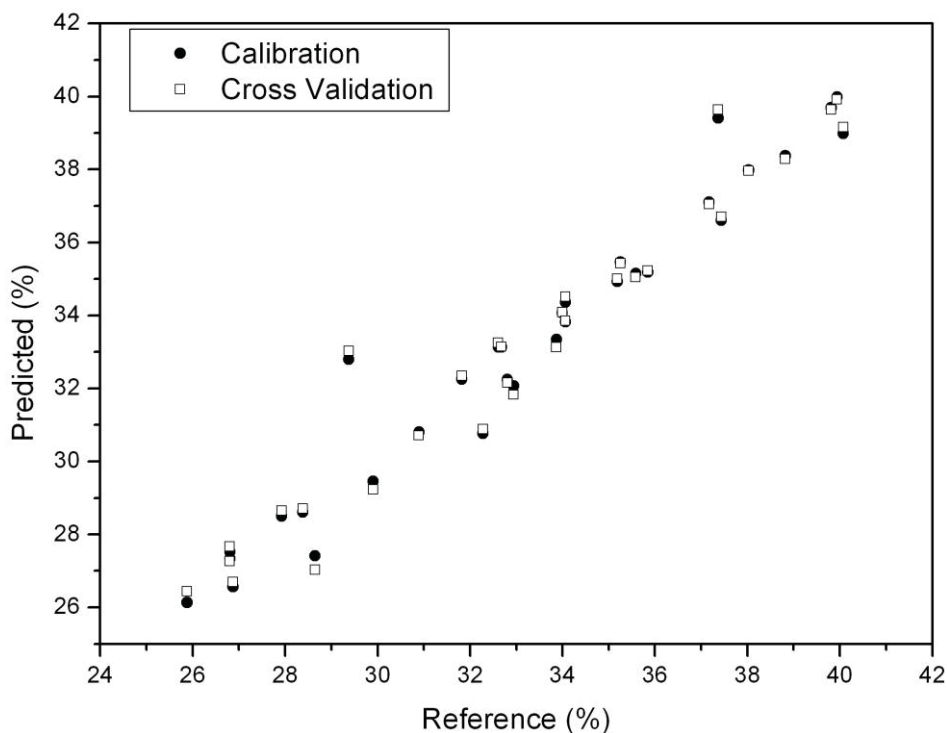
TABELA 14. REGRESSÃO DE MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS) DO CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO E PREDIÇÃO PARA OS TEORES DE UMIDADE EM MEL DE ABELHA SEM FERRÃO.

Parâmetros	Grupo de Calibração	Validação
Mínimo (%)	25,879	25,879
Máximo (%)	40,073	40,073
Média (%)	33,213	33,213
DP (%)	4,354	4,354
R ²	0,952	0,947
RMSE	0,906	0,989
SE	0,920	1,005
RPD = SD/SE	4,733	4,332

DP – Desvio padrão; R² –coeficiente de determinação; RMSE – erro quadrático médio; SE – Erro Padrão; RPD - Relação de desempenho para desvio.

Ruoff et al., (2007) avaliaram 24 propriedades físicas e químicas em 421 amostras de mel de *Apis* auxiliado por NIR. Sua pesquisa mostrou modelos quantitativos com precisão satisfatória para a determinação de sete propriedades. A partir deles, a umidade apresentou um erro padrão muito baixo de predição (SEP = 0,3 g/100 g) e um alto coeficiente de determinação (R² = 0,970) para o grupo de validação. O SEP (4,33) e R² (0,95) demonstraram que o modelo sugerido pode ser aplicado em análises de rotina.

FIGURA 13. GRÁFICO DO CONTEÚDO DE UMIDADE MEDIDO VERSUS PREVISTO PELA REGRESSÃO DE MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS) PARA AMOSTRAS DE MEL. O GRUPO DE CALIBRAÇÃO FOI REPRESENTADO POR CÍRCULOS FECHADOS E OS QUADRADOS ABERTOS REPRESENTAM O GRUPO DE VALIDAÇÃO EXTERNA.



As parcelas de conteúdo medido *versus* previsto para umidade são mostradas na Figura 13. Os valores previstos mostraram uma forte relação entre os valores medidos. Os valores previstos não mostraram nenhum desvio significativo do comportamento linear. Para construir um modelo de predição, é necessário que o conjunto de amostras contemple uma ampla faixa de valores para umidade. Vale ressaltar que a equação de predição deve ser utilizada dentro da faixa de valores testados de umidade. Em resumo, o método multivariado proposto foi considerado uma técnica útil para o controle de qualidade rotineiro do mel de abelhas sem ferrão, que pode ser facilmente adotado por pequenos ou grandes produtores. Além disso, essa técnica baseada em NIR pode representar um método rápido para a detecção de autenticidade e fraude pela adição de água nos MASF.

CONCLUSÃO

Um método de determinação de umidade para o mel de abelhas sem ferrão (MASF) foi desenvolvido com sucesso usando NIR combinado com quimiometria, que é então sugerido como uma ferramenta útil para cientistas e produtores para autenticar este produto. A previsão do NIR para umidade do mel mostrou boa correlação ($R^2 = 0,93$) com o método de referência (índice de refração) e erro médio próximo a 2%. Os espectros dos MASF mostram quatro fortes absorções eletromagnéticas de O-H, além da combinação dos compostos orgânicos C-H e C-O. A calibração multivariada confirmou que este método rápido pode ser usado como uma boa ferramenta para controle de umidade de MASF para consumo humano. Uma vez que problemas de fraude em mel são freqüentemente relatados e apesar de ser uma técnica mais custosa, este método representa um ponto de partida para identificação e o controle de qualidade do mel de abelha sem ferrão, devido a muitas vantagens como velocidade, confiabilidade, não destrutivo, sem geração de resíduos e possibilidade de análise online.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mel coletado de abelhas nativas apresenta baixo teor de cinzas e baixa condutividade. Diferentemente dos gêneros *Apis*, o mel das abelhas sem ferrão tem um caráter ácido (pH ácido e alta acidez), nível ligeiramente inferior de carboidratos totais e alta higroscopicidade devido ao alto conteúdo de açúcares redutores, umidade e altos valores de atividade de água. Esse produto complexo e natural requer metodologias e padrões internacionais e oficiais a serem estabelecidos para servir como referência para controle de qualidade, para evitar adulterações em potencial e para fins de marketing. No geral, as principais dificuldades têm sido a grande diversidade de espécies de abelhas sem ferrão e sua origem botânica, bem como variações na composição química desses méis. Inúmeros estudos indicaram que, em comparação com o mel de *Apis mellifera*, o mel de abelhas sem ferrão é rico em compostos bioativos, com alta capacidade antioxidante e propriedades biológicas. O mel de abelha sem ferrão mostra potencial atividade antimicrobiana como tratamento alternativo para inflamação e infecção. Além disso, o mel das abelhas sem ferrão é uma fonte de macrominerais.

