



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA PINHEIRO

**MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) DO ESTADO DO RIO GRANDE
DO NORTE**

MOSSORÓ-RN

2016

CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA PINHEIRO

**MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) DO ESTADO DO RIO GRANDE
DO NORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido (UFERSA), como exigência final para
obtenção do título de Doutora no Curso de Pós-
Graduação em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva -
UFERSA

MOSSORÓ-RN

2016

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

P654m Pinheiro, Carolina de Gouveia Mendes da Escóssia.
Mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do
Estado do Rio Grande do Norte / Carolina de
Gouveia Mendes da Escóssia Pinheiro. - 2016.
132 f. : il.

Orientador: Jean Berg Alves da Silva.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2016.

1. Mel. 2. Meliponíneos. 3. Melissopalínologia.
4. Microbiológico. 5. Pesticida. I. Silva, Jean
Berg Alves da , orient. II. Título.

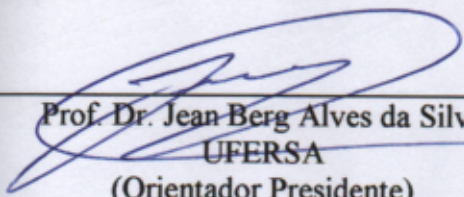
CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA PINHEIRO

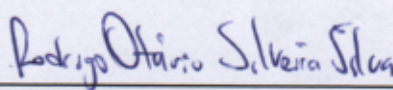
MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE

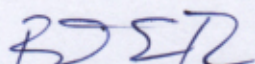
Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), como exigência final para obtenção do título de Doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal.

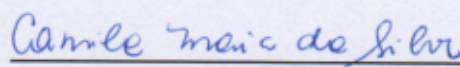
Aprovação em:

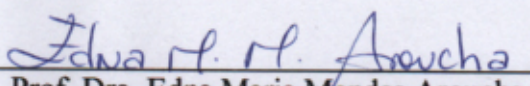
BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva
UFERSA
(Orientador Presidente)


Dr. Rodrigo Otávio Silveira Silva
UFMG
(Terceiro Membro)


Prof. Dr. Benito Soto Blanco
UFMG
(Segundo Membro)


Dra. Camila Maia da Silva
UFERSA
(Quarto Membro)


Prof. Dra. Edna Maria Mendes Aroucha
UFERSA
(Quinto Membro)

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA PINHEIRO nasceu em Mossoró no dia 23 de outubro de 1982. Formada em 2006 no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). É especialista em Saúde Pública pela Faculdade Integradas de Patos – FIP, 2007. Mestre em Ciência Animal pela UFERSA, 2009. Trabalhou no Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte (IDIARN), como fiscal agropecuária de 2008 a 2009. Foi docente no curso de nutrição da Universidade Potiguar de 2011.1 a 2015.2, onde ministrou aulas nas disciplinas de Prática em Vigilância Sanitária, Mecanismo de Agressão e Defesa (microbiologia, parasitologia e imunologia), Nutrição Experimental, Módulo Integrado em Tecnologia e Análise de Alimentos I e II, além de orientar trabalhos de conclusão de curso. É técnica do laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da UFERSA desde 2011, com conhecimento de análises microbiológicas e físico-químicas em alimentos de origem animal.

DEDICATÓRIA

Este trabalho foi realizado para contribuir com os estudos das abelhas sem ferrão, em especial a abelha jandaíra, que são agentes polinizadores fundamentais para a manutenção da flora e fauna do bioma Caatinga.

AGRADECIMENTOS

Deus, ser de luz, que com sua onipresença nos ajuda em todos os momentos, nos dando força para seguirmos sempre em frente na busca dos nossos sonhos. Obrigada Senhor!

Meu orientador Jean Berg Alves da Silva pela orientação, amizade e paciência de sempre. Por ter aceitado me orientar mais uma vez (especialização, mestrado e doutorado). Muito obrigada Jean!

Meu pai, Carlos Alberto Lopes Mendes, por sempre apoiar e incentivar minhas escolhas profissionais, por proporcionar sempre estudo de qualidade e por ser um pai amoroso. Minha mãe, Guacira Bezerra de Gouveia Mendes, pelo zelo, carinho, pelas inúmeras ajudas, até nas coletas das amostras de mel, e apoio de sempre. Obrigada meus pais amados!!

Meu marido, Pablo Romero da Escóssia Pinheiro, pelo amor, incentivo, paciência e toda a ajuda nas coletas do mel. Obrigada Amor!!

Minhas irmãs Daniela de Gouveia Mendes e Patrícia de Gouveia Mendes Borges pelas ajudas, de todas as naturezas, no decorrer da minha tese. Obrigada irmãs amadas!!

Meu cunhado, João Batista Borges Neto, pela atenção a mim dispensada durante a estadia em Minas Gerais e por toda ajuda. Obrigada João!

A todos os meliponicultores que permitiram a realização das coletas das amostras de mel de suas abelhas. Vocês foram fundamentais para que este trabalho tenha acontecido. Obrigada a todos vocês!

A toda a equipe do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA): Rociene Abrantes, Lara Barbosa, Natália Cristina, Francisco Alexandre, Élika Sousa, Carla Campelo, Germana Rebouças, Maria Gabriela, Jovilma Soares, Manoela Rebouças e Caio Brito pelo apoio, ajuda, conversas e amizade, itens fundamentais para a conclusão da minha tese. Obrigada a melhor equipe!

A Adriene Menezes e Rodrigo Sávio pela contribuição valiosa para minha tese. Muito obrigada!

A Tatiana Fernanda e Bárbara Freitas pela ajuda com a análise de cinzas. Obrigada meninas!

Aos colegas Amanda Castro, Carlos Lira, Caio Azevedo, Noeide Ferreira e Geovan Figueirêdo pela ajuda no processo de acetólise das amostras. Obrigada pelo suporte pessoal!

Ao Prof. Dr. Francisco Carlos Lobato por ter permitido a realização da pesquisa com microrganismos anaeróbios, no laboratório de bacteriose da Universidade Federal de Minas Gerais. Obrigada!

Ao Dr. Rodrigo Otávio Silveira Silva, pesquisador competente, pela ajuda com as análises dos microrganismos anaeróbios, além de todos os esclarecimentos prestados. Muito obrigada pelo seu tempo!

A equipe do laboratório de bacteriose, Carlos Augusto, Amanda Nadia, Izabella Moreira, Ana Carolina Andrade, Prhiscylla Sadanã, Marina Carvalho e a Graciela Kunrath pela ajuda e acolhimento durante minha estadia em Minas Gerais.

Ao Prof. Dr. Benito Soto Blanco pela ajuda, na realização da pesquisa de pesticidas, e disponibilidade de sempre. Obrigada Benito!

A Fabiano Aurélio da Silva Oliveira pela disponibilidade para receber as amostras de mel a serem avaliadas para a presença de resíduos de pesticidas. Muito obrigada!

A pesquisadora Dra. Camila Maia da Silva pela importante ajuda na identificação polínica do mel de abelha jandaíra e pelo conhecimento compartilhado. Obrigada Camila!

A Profa. Dra. Edna Maria Mendes Aroucha pela contribuição na minha tese. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Sidnei Miyoshi Sakamoto pela disponibilidade, para sempre ajudar a todos, por ter contribuído com minha formação, sendo meu primeiro orientador. Obrigada Sidnei!

Ao Prof. Dr. Alexandro Íris Leite que pela alegria e amor que transmitia ao ministrar as aulas de inspeção de produtos de origem animal, me fizeram escolher essa área. Obrigada Alex!

Ao Prof. Dr. Michael Hrcir por ter permitido a utilização das imagens das plantas nativas da Caatinga, contribuindo com o enriquecimento do meu trabalho. Obrigada Michael!

Aos motoristas da Ufersa pelas viagens realizadas aos municípios do RN, para que eu pudesse coletar minhas amostras de mel. Obrigada!

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação de Ciência Animal, que contribuíram com a minha formação. Obrigada Mestres pelo conhecimento compartilhado!