O MASF coletadas no sul do Brasil podem ser consideradas uma boa fonte de minerais, particularmente K e Ca. Este estudo também mostrou que as espécies de abelhas de diferentes gêneros afetam as propriedades do mel. A análise estatística multivariada foi eficaz para discriminar os grupos de MASF. Utilizando a abordagem quimiométrica, a Análise de Componentes Principais (PCA) explicou 72,12% da variabilidade dos dados, conseguiu distinguir os méis nos gêneros *Scaptotrigona* e *Meliponina*. Dois clusters sugeridos pela Análise de Agrupamento Hierárquico corroboraram com o PCA, no qual o cluster 2 foi formado pelo gênero *Scaptotrigona*, que apresentou os maiores valores de pH, cinzas e °BRIX. A fim de criar padrões e assegurar um tratamento adequado para reduzir a microbiota da MASF, é necessário considerar a grande variação existente entre a produção de mel de diferentes gêneros de abelhas sem ferrão.

Diferenças consideráveis nas propriedades biológicas, parâmetros físico-químicos e palinológicos do mel de diferentes espécies brasileiras de abelhas sem ferrão foram observadas. O uso de análise multivariada foi adequado para discriminar tipos de MASF de origem floral similar, como o caso de mel com predominância de pólen das famílias Verbenaceae, Asteraceae e Sapindaceae. A

quimiometria mostra que as propriedades químicas e biológicas do MASF têm uma forte relação com a origem botânica do pólen. O MASF apresentou significativo teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana, apresentando valores superiores aos do mel de *Apis mellifera*, sendo encontrada correlação positiva entre os CFT e a atividade antioxidante.

Um método de determinação de umidade para o mel de abelhas sem ferrão (MASF) foi desenvolvido com sucesso usando NIR combinado com quimiometria, que é então sugerido como uma ferramenta útil para cientistas e produtores para autenticar este produto. A previsão do NIR para umidade do mel mostrou boa correlação ($R^2 = 0,93$) com o método de referência (índice de refração) e erro médio próximo a 2%. Os espectros dos MASF mostram quatro fortes absorções eletromagnéticas de O-H, além da combinação dos compostos orgânicos C-H e C-O. A calibração multivariada confirmou que este método rápido pode ser usado como uma boa ferramenta para controle de umidade de MASF para consumo humano. Uma vez que problemas de fraude e/ou adulteração em mel são freqüentemente relatados, este método representa uma alternativa promissora para o controle de qualidade do mel de abelha sem ferrão, devido a muitas vantagens como velocidade, confiabilidade, não destrutivo, sem geração de resíduos e possibilidade de análise online.

No entanto, mais estudos devem ser realizados para investigar e destacar as diferenças entre cada mel e cada espécie; esforços também devem ser feitos para desenvolver possíveis estratégias de conservação, com o objetivo de ajudar ambos os produtores a preservar características sensoriais e nutricionais, e analistas na avaliação e prevenção da adulteração de MASF. Mais estudos são necessários para avaliar outras variáveis que possam contribuir para a caracterização floral, bem como a aplicação da análise ao mel de outras origens botânicas. Estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos são necessários para avaliar melhor as muitas atividades biológicas e farmacológicas potenciais do mel de abelha sem ferrão.

Em conclusão, os estudos apresentados nesta tese avançam o conhecimento científico sobre a caracterização do mel de abelhas sem ferrão. Este tipo de mel representa uma importante inovação potencial para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, e a importância estratégica do mel de abelha sem ferrão deve estimular novas linhas de pesquisa para consolidar seu consumo e aplicação.

REFERÊNCIAS

- ABADIO FINCO, F. D. B.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 706–712, 2010.
- ABD JALIL, M. A.; KASMURI, A. R.; HADI, H. Stingless Bee Honey, the Natural Wound Healer: A Review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 30, n. 2, p. 66–75, 2017.
- ABU BAKAR, M. F.; SANUSI, S. B.; ABU BAKAR, F. I.; CONG, O. J.; MIAN, Z. Physicochemical and antioxidant potential of raw unprocessed honey from malaysian stingless bees. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 16, n. 11, p. 888–894, 2017.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. DE; MATSUDA, A. H. Physicochemical Parameters of Amazon *Melipona* Honey. **Quimica Nova**, v. 30, n. 3, p. 707–708, 2007.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. DE; STRAMM, K. M.; ESTEVINHO, L. M. Efficiency of the FT-IR ATR spectrometry for the prediction of the physicochemical characteristics of *Melipona subnitida* honey and study of the temperature's effect on those properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 188–195, 2014.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. DE; STRAMM, K. M.; HORITA, A.; 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.
- ALQARNI, A. S.; OWAYSS, A. A.; MAHMOUD, A. A.; HANNAN, M. A. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 5, p. 618–625, 2014.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; BRENCIANI, A.; et al. *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, n. January, p. 272–279, 2018.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; BERTOLI, E.; BATTINO, M. Contribution of honey in nutrition and human health: A review. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 3, n. 1, p. 15–23, 2010.
- ALVES, R. M. DE O.; CARVALHO, C. A. L. DE; SOUZA, B. D. A.; SODRÉ, G. D. 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.; MESENES, A. R. V. DE M.; SILVA, J. N.; PARENTE, G. D. L.; NETO, J. P. DE H. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. **Revista Verde**, v. 6, n. 3, p. 91–97, 2011.
- AMIRY, S.; ESMAILI, M.; ALIZADEH, M. Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 224, p. 390–397, 2017.
- ANACLETO, D. D. A.; SOUZA, B. D. A.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. D. C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*

latreille, 1811). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 535–541, 2009.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of AOAC international. 2008.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of AOAC International. 18th, 2005th ed., 2007.

ÁVILA, S.; BEUX, M. R.; RIBANI, R. H.; ZAMBIAZI, R. C. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health- promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, n. August, p. 37–50, 2018.