A todos os discentes do Programa de Pós-Graduação de Ciência Animal, que foram meus colegas de disciplinas. Obrigada!

MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE. PINHEIRO, Carolina de Gouveia Mendes da Escóssia. Mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do Estado do Rio Grande do Norte. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2016. 132f. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2016.

RESUMO: A abelha jandaíra (*M. subnitida* Ducke) é encontrada no Nordeste brasileiro. O seu mel é caracterizado pela grande quantidade de água (umidade) e coloração predominante clara. As características do mel podem ser influenciadas por diversos fatores, como: espécie, florada, temperatura, colheita e estocagem. E sua qualidade pela presença de microrganismos, pesticidas e outros. Objetivou-se caracterizar o mel de abelha jandaíra produzido no semiárido do Estado do Rio Grande do Norte. Para isso, avaliou-se 35 amostras provenientes de três mesorregiões do estado, de 12 municípios, as quais foram coletadas diretamente dos meliponários. Sendo avaliada a composição do mel (umidade, Aa, pH, HMF, acidez livre, sacarose, açúcares redutores, sólidos insolúveis, cinzas e cor) e a influência da florada; realizou-se análise qualitativa e quantitativa do pólen (melissopalínologia); verificou-se o efeito do período de estocagem (M₀, M₁₂, M₁₈) sobre suas características; e pesquisou-se a presença de microrganismos e pesticidas no mel. As amostras do mel de abelha jandaíra apresentaram umidade elevada, média de 24,4%. A coloração foi predominante clara (branco d'água e extra branco). Houve predominância de pólen de plantas nativas do bioma Caatinga, como a *Mimosa tenuiflora* e *M. arenosa*, entre outras e predomínio de mel unifloral. Durante a estocagem verificou-se que a umidade e pH reduziram, já o HMF, acidez livre e a cor aumentaram no fim do período de estocagem. Com relação aos microrganismos pesquisados verificou-se contaminação por fungos e leveduras, *Clostridium perfringens*, *C. botulinum* Tipo C e diferentes espécies de *Bacillus*. Observou-se contaminação por pesticidas em 25 amostras de mel, sendo todos da classe dos organofosforados. O mel de abelha jandaíra produzido no semiárido do Estado do Rio Grande do Norte apresentou parâmetros que não podem ser comparados com as legislações existentes, além de contaminação por microrganismos e pesticidas. Portanto, sugere-se a criação de uma instrução normativa que aborde a identidade e qualidade do mel de abelha jandaíra, a qual contemple também o período de validade do produto, limites aceitáveis de microrganismos e pesticidas, para que o produto oferecido à população seja de qualidade. Além disso, para a manutenção da florada nativa e consequente preservação da abelha jandaíra, se faz necessária a fiscalização constante para evitar o uso de pesticidas e o desmatamento nas áreas de bioma Caatinga.

Palavras-Chave: Estocagem. Mel. Meliponíneos. Melissopalínologia. Microbiológico. Pesticida.

HONEY BEE JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) OF RIO GRANDE DO NORTE STATE. PINHEIRO, Carolina Gouveia Mendes da Escóssia. Honey bee jandaíra (*Melipona subnitida*) of Rio Grande do Norte. Mossoro: University Federal Rural of the Semi-Arid, 2016. 132s. Thesis (Doctorate in Animal Science), University Federal Rural of the Semi-Arid, 2016.

ABSTRACT: Jandaira bee (*M. subnitida* Ducke) is found in Brazilian northeastern. Your honey is characterized by the large amount of water (moisture) and clear color predominant. The honey characteristics can be influenced by several factors such as species, flowering, temperature, harvesting and storage. In addition, its quality is marked by the presence of microorganisms, pesticides and others. This study aimed to characterize the Jandaira honey produced in the semiarid region of Rio Grande do Norte. In order to do this, we evaluated 35 samples from three mesoregion state of 12 cities, which were collected directly from meliponary. The honey composition (moisture, Aw, pH, HMF, acidity, sucrose, reducing sugars, insoluble solids, ash and color) and the influence of flowering were evaluated; qualitative and quantitative analysis of the pollen (melissopalynology) was conducted; the effect of storage period (M0, M12, M18) on their characteristics was observed; and the presence of microorganisms and pesticides in honey was researched. Samples of Jandaira honey presented high moisture, an average of 24.4%. Staining was a predominantly clear (white and extra white). There was a predominance of pollen from native plants of the Caatinga biome, such as *Mimosa tenuiflora* and *M. arenosa*, among others and the predominance of unifloral honey. During the storage it was found that moisture and pH reduced, while the HMF, the acidity, and the color increased at the end of the storage period. Regarding to the investigated microorganisms there was contamination by fungi and yeasts, *Clostridium perfringens*, *C. botulinum* type C and different species of *Bacillus*. Contamination was observed by pesticides in 25 honey samples, all in the organophosphates class. The Jandaira honey produced in the semiarid region of Rio Grande do Norte State presented parameters that cannot be compared with existing legislation, and contamination by microorganisms and pesticides. Therefore, we suggest the creation of a normative instruction that addresses the identity and quality of Jandaira honey, which also contemplates the product validity period, acceptable limits of microorganisms and pesticides so that the product offered to the population would have a good quality. In addition to maintaining native flowering and consequent preservation of Jandaira bee, the constant monitoring is necessary to avoid the use of pesticides and deforestation in the areas of Caatinga.

Keywords: Storage. Honey. Stingless bees. Melissopalynology. Microbiological. Pesticide.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos estabelecidos para o mel da abelha *Apis mellifera* e padrões propostos para o mel das abelhas sem ferrão.....33

Tabela 2 - Características físico-químicas do mel das abelhas sem ferrão do Brasil, provenientes de compilação de dados de pesquisas realizadas sobre este assunto, nos anos de 2004 a 2016.....36

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Cores do mel a partir dos valores observados na Escala Pfund.....50

Tabela 2 - Características físico-químicas e de cor do mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes de municípios do Estado do RN, 2013.....53

Tabela 3 – Médias e padrões (legislações) das características físico-químicas das amostras de mel de jandaíra provenientes do semiárido nordestino.....54

CAPÍTULO III

Tabela 1- Origem botânica do mel de abelha jandaíra na Caatinga, Rio Grande do Norte, Brasil. Os dados representam a análise quantitativa das amostras. As letras de A a L representam as localidades das amostras (A: Alto do Rodrigues, B: Barcelona, C: Galinhos, D: Tibau, E: Governador Rosado, F: Jandaíra, G: Mossoró, H: Pau dos Ferros, I: Riachuelo, J: São Francisco do Oeste, K: São Paulo do Potengi, L: Serra do Mel) e os números representam os meliponários amostrados em cada localidade. Em cada amostra, os tipos polínicos predominantes (com ocorrência maior que 45%) foram destacados em cinza. Os tipos polínicos com maior abundância total (A), acima de 4%, foram destacados em negrito. Os tipos polínicos com maiores valores de frequência relativa (Fr) foram destacados em negrito. * plantas com anteras poricidas, as quais disponibilizam apenas pólen para as abelhas. Em localidade R: Rural; U: Urbana.....68

CAPÍTULO IV

Tabela 1- Médias das características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos tempos 0, 12 e 18 meses de estocagem..... 83

Tabela 2 - Correlação de Perarson (r) das características físico químicas do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos diferentes tempos de estocagem.....86

CAPÍTULO V

Tabela 1 - Primers iniciadores e pares de bases utilizados nas PCR para a pesquisa de *Clostridium perfringens*, *C. difficile* e *C. botulinum*.....94

Tabela 2 - Microrganismos pesquisados no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) criadas na região semiárida do Brasil, nos meses de agosto a novembro de 2013.....98

CAPÍTULO VI

Tabela 1 - Níveis de pesticidas detectados no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino.....109

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Distribuição de espécies de abelhas sem ferrão nos diferentes estados brasileiros..30