ÁVILA, S.; HORNUNG, P. S.; LOPESTEIXEIRA, G.; et al. Mel de mandaçaia - *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier): parâmetros físico-químicos e espectro polínico. **Embrapa Florestas Comunicado Técnico**, v. 378, n. 1, p. 1–6, 2016.

AZIZ, M. S. A.; GIRIBABU, N.; RAO, P. V.; SALLEH, N. Pancreatoprotective effects of *Geniotrigona thoracica* stingless bee honey in streptozotocin-nicotinamide-induced male diabetic rats. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 89, n. May, p. 135–145, 2017.

BARTELLI, B. F.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Pollination services provided by *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses with *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 510–516, 2014.

BASTOS, D. H. M.; SANTOS, M. C. M. DOS; MENDONÇA, S.; TORRES, E. A. F. S. Antioxidant capacity and phenolic content of stingless bee honey from Amazon in comparison to *Apis* bee honey. **Acta Horticulturae**, v. 841, p. 483–485, 2009.

BÁZÁR, G.; ROMVÁRI, R.; SZABÓ, A.; et al. NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. **Food Chemistry**, v. 194, p. 873–880, 2016.

BELAY, A.; HAKI, G. D.; BIRRINGER, M.; et al. Rheology and botanical origin of Ethiopian monofloral honey. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 393–401, 2017.

BERTONCELJ, J.; DOBERŠEK, 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.

BI, Y.; YUAN, K.; XIAO, W.; et al. A local pre-processing method for near-infrared spectra, combined with spectral segmentation and standard normal variate transformation. **Analytica Chimica Acta**, v. 909, p. 30–40, 2016.

BILUCA, F. C.; BETTA, F. DELLA; OLIVEIRA, G. P. DE; 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**, v. 50, n. July, p. 61–69, 2016.

BILUCA, F. C.; GOIS, J. S. DE; SCHULZ, M.; et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey

(Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 89–97, 2017.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLMANN, C. Harmonised methods of the European honey commission. **Apidologie**, , n. extra issue, p. 1–59, 1997.

BOORN, K. L.; KHOR, Y. Y.; SWEETMAN, E.; et al. Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1534–1543, 2010.

BORSATO, D. M.; PRUDENTE, A. S.; DÖLL-BOSCARDIN, P. M.; et al. 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.

BORSATO, D. M.; PRUDENTE, A. S.; DÖLL-BOSCARDIN, P. M.; et al. 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.

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

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985. Normas Higiênico-Sanitárias e Tecnológicas para Mel, Cera de Abelhas e Derivados. **Ministerio da Agricultura-Secretaria de Inspeção de Produto Animal**, 1985.

BRASIL. Instrução Normativa 11 de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da União. Legislação de Produtos Apícolas Derivados. Abastecimento.**, p. 23, 2000.

BUBA, F.; GIDADO, A.; SHUGABA, A. Analysis of Biochemical Composition of Honey Samples from North-East Nigeria. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 2, n. 3, 2012.

CAMARGO, R. C. R. DE; OLIVEIRA, K. L. DE; BERTO, M. I. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 0, 2017.

CAN, Z.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; et al. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 180, p. 133–141, 2015.

CHAN-RODRÍGUEZ, D.; RAMÓN-SIERRA, J.; LOPE-AYORA, J.; et al. Antibacterial properties of honey produced by *Melipona beecheii* and *Apis mellifera* against foodborn microorganisms. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 905–909, 2012.

CHEN, J. Y.; ZHANG, H.; MATSUNAGA, R. Visible and Near Infrared Spectroscopy for Rapid Analysis of the Sugar Composition of Raw Ume Juice. **Food science and technology research**, v. 13, n. 4, p. 291–295, 2007.

CHEN, L.; WANG, J.; YE, Z.; et al. Classification of Chinese honeys according to their floral origin by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 338–342, 2012.

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, 2016a.

CHUTTONG, B.; CHANBANG, Y.; SRINGARM, K.; BURGETT, M. Effects of long term storage on stingless bee (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) honey. **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 5, p. 441–451, 2016b.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.

COSTA, A. C. V. DA J. M. B. S.; SILVA, M. A. A. P. DA; GARRUTI, D. DOS S.; MADRUGA, M. S. Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the brazilian semiarid region. **Food Research International**, v. 105, n. March, p. 110–120, 2018.

COSTA, A. C. V. DA; SOUSA, J. M. B.; SILVA, M. A. A. P. DA; GARRUTI, D. DOS S.; MADRUGA, M. S. Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the brazilian semiarid region. **Food Research International**, 2017.

CRUZ, D. DE O.; CAMPOS, L. A. DE O. Polinização por abelhas em cultivos protegidos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 15, n. 1–4, p. 5–10, 2009.

CZIPIA, N.; ANDRÁSI, D.; KOVÁCS, B. Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. **Food Chemistry**, v. 175, n. December, p. 536–542, 2015.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 174–181, 2012.

EDELKY, W.; FREITAS, D. S.; MARIA, E.; 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.

ELFLEIN, L.; RAEZKE, K.-P. Improved detection of honey adulteration by measuring differences between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer - isotope ratio mass spectrometry and liquid ch. **Apidologie**, v. 39, n. 5, p. 574–587, 2008.

ELIAS-SANTOS, D.; FIALHO, M. D. C. Q.; VITORINO, R.; et al. Proteome of the head and thorax salivary glands in the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Apidologie**, v. 44, n. 6, p. 684–698, 2013.

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.

ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; CARMEN SEIJO, M. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 851–856, 2013.

ESCUREDO, O.; SEIJO, M. C.; SALVADOR, J.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. I. Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3409–3414, 2013.

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.

ESTEVINHO, L. M.; FEÁS, X.; SEIJAS, J. A.; PILAR VÁZQUEZ-TATO, M. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 258–264, 2012.

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 regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1166–1171, 2005.

EWNETU, Y.; LEMMA, W.; BIRHANE, N. Antibacterial effects of *Apis mellifera* and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in Gondar, Northwest. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1–7, 2013.

FEÁS, X.; PIRES, J.; ESTEVINHO, M. L.; IGLESIAS, A.; ARAUJO, J. P. P. DE. Palynological and physicochemical data characterisation of honeys produced in the Entre-Douro e Minho region of Portugal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 6, p. 1255–1262, 2010.

FECHNER, D. C.; MORESI, A. L.; RUIZ, J. D.; PELLERANO, R. G.; VAZQUEZ, F. A. Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. **Food Bioscience**, v. 15, p. 49–54, 2016.

FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. 2nd ed. Acribia S.A, 2000.

FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C. Características microbiológicas e físico-químicas de méis de abelha *Melipona fasciculata* produzidos em duas regiões do Brasil. **Ciencia Rural**, v. 48, n. 05, p. 1–8, 2018.

FERREIRA, I. C. F. R.; AIRES, E.; BARREIRA, J. C. M.; ESTEVINHO, L. M. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438–1443, 2009.

FUENMAYOR, C. A.; ZULUAGA-DOMÍNGUEZ, C. M.; DÍAZ-MORENO, A. C.; QUICAZÁN, M. C. Miel de angelita: Nutritional composition and physicochemical properties of *Tetragonisca angustula* honey. **Interciencia**, v. 37, n. 2, p. 142–147, 2012.

GALLINA, A.; STOCCO, N.; MUTINELLI, F. Karl Fischer Titration to determine moisture in honey: A new simplified approach. **Food Control**, v. 21, n. 6, p. 942–944, 2010.

GAŠIĆ, U.; KEČKEŠ, S.; DABIĆ, D.; et al. Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. **Food Chemistry**, v. 145, p. 599–607, 2014.

GASIC, U. M.; NATIC, M. M.; MISIC, D. M.; et al. Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis* L. honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 44, p. 128–138, 2015.

GHELDOLF, N.; ENGESETH, N. J. Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples.

Journal Agricultural and Food Chemistry, v. 50, n. 10, p. 3050–3055, 2002.

GHELDOLF, N.; WANG, X. H.; ENGESETH, N. J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5870–5877, 2002.

GIORDANO, A.; RETAMAL, M.; LEYTON, F.; et al. Bioactive polyphenols and antioxidant capacity of *Azara petiolaris* and *Azara integrifolia* Honeys. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 484–489, 2018.

GIORDANO, D.; BETA, T.; REYNERI, A.; BLANDINO, M. Changes in the phenolic acid content and antioxidant activity during kernel development of corn (*Zea mays* L.) and relationship with mycotoxin contamination. **Cereal Chemistry Journal**, n. December, p. CCHEM-05-16-0155-R, 2016.

GLEITER, R. A.; HORN, H.; ISENGARD, H. D. Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. **Food Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 441–445, 2006.

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.

GRANATO, D.; PRADO-SILVA, L. DO; ALVARENGA, V. O.; et al. Characterization of binary and ternary mixtures of green, white and black tea extracts by electrospray ionization mass spectrometry and modeling of their in vitro antibacterial activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 414–420, 2016.

GUERRINI, A.; BRUNI, R.; MAIETTI, S.; 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.; MEQBALI, F. T. AL; KAMAL, H.; SOUKA, U. D.; IBRAHIM, W. H. Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. **Food Chemistry**, v. 153, p. 28–34, 2014.

HADDADI, A.; HANS, G.; LEBLON, B.; et al. Determination of optical parameters and moisture content of wood with visible-near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 24, n. 6, p. 571–585, 2016.

HEADRICK, J. M.; DIKEN, E. G.; WALTERS, R. S.; et al. Spectral Signatures of Hydrated Proton Vibrations in Water Clusters. **Science**, v. 308, n. 5729, p. 1765–1769, 2005.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

HENRIQUES, A.; GONÇALVES, M.; PAIVA, N.; et al. Determination of resin and moisture content in melamine-formaldehyde paper using near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 25, n. 5, p. 311–323, 2017.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

ICMSF. **International Commission on Microbiological Specifications for**

Foods. Microorganisms in Foods. London, 1996.

IHC. Harmonized methods of the International Honey Commission. IHC responsible for the methods: Stefan. **Anais...** . p.10–16, 1997.

ILECHIE, A. A.; KWAPONG, P. K.; MATE-KOLE, E.; KYEI, S.; DARKO-TAKYI, C. The efficacy of stingless bee honey for the treatment of bacteria-induced conjunctivitis in guinea pigs. **Experimental Pharmacology**, v. 4, p. 63–68, 2012.

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. International Standards Organization, Switzerland. , 2008.

ISO 4831. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Coliforms – Most Probable Number Technique. International Standards Organization, Switzerland. , 2006.

ISO, 6579: Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection of Salmonella spp. **International Standards Organization, Switzerland.**, 2002.

ISSARO, N.; WEERAKUL, T.; MACHANA, S.; et al. Stingless bee honey II: Qualitative and quantitative studies on honey produced by three stingless bee species collected from a Mangosteen garden in Chantaburi province, Thailand. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. Suppl., p. 16–18, 2013.

JIANQIANG, Z.; WEIJUAN, L.; HUAIHUI, Z.; et al. Automatic classification of tobacco leaves based on near infrared spectroscopy and nonnegative least squares. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 26, n. 2, p. 101–105, 2018.

JIMENEZ, M.; BERISTAIN, C. I.; AZUARA, E.; MENDOZA, M. R.; PASCUAL, L. A. Physicochemical and antioxidant properties of honey from *Scaptotrigona mexicana* bee. **Journal of Apicultural Research**, v. 8839, n. August, p. 1–10, 2016.

KARABAGIAS, I. K.; HALATSI, E. Z.; KARABOURNIOTI, S.; KONTAKOS, S.; KONTOMINAS, M. G. **Impact of physicochemical parameters, pollen grains, and phenolic compounds on the correct geographical differentiation of fir honeys produced in Greece as assessed by multivariate analyses.** 2017.

KARABAGIAS, I. K.; LOUPPIS, A. P.; KARABOURNIOTI, S.; et al. Characterization and geographical discrimination of commercial Citrus spp. honeys produced in different Mediterranean countries based on minerals, volatile compounds and physicochemical parameters, using chemometrics. **Food Chemistry**, v. 217, p. 445–455, 2017.

KHALAFI, R.; GOLI, S. A. H.; ISFAHANI, M. B. Characterization and classification of several monofloral Iranian honeys based on physicochemical properties and antioxidant activity. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 5, p. 1–32, 2015.

KIVRAK, Ş.; KIVRAK, İ.; KARABABA, E. Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties , and their adulteration analysis. **Food Science and Technology**, p. 1–10, 2016.

KUŚ, P. M.; JERKOVIĆ, I.; MARIJANOVIĆ, Z.; TUBEROSO, C. I. G. Screening of Polish fir honeydew honey using GC-MS, HPLC-DAD and physicochemical parameters: benzene derivatives and terpenes as chemical markers. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 10, p. 3218–3221, 2017.