Figura 2 - Distribuição dos gêneros/subgêneros das abelhas sem ferrão que tiveram seu mel avaliado por diferentes autores de 2004 a 2016.....35

Figura 3 - Percentual de inadequação das amostras do mel das abelhas sem ferrão, com relação à legislação brasileira para o mel de *A. mellifera* e a proposta brasileira para o mel de abelhas nativas, a partir de resultados de trabalhos publicados de 2004 a 2016.....40

CAPÍTULO II

Figura 1 - Percentual de inadequação das características físico-químicas das amostras do mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino brasileiro, em relação à legislação brasileira e ao *Codex Alimentarius*, de agosto a novembro de 2013.....52

Figura 2 - Percentual da distribuição da cor do mel nas amostras de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino de agosto a novembro de 2013.....56

Figura 3 - Influência da zona de procedência (rural ou urbana) das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) e a característica do mel do Estado do RN, 2013.....57

Figura 4 - Influência do pólen predominante na característica de acidez livre no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do Estado do RN, 2013.....58

Figura 5 - Influência do município de procedência, do Estado do RN, das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) em relação à cor e açúcares redutores, 2013.....59

CAPÍTULO III

Figura 1 - Locais de coletas das amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) com identificação dos tipos de pólen predominantes (>45%), de agosto a outubro de 2013, no Bioma Caatinga.....73

Figura 2 - Grãos de pólen predominantes e secundários (A - *Mimosa arenosa*/*Mimosa caesalpinhiifolia*, B - *Mimosa tenuiflora*, C - *Myracrodruon urundeuva*, D - *Pityrocarpa moniliformis*, E - *Borreria verticillata*, F - *Chamaecrista duckeana*; G - *Psidium guajava*, H - *Ziziphus joazeiro*, I – Tipo *Gliricidia sepium* e J - *Waltheria rotundifolia*) observados nas amostras do mel de abelha jandaíra do semiárido do Rio Grande do Norte, agosto a outubro de 2013.....74

CAPÍTULO IV

Figura 1- Médias das características do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos diferentes tempos de análise. (A) Umidade; B) Atividade de água; C) pH; D) Acidez livre; E) HMF (Hidroximetilfurfural); F) Escala Pfund (Cor).....84

Figura 2 - Cores das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) após longo período de estocagem.....85

CAPÍTULO V

Figura 1 - Percentual de microrganismos anaeróbios observados através da PCR (*Clostridium* sp.) e Sequenciamento (*Bacillus*) nas amostras de mel de abelha jandaíra, oriundas do semiárido do RN.....99

Figura 2 - Características microscópicas das colônias de *Bacillus* isoladas do ágar sangue e coradas pela técnica de hematoxilina e eosina. A - *B. cereus*; B - *B. licheniformis* C - *B. subtilis*.....100

CAPÍTULO VI

Figura 1 - Locais de coleta das amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) para pesquisa de resíduos de pesticidas.....106

Figura 2 - Percentual de amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) com pesticidas detectados em desconformidade com as regulamentações nacional e internacional.....111

LISTA DE SIGLAS

° C	Graus Celsius
µL	Microlitro
A	Abundância
Aa	Atividade de água
Ac	Acidez livre
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AQUAVET	Laboratório de doenças de animais aquáticos
AR	Açúcares redutores
ASA	Abelhas semiárido
ASF	Abelhas sem ferrão
Au	Ausente
Bee Lab	Laboratório de Ecologia Comportamental
BHI	Brain Heart Infusion
BOD	Câmara incubadora de demanda bioquímica do oxigênio
BR	Brasil
<i>cbp</i>	Gene da toxina beta <i>C. perfringens</i>
CCD	Desordem do Colapso da Colônia
CdtB	Toxina binária <i>C. difficile</i>
CE	Collision Energy (Energia de colisão)
Cin	Cinzas
CMM	Cooked Meat Medium
<i>cpa</i>	Gene da toxina alfa <i>Clostridium perfringens</i>
<i>cpb2</i>	Gene da toxina beta-2 <i>C. perfringens</i>