KWAKMAN, P. H. S.; VELDE, A. A. TE; BOER, L. DE; et al. How honey kills bacteria. **The FASEB Journal**, v. 24, n. July, p. 2576–2582, 2010.

KWAKMAN, P. H. S.; ZAAT, S. A. J. Antibacterial components of honey. **IUBMB Life**, v. 64, n. 1, p. 48–55, 2012.

KWAPONG, P. K.; ILECHIE, A. A.; KUSI, R. Comparative antibacterial activity of stingless bee honey and standard antibiotics against common eye pathogens. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 3, n. 1, p. 9–15, 2013.

LAGE, L. G. A.; COELHO, L. L.; RESENDE, H. C.; et al. Honey physicochemical properties of three species of the Brazilian *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 84, n. 3, p. 605–608, 2012.

LE MOS, M. S.; VENTURIERI, G. C.; DANTAS FILHO, H. A.; DANTAS, K. G. F. Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the Amazon region. **Journal of Apicultural Research**, v. 8839, n. July, p. 1–10, 2017.

LENHARDT, L.; ZEKOVIĆ, I.; DRAMIĆANIN, T.; et al. Authentication of the botanical origin of unifloral honey by infrared spectroscopy coupled with support vector machine algorithm. **Physica Scripta**, v. T162, p. 14042, 2014.

LI, W.; PICKARD, M. D.; BETA, T.; et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4437–4444, 2002.

LI, W.; PICKARD, M. D.; BETA, T. Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1080–1086, 2007.

LI, Y.; SHAO, W.; DONG, R.; JIANG, J.; DIAO, S. Prediction of saponin content in soapnut (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) fruits by near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 26, n. 2, p. 95–100, 2018.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, v. 5, n. 3, p. 139–153, 1978.

LÜ, Y.; CHEN, J.; LI, X.; WANG, C.; WEI, L. Rapid Determination of Water and Oil Content in Instant Noodles by Fourier Transform Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. **Food Science and Technology Research**, v. 19, n. 3, p. 393–398, 2013.

MA, J.; ZHANG, H.; TUCHIYA, T.; MIAO, Y.; CHEN, J. Y. Rapid Determination of Degradation of Frying Oil Using Near-Infrared Spectroscopy. **Food Science and Technology Research**, v. 20, n. 2, p. 217–223, 2014.

MAHMOODI-KHALEDI, E.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BAKHOUCHE, A.; et al. Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 6, p. 1019–1030, 2016.

MALEGORI, C.; NASCIMENTO MARQUES, E. J.; FREITAS, S. T. DE; et al. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v. 165, n. December 2016, p. 112–116, 2017.

MANZANARES, A. B.; GARCÍA, Z. H.; GALDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, E. R.; ROMERO, C. D. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate

analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 664–672, 2011.

MASSARO, C. F.; SHELLEY, D.; HEARD, T. A.; BROOKS, P. In vitro antibacterial phenolic extracts from “sugarbag” pot-honeys of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 50, p. 12209–12217, 2014.

MASSARO, F. C.; BROOKS, P. R.; WALLACE, H. M.; RUSSELL, F. D. Cerumen of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*): Gas chromatography-mass spectrometry fingerprints and potential anti-inflammatory properties. **Naturwissenschaften**, v. 98, n. 4, p. 329–337, 2011.

MAZUR, L.; OLIVEIRA, G. A. DE; BICUDO, M. O. P.; et al. Multivariate calibration and moisture control in yerba mate by near infrared spectroscopy. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 2, p. 369–374, 2014.

MICHENER, C. D. Pot-Honey. The Meliponini. In: P. Vit; S. R. M. Pedro; D. Roubik (Eds.); . p.3–18, 2013a.

MICHENER, C. D. **Pot-Honey**. New York, NY: Springer New York, 2013b.

MIZUSE, K.; FUJII, A. Tuning of the internal energy and isomer distribution in small protonated water clusters $H^+(H_2O)_n$ (4-8): an application of the inert gas messenger technique. **Journal of Physical Chemistry**, v. 116, n. 20, p. 4868–4877, 2012.

MURUKE, M. H. Assessment of Antioxidant Properties of Honeys from Tanzania. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 4, n. 27, p. 22–33, 2014.

NAGAI, T.; INOUE, R.; KANAMORI, N.; SUZUKI, N.; NAGASHIMA, T. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. **Food Chemistry**, v. 97, n. 2, p. 256–262, 2006.

NASCIMENTO, A.; MARCHINI, L.; CARVALHO, C.; et al. Physical-Chemical Parameters of Honey of Stingless Bee (Hymenoptera: Apidae). **American Chemical Science Journal**, v. 7, n. 3, p. 139–149, 2015.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. In: A. standard M7–A4 (Ed.); **NCCLS- National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 4th ed., 1997.

NI, Y.; MEI, M.; KOKOT, S. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems Analysis of complex , processed substances with the use of NIR spectroscopy and chemometrics: Classification and prediction of properties — The potato crisps example. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 105, n. 2, p. 147–156, 2011.

NISHIO, E. K.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, A. G.; et al. Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepelletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. **Scientific Reports**, v. 6, n. August 2015, p. 21641, 2016.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo, Brasil, 1997.

NORDIN, A.; SAINIK, N. Q. A. V.; CHOWDHURY, S. R.; SAIM, A. BIN; IDRUS, R. B. H. Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, n. October, p. 91–102, 2018.

NWEZE, J. A.; OKAFOR, J. I.; NWEZE, E. I.; NWEZE, J. E. Pharmacognosy & Natural Products Comparison of Antimicrobial Potential of Honey Samples from *Apis mellifera* and Two Stingless Bees from Nsukka, Nigeria. **OMICS International Research Article Nweze J Pharmacogn Nat Prod**, v. 2, n. 4, 2016.

NWEZE, J. A.; OKAFOR, J. I.; NWEZE, E. I.; NWEZE, J. E. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: A comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka, Nigeria. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 4–9, 2017.

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

OHE, W. VON DER; ODDO, L. P.; PIANA, M. L.; MORLOT, M.; MARTIN, P. Harmonized methods of melissopalynology. **Apidologie**, v. 35, p. S18–S25, 2004.

OLIVEIRA, A. Abelhas sem ferrão - Mandaçaia (*Melipona mandacaia*). Disponível em: <<http://www.cpt.com.br/artigos/abelhas-sem-ferrao-mandacaia-melipona-mandacaia>>. Acesso em: 16/4/2016a.