<i>cpe</i>	Gene da toxina enterotoxina <i>C. perfringens</i>
CXP	Collision Cell Exit Potential (Potencial de Saída da Cella de Colisão)
Dia	Atividade diastásica
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EC	European Commission
EG	Escala Gothe
ESI	Ionização por eletro spray
<i>etx</i>	Gene da toxina épsilon <i>C. perfringens</i>
EU	European Union
Fr	Frequência relativa
g	Grama
h	Hora
H'	Índice de Shanon-Wiener
HMF	Hidroximetilfurfural
<i>ia</i>	Gene da toxina iota <i>C. perfringens</i>
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IASC	Instituto de Apicultura de Santa Catarina
IDIARN	Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte
IN	Instrução Normativa
JAN	Jandaíra
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
kV	Quilovolt
LANAGRO	Laboratório Nacional Agropecuário
LC	Cromatografia líquida
LIA	Ágar lisina ferro
LIPOA	Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal

LMR	Limite máximo de resíduo
LOD	Limite de Detecção
Log	Logaritmo
LOQ	Limite de Quantificação
M	<i>Melipona</i>
M ₀	Momento zero
M ₁₂	12 meses pós-colheita
M ₁₈	18 meses pós-colheita
Máx	Máximo
Med	Média
mEq	Miliequivalente
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
Mín	Mínimo
min	Minutos
mL	milímetros
mm	milímetros
mmol	Milimol
MO	Mossoró
MRM	Monitoramento de Reações Múltiplas
MS	Espectro de massas
N	Normalidade
Na	Não analisado
NaOH	Hidróxido de sódio
Nd	Não determinado
Nde	Não detectado
nm	Nanômetro

NMP	Número mais provável
PBS	Phosphate buffered saline
PCA	Ágar padrão para contagem
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
PII	Pólen isolado importante
PIO	Pólen isolado ocasional
PNCR	Programa de Controle de Resíduos e Contaminantes de Alimentos
PP	Pólen predominante
ppb	Partes por bilhão
PS	Pólen secundário
PSA	Amina primária-secundária
psi	Paper Spray Ionization
r	Correlação de Pearson
R	Rural
RCM	Reinforced Clostridial Medium
RN	Rio Grande do Norte
RNA	Ácido ribonucleico
Rpm	Rotação por minuto
RT	Regiões tropicais
S	Sul
s.a	Sem ano
Sac	Sacarose
Sc	<i>Scaptotrigona</i>
SFO	São Francisco do Oeste
SI	Sólidos insolúveis
SM	Serra do Mel

SPS	Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina
T	<i>Trigona</i>
TcdA	Toxina A <i>Clostridium difficile</i>
TcdB	Toxina B <i>C. difficile</i>
TE	Tris Edta
TRA	Tempo de Retenção Aproximada
TSI	Ágar triplo açúcar ferro
U	Urbana
UFC	Unidade formadora de colônias
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
UFLC	Cromatógrafo Líquido Ultra Rápido
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
Um	Umidade
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
UV-VIS	Ultravioleta visível
W	Oeste
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	22
REFERÊNCIAS	25
2 OBJETIVOS	28
2.1 Geral	28
2.2 Específicos	28
3 CAPÍTULO I – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO (MELIPONÍNEOS) DO BRASIL: REVISÃO	29
3.1 Introdução	29
3.2 Material e Métodos	30
3.3 Revisão de literatura	30
3.3.1 Abelhas sem ferrão (ASF)	30
3.3.2 Mel	31
3.3.3 Legislação	31
3.4 Resultados e Discussão	34
3.5 Conclusão	40
REFERÊNCIAS	40
4 CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS DO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>) E A INFLUÊNCIA BOTÂNICA	45
4.1 Introdução	45
4.2 Material e métodos	46
4.2.1 Umidade	46
4.2.2 Sólidos Insolúveis	47
4.2.3 Acidez Livre	47
4.2.4 Açúcares redutores	47
4.2.5 Sacarose Aparente	48
4.2.6 Hidroximetilfurfural	48
4.2.7 Atividade de água	49
4.2.8 pH	49
4.2.9 Cinzas	49
4.2.10 Cor	49
4.2.11 Análise polínica	50

4. 2.12 Análise de dados (Estatística).....	50
4.3 Resultados e Discussão	51
4.4 Conclusão	59
REFERÊNCIAS	60
5 CAPÍTULO III - ORIGEM BOTÂNICA DO MEL DA ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>) NA CAATINGA.....	63
5.1 Introdução	63
5.2 Material e Métodos.....	64
5.2.1 Amostras.....	64
5.2.2 Preparação das amostras - Análise polínica	65
5.2.2.1 Acetólise	65
5.2.2.2 Montagem das lâminas	65
5.2.2.3 Análise dos grãos de pólen	65
5.3 Resultados e Discussão	66
5.4 Conclusão	75
REFERÊNCIA.....	75
6 CAPÍTULO IV - ESTOCAGEM DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona</i> <i>subnitida</i>) DO SEMIÁRIDO	80
6.1 Introdução	80
6.2 Material e Métodos.....	80
6.2.1 Análise estatística	81
6.3 Resultados e Discussão	82
6.4 Conclusão	86
REFERÊNCIAS	87
7 CAPÍTULO V – SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>) PRODUZIDO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO	90
7.1 Introdução	90
7.2 Material e Métodos.....	91
7.2.1 Microrganismos aeróbios	91
7.2.2 Microrganismos anaeróbios.....	92
7.2.2.1 Técnica convencional	92
7.2.2.2 Técnica Molecular	93
7.2.2.2.1 Clostrídeos - Extração de DNA e realização da PCR diretamente do caldo CMM ..	93
7.2.2.2.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	93

7.2.2.2.3 <i>Bacillus</i>	95
7.3 Resultados e Discussão	96
7.4 Conclusão	100
REFERÊNCIAS	101
8 CAPÍTULO VI – PESTICIDAS EM MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>) NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO	104
8.1 Introdução	104
8.2 Material e Métodos	105
8.2.1 Amostras	105
8.2.2 Preparo das amostras para avaliação dos pesticidas	105
8.2.2.1 Condições cromatográficas	107
8.2.2.2 Condições de espectrometria de massa	107
8.3 Resultados e Discussão	108
8.4 Conclusão	112
REFERÊNCIAS	112
9 CONCLUSÕES GERAIS	115
APÊNDICE	116
APÊNDICE A – IMAGENS DA A) ABELHA JANDAÍRA; B) MELIPONÁRIOS; C) CORTIÇOS DE <i>Melipona subnitida</i> NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE.	117
APÊNDICE B - INFORMAÇÕES SOBRE AS AMOSTRAS DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA COLETADOS NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO.	118
APÊNDICE C - IMAGENS DAS AMOSTRAS DE MEL SUBMETIDAS AO PROCESSO DE ACETÓLISE: A)AMOSTRAS COM SOLUÇÃO DE ACETÓLISE E BASTÃO DE VIDRO; B)AMOSTRAS COM SOLUÇÃO DE GLICERINA; C) DESCARTE DO SOBRENADANTE PARA COLETA DO PÓLEN.	120
APÊNDICE D – TIPOS POLÍNICOS OBSERVADOS NAS AMOSTRAS DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>), PROVENIENTE DO SEMIÁRIDO NORDESTINO.	121
APÊNDICE E – IMAGENS DA PESQUISA DE MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS: A) INOCULAÇÃO DOS CALDO CMM E RCM; B) CÂMARA DE ANAEROBIOSE; C) CALDO CMM.	125
APÊNDICE F – CONDIÇÕES DO ESPECTROFOTÔMETRO DE MASSAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CADA COMPOSTO PESQUISADO NO MEL DE ABELHA <i>Melipona subnitida</i>.	126
ANEXO.....	131