OLIVEIRA, A. Abelhas sem ferrão - Tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*). Disponível em: <<http://www.cpt.com.br/cursos-criacaodeabelhas/artigos/abelhas-sem-ferrao-tubuna-scaptotrigona-bipunctata>>. Acesso em: 16/4/2016b.

OLIVEIRA, F. A.; ABREU, A. T. DE; OLIVEIRA NASCIMENTO, N. DE; et al. Evaluation of matrix effect on the determination of rare earth elements and As, Bi, Cd, Pb, Se and In in honey and pollen of native Brazilian bees (*Tetragonisca angustula* - Jataí) by Q-ICP-MS. **Talanta**, v. 162, n. October 2016, p. 488–494, 2017.

OLIVEIRA, K. A. DE M.; RIBEIRO, L. S.; OLIVEIRA, G. V. DE. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de Abelhas Canudo (*Scaptotrigona depilis*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, n. 66, p. 239–248, 2013.

OLIVEIRA, P. S.; MÜLLER, R. C. S.; GRAÇAS FERNANDES DANTAS, K. DAS; 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, 2012.

OLIVEIRA, R. G. DE; JAIN, S.; LUNA, A. C.; FREITAS, L. DOS S.; ARAUJO, E. D. DE. Screening for quality indicators and phenolic compounds of biotechnological interest in honey samples from six species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 552–557, 2017.

OSÉS, S. M.; PASCUAL-MATÉ, A.; LA FUENTE, D. DE; et al. Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against *Staphylococcus aureus*. **NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 78, p. 29–33, 2016.

PIMENTEL, R. B. DE Q.; COSTA, C. A. DA; 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, 2013.

PITA-CALVO, C.; VAZQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 59, p. 79–87, 2017.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

PUCCIARELLI, A. B.; SCHAPOVALOFF, M. E.; KUMMRITZ, S.; et al. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. **Revista Argentina de microbiología**, v. 46, n. 4, p. 325–32, 2014.

RAMÓN-SIERRA, J. M.; RUIZ-RUIZ, J. C.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E. D. L. L. Electrophoresis characterisation of protein as a method to establish the entomological origin of stingless bee honeys. **Food Chemistry**, v. 183, p. 43–48, 2015.

RAO, P. V.; KRISHNAN, K. T.; SALLEH, N.; GAN, S. H. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 5, p. 1–8, 2016.

RASMUSSEN, C. **Catalog of the Indo-Malayan/Australasian stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)**. 2008.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

REYES-GONZÁLEZ, A.; CAMOU-GUERRERO, A.; GÓMEZ-ARREOLA, S. From Extraction to Meliponiculture: A Case Study of the Management of Stingless Bees in the West-Central Region of Mexico. **Beekeeping and Bee Conservation - Advances in Research**, p. 201–223, 2016.

RIBEIRO, G. P.; VILLAS-BÔAS, J. K.; SPINOSA, W. A.; PRUDENCIO, S. H. Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, n. April 2018, p. 607–612, 2018.

RIGONI, L.; VENTI, S.; BEVILACQUA, M.; et al. Quantification of the enantiomeric excess of two APIs by means of near infrared spectroscopy and chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 133, p. 149–156, 2014.

RODRÍGUEZ-MALAVAR, A.; RASMUSSEN, C.; GUTIÉRREZ, M.; et al. Properties of honey from ten species of Peruvian stingless bees. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 9, p. 1221–1226, 2009.

ROUBIK, D. W. **The Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

RÓŻAŃSKA, H. Microbiological Quality of Polish Honey. , p. 443–445, 2011.

RUOFF, K.; LUGINBÜHL, W.; BOGDANOV, S.; et al. Quantitative determination of physical and chemical measurands in honey by near-infrared spectrometry. **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 3–4, p. 415–423, 2007.

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 387–396, 2004.

SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTEMBORG, O. **Methods for the detection and isolation of food-borne fungi**. The Netherlands, 1996.

SANCHEZ-MORENO, C. Out of taxonomic limbo: A name for the species of Tepuihyla (Anura: Hylidae) from the Chimantá Massif, Pantepui region, northern South America. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121–137, 2002.

SANCHO, M. T.; PASCUAL-MATÉ, A.; RODRÍGUEZ-MORALES, E. G.; et al. Critical assessment of antioxidant-related parameters of honey. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 30–36, 2016.

SANT'ANA, L. D.; BUARQUE FERREIRA, A. B.; LORENZON, M. C. A.; BERBARA, R. L. L.; CASTRO, R. N. Correlation of Total Phenolic and Flavonoid Contents of Brazilian Honeys with Colour and Antioxidant Capacity. **International Journal of Food Properties**, v. 17, n. 1, p. 65–76, 2014.

SANT ANA, L. D. O.; SOUSA, J. P. L. M.; SALGUEIRO, F. B.; LORENZON, M. C. A.; CASTRO, R. N. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, p. C135–C140, 2012.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1627–1639, 1964.

SE, K. W.; GHOSHALB, S. K.; WAHAB, R. A.; IBRAHIM, R. K. R.; LANI, M. N. A simple approach for rapid detection and quantification of adulterants in stingless bees (*Heterotrigona itama*) honey. **Food Research International**, v. 105, n. September 2017, p. 453–460, 2018.

SE, K. W.; IBRAHIM, R. K. R.; WAHAB, R. A.; GHOSHAL, S. K. Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, n. November 2017, p. 46–54, 2018.

SE, K. W.; IBRAHIM, R. K. R.; WAHAB, R. A.; GHOSHAL, S. K. Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, n. December, p. 46–54, 2018.

SEREIA, M. J.; ALVES, E. M.; TOLEDO, V. A A; et al. Physicochemical characteristics and pollen spectra of organic and non-organic honey samples of *Apis mellifera* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 83, n. 3, p. 1077–1090, 2011.

SGARIGLIA, M. A.; VATTUONE, M. A.; SAMPIETRO-VATTUONE, M. M.; SOBERÓN, J. R.; SAMPIETRO, D. A. Properties of honey from *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *Plebeia wittmanni* of Argentina. **Apidologie**, v. 41, n. 6, p. 667–675, 2010.

SHADAN, A. F.; MAHAT, N. A.; WAN IBRAHIM, W. A.; ARIFFIN, Z.; ISMAIL,

D. Provenance Establishment of Stingless Bee Honey Using Multi-element Analysis in Combination with Chemometrics Techniques. **Journal of Forensic Sciences**, v. 63, n. 1, p. 80–85, 2018.

SHIROMA, C.; RODRIGUEZ-SAONA, L. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 6, p. 596–605, 2009.

SHRIVASTAVA, S.; UTHRA, C.; RESHI, M. S.; et al. Protective effect of hesperetin against acrylamide induced acute toxicity in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 56, n. 3, p. 164–170, 2018.

SILVA, I. A. A. DA; SILVA, T. M. S. DA; CAMARA, C. A.; et al. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3252–3258, 2013.

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

SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; et al. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 2, p. 173–178, 2009.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P. DOS; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; et al. 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, 2013.

SIMONE-FINSTROM, M.; SPIVAK, M. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 295–311, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, n. 1–3, p. 1–26, 1996.

SOUSA, J. M. B. DE; SOUZA, E. L. DE; MARQUES, G.; 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.

SOUSA, J. M.; SOUZA, E. L. DE; MARQUES, G.; et al. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by *Meliponini* in the Brazilian semiarid region. **Food Research International**, v. 84, p. 61–68, 2016.

SOUZA, B. D. A.; CARVALHO, C. A. L. DE; SODRÉ, G. D. 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. DE 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: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 303–308, 2009.

SOUZA, B.; MARCHINI, L.; TADEU, C.; et al. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae : Trigonini) do Estado da Bahia. **Ciencia e tecnologia de Alimentos Campinas**, v. 29, n. 4, p. 798–802, 2009.

SOUZA, B.; ROUBIK, D.; BARTH, O.; et al. Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, n. 12, p. 867–875, 2006.

SOUZA, K.; AUGUSTO, J.; SATTLER, G.; et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, n. May, p. 85–94, 2018.

SOUZA, R. C. DA S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA, F. P. M. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região Amazônica. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 2, p. 333–336, 2004.

SUNTIPARAPOP, K.; PRAPAIPONG, P.; CHANTAWANNAKUL, P. Chemical and biological properties of honey from Thai stingless bee (*Tetragonula leaviceps*). **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 45–52, 2015.

TAHIR, H. E.; XIAOBO, Z.; TINTING, S.; JIYONG, S.; MARIOD, A. A. Near-Infrared (NIR) Spectroscopy for Rapid Measurement of Antioxidant Properties and Discrimination of Sudanese Honeys from Different Botanical Origin. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 9, p. 2631–2641, 2016.

TEMARU, E.; SHIMURA, S.; AMANO, K.; KARASAWA, T. Antibacterial activity of honey from stingless honeybees (Hymenoptera; Apidae; Meliponinae). **Polish Journal of Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 281–285, 2007.

TENORE, G. C.; RITIENI, A.; CAMPIGLIA, P.; NOVELLINO, E. Nutraceutical potential of monofloral honeys produced by the Sicilian black honeybees (*Apis mellifera* ssp. *sicula*). **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 6, p. 1955–1961, 2012.

THAMASOPINKUL, C.; RITTHIRUANGDEJ, P.; KASEMSUMRAN, S.; et al. Temperature compensation for determination of moisture and reducing sugar of longan honey by near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 25, n. 1, p. 36–44, 2017.

TODOROVIC, N.; POPOVIC, Z.; MILIC, G. Estimation of quality of thermally modified beech wood with red heartwood by FT-NIR spectroscopy. **Woo**, v. 49, p. 527–549, 2015.

TUKSITHA, L.; CHEN, Y. L. S.; CHEN, Y. L.; WONG, K. Y.; PENG, C. C. Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, n. 2, p. 563–570, 2018.

VALE, M. A. D. DO; GOMES, F. A.; SANTOS, B. R. C. DOS; FERREIRA, J. B. Honey quality of *Melipona* sp. bees in Acre, Brazil. **Acta Agronomica**, v. 67, n. 2, p. 201–207, 2017.

VANHANEN, L. P.; EMMERTZ, A.; SAVAGE, G. P. Mineral analysis of monofloral New Zealand honey. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 236–240, 2011.

VIT, P. Effect of Stingless Bee Honey in Selenite Cataracts. **Apiacta**, v. 3, n. November, p. 37–40, 2002.

VIT, P. *Melipona favosa* Pot-Honey from Venezuela. In: P. Vit; S. R. M. Pedro; D. W. Roubik (Eds.); **Pot-Honey A legacy of stingless bees**. 1st ed., p.363–373, 2013.

VIT, P.; BOGDANOV, S.; KILCHENMANN, V. Composition of Venezuelan honeys from stingless bees (Apidae: Meliponinae) and *Apis mellifera* L. **Apidologie**, v. 25, n. 3, p. 278–288, 1994.

VIT, P.; MEDINA, M.; ENRÍQUEZ, M. E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala , Mexico and Venezuela. **Bee World**, v. 85, n. July 2015, p. 2–5, 2004.

VIT, P.; ODDO, L. P.; MARANO, M. L.; MEJIAS, E. S. Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. **Apidologie**, v. 29, p. 377–389, 1998.

VIT, P.; VARGAS, O.; LÓPEZ, T.; MAZA, F. Meliponini biodiversity and medicinal uses of pot-honey from El Oro province in Ecuador. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 27, n. 6, p. 502–506, 2015.

WALDSCHMIDT, A. M.; MARCO JUNIOR, P.; BARROS, E. G. DE; CAMPOS, L. A. O. Genetic analysis of *Melipona quadrifasciata* LEP. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) with RAPD markers. **Brazilian journal of biology**, v. 62, p. 923–928, 2002.

WANG, X.; GHELDOF, N.; ENGESETH, N. Effect of processing and storage on antioxidant capacity of honey. **Journal of food science**, v. 69, n. 2, p. 96–101, 2004.

WILLIAM HORWITZ; LATIMER, G. W.; INTERNATIONAL, A. Official methods of analysis of AOAC International. In: M. : A. I. Gaithersburg (Ed.); **Gaithersburg: AOAC International**. 18th, 2005 ed., 2007.

WILLIAMS, P. C. Variables affecting near-infraredreflectance spectroscopic analysis. In: Near- Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. In: P. C. Williams; K. H. Norris (Eds.); **American Association of Cereal Chemists**. p.143 – 167, 1987.

WOLD, H. Soft modelling by latent variables: the non-linear iterative partial least squares (NIPALS) approach. **Journal of Applied Probability**, v. 12, n. S1, p. 117–142, 1975.

WOODCOCK, T.; DOWNEY, G.; O'DONNELL, C. P. Near infrared spectral fingerprinting for confirmation of claimed PDO provenance of honey. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 742–746, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guideline: Potassium intake for adults and children. **World Health Organization**, , n. ISBN 978 92 4 150482 9, p. 52, 2012.