ANEXO A - PLANTAS DOS GRÃOS DE PÓLEN PREDOMINANTE E SECUNDÁRIO OBSERVADAS NO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (<i>Melipona subnitida</i>) A) <i>Mimosa arenosa/Mimosa caesalpinifolia</i>; B) <i>Mimosa tenuiflora</i>; C) <i>Myracrodruon urundeuva</i>; D) <i>Pityrocarpa moliniformis</i>; E) <i>Borreria verticillata</i>; F) <i>Chamaecrista duckeana</i>; G) <i>Psidium guajava</i>; H) <i>Ziziphus joazeiro</i>; I) <i>Waltheria rotundifolia</i>, Imagens: Michael Hrcir; J) Tipo <i>Gliricidia sepium</i>, Imagem do autor	
.....	132

1 INTRODUÇÃO GERAL

As abelhas pertencem à família *Apidae* e subfamília *Apinae*, havendo separação das diferentes abelhas a partir da distribuição em tribos. Podendo ser classificada em uma das 20 tribos existentes. As abelhas sem ferrão (ASF), ou meliponíneos, estão inseridas na tribo *Meliponini*, a qual apresenta mais de 30 gêneros de abelhas (CAMARGO; PEDRO, 2013).

As ASF são mais observadas em regiões tropicais, como no norte da Austrália, África, sudoeste asiático e na maior parte da América Latina (VILLAS-BÔAS, 2012). Havendo no Brasil mais de 300 espécies, distribuídas em 27 gêneros, principalmente nas regiões Nordeste e Norte (KERR; BUBLITZ FILHO, 1999; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; SOUSA et al., 2013). No bioma Caatinga, que no Brasil localiza-se no semiárido dos estados do Nordeste brasileiro e norte de Minas Gerais, além de algumas partes da América do Sul, a família *Apidae* apresenta 45 gêneros distribuídos em 114 espécies (ZANELLA, 2000; BRASIL, 2016). De acordo com Imperatriz-Fonseca (2012) entre as ASF observadas no semiárido a mais utilizada pelo homem da caatinga são as abelhas jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke).

Koffler et al (2015) ao avaliarem a produção de mel das abelhas jandaíra constataram que a produção anual de mel por colônia variou de 0 a 1,8 litros. Sendo essa afetada negativamente pela divisão da colônia e altas temperaturas do ambiente. Perceberam aumento na produção com a suplementação alimentar e com os altos índices pluviométricos. Verificaram também que as abelhas jandaíra suportam condições extremas de clima. Fato esse corroborado por Maia-Silva et al (2015) que relataram a adaptação das abelhas jandaíra as condições climáticas adversas e a disponibilidade de alimento, através da variação no comportamento das colônias (forrageamento de pólen e produção de cria).

A criação das ASF, chamada meliponicultura, foi inicialmente tida como atividade recreativa, sendo hoje considerada uma atividade produtiva viável (manejo simples, investimento inicial e de manutenção baixo). Além disso, permite o desenvolvimento sustentável da agricultura, através da polinização e conservação da vida nativa (VENTURIERI; RAIOL; PEREIRA, 2003; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006).

A criação da abelha jandaíra tem as vantagens observadas na criação das demais ASF, como: comercialização das colônias, através da sua divisão e a produção de mel (KOFFLER

et al., 2015). O mel produzido pelas ASF apresenta um alto valor comercial, devido ser considerado, tradicionalmente, um produto terapêutico (CÂMARA et al., 2004).

De acordo com Rao et al (2016) ainda existem poucos relatos dos benefícios do mel das ASF, havendo alguns estudos sobre as atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e contra catarata. Os autores propõem a ampliação dos estudos com o mel de ASF para a investigação do potencial biológico e farmacológico, como já existe para alguns tipos de mel (mel de Tualang e mel de Manuka). Alves et al (2012) avaliaram, através de questionário, a crença popular sobre o valor medicinal de animais e/ou alimentos por eles produzidos. Havendo relatos das propriedades do mel das seguintes ASF: *Partamona cupira*, *M. subnitida*, *Tetragonisca angustula* e *Cephalotrigona capitata*, sendo o mel da jandaíra utilizado no combate à dor de garganta, gripe, dor de ouvido e rouquidão.

As abelhas produzem o mel “a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas” (BRASIL, 2000). Sendo seus aspectos avaliados