XANTHEAS, S. S. Theoretical Study of Hydroxide Ion- Water Clusters. **Journal of the American Chemical Society**, v. 177, p. 10373–10380, 1995.

ZHANG, H.; ZENG, W.; RUTMAN, M.; LEE, T. C. Simultaneous Determination of Moisture, Protein and Fat in Fish Meal Using Near-Infrared Spectroscopy. **Food Science and Technology Research**, v. 6, n. 1, p. 19–23, 2000.

ZHAO, J.; DU, X.; CHENG, N.; et al. Identification of monofloral honeys using HPLC-ECD and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 194, p. 167–174, 2016.

ZHOU, C.; JIANG, W.; VIA, B. K.; FASINA, O.; HAN, G. Prediction of mixed hardwood lignin and carbohydrate content using. **Carbohydrate Polymers**, v. 121, p. 336–341, 2015.

ZIELINSKI, A. A. F.; ÁVILA, S.; ITO, V.; et al. The Association between

Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and In Vitro Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, 2014.

ZUCCATO, V.; FINOTELLO, C.; MENEGAZZO, I.; PECCOLO, G.; SCHIEVANO, E. Entomological authentication of stingless bee honey by ¹H NMR-based metabolomics approach. **Food Control**, v. 82, p. 145–153, 2017.

ANEXO I

Trends in Food Science & Technology 81 (2018) 37–50



Contents lists available at ScienceDirect

Trends in Food Science & Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tifs

Review

Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies

Suelen Ávila^{a,*}, Márcia Regina Beux^a, Rosemary Hoffmann Ribani^a, Rui Carlos Zambiasi^b^a Department of Food Engineering, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, ZIP 81531-980, Brazil^b Center of Chemistry, Pharmaceutical and Food Science, Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, ZIP 96010-900, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Meliponinae
Chemical composition
Nutritional value
Medicinal use
Antibacterial
Antioxidant

ABSTRACT

Background: Honey is a natural product produced and marketed worldwide by stingless bees and *Apis* bees. Both these types of honey contain unique and distinct compounds of variable nutritional and biological importance. Stingless bee honey is popular for its distinct sweetness, mixed with an acidic taste, and fluid texture; it has higher added value than *Apis mellifera* honey. Due to the relatively low output of stingless bee honey compared to *Apis mellifera* honey, comprehensive data regarding the former is limited. This complex, natural product requires official, international methodologies and standards to be established to serve as a reference for quality control, to prevent adulteration, and to aid marketing purposes.

Scope and approach: The article summarises the existing literature regarding the physicochemical parameters, chemical composition, bioactive constituents, biological properties, and modification detection strategies of honey originated from 478 honey samples from 66 different stingless bee species produced worldwide.

Key findings and conclusions: Stingless bee honey is one of the most complex natural foodstuffs. This type of honey quantitatively possesses a higher moisture content, greater acidity, a slightly lower level of total carbohydrates, and higher levels of antioxidant and biological activities than *Apis mellifera* honey. This review emphasises that stingless bee honey represents an important innovation for the food, pharmaceutical and cosmetic industries, due to its positive health effects and market potential.

ANEXO II

Journal of Food Science and Technology

HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
 MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Editorial Manager

Role: Author Username: ridani

Submissions with Production Completed

Contents: This page lists all submissions where production has been completed.

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Article Title	Initial Date Submitted	Final Decision Date
	JFST-D-18-00665	Influence of stingless bee genus (<i>Scaptotrigona</i> and <i>Nelipona</i>) on the mineral content, physicochemical and microbiological properties of honey	10 Apr 2018	

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display 10 results per page.

ANEXO III



Food Research International

Available online 30 January 2019

In Press, Accepted Manuscript ?



Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin

Suelen Ávila ^{a, b} ✉, Polyanna Silveira Hornung ^{a, b}, Gerson Lopes Teixeira ^{a, c}, Lovemore Nkhata Malunga ^b, Franklin Brian Apea-Bah ^b, Márcia Regina Beux ^a, Trust Beta ^b, Rosemary Hoffmann Ribani ^a

✉ Show more

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.068>

Get rights and content

Highlights

- Honey with Verbenaceae and Asteraceae pollen have more antioxidant properties.
- The antibacterial activity was highly effective against *E. coli* and *S. typhimurium*.
- Stingless bee honey can be classified according to botanical origin of the pollen.
- Chemometrics is a useful tool to authenticate the stingless bee honey.

ANEXO IV



Original research article

Journal of Near Infrared Spectroscopy
0(0) 1–10

© The Author(s) 2018

Article reuse guidelines:

sagepub.com/journals-permissions

DOI: 10.1177/0967033518805254

journals.sagepub.com/home/jns



A chemometric approach for moisture control in stingless bee honey using near infrared spectroscopy

Suelen Ávila¹ , Polyanna Silveira Hornung¹, Gerson Lopes Teixeira¹, Márcia Regina Beux¹, Marcelo Lazzarotto² and Rosemary Hoffmann Ribani¹

Abstract

Honey is a product that is often adulterated by the addition of water. Stingless bee honey naturally has a higher moisture content than that produced by the traditional *Apis mellifera*. In most countries, there is a lack of quality standards and methods to characterise and assure the authenticity of stingless bee honey, which demands for the development of fast methods to assess its main properties, avoiding potential fraud. Thus, this work aimed to develop a non-destructive moisture determination method for stingless bee honey based on diffuse reflectance near infrared spectroscopy combined with chemometrics. Thirty-two honey samples from four stingless bee species (*Melipona quadrifasciata*, *Melipona marginata*, *Melipona bicolor* and *Scaptotrigona bipunctata*) were used to develop calibration models using partial least squares regression analyses. Results revealed intense absorption bands in C-H, O-H and C-O vibrations in the spectra of stingless bee honey. The calibration model was used to predict the moisture content in honey from an external group. The prediction of the honey's moisture showed good correlation ($r^2 = 0.93$) with the refraction index method and an average error of 2.14%. The statistics variables for the calibration ($R^2 = 0.947$, SEP = 1.005 and RPD = 4.332) revealed that this model can be used to predict the moisture from stingless bee honey and that near infrared spectroscopy is a reliable tool to be applied in quality control with rapid, simple and accurate results.

Keywords

Partial least square regression, Meliponini, moisture, multivariate calibration, quality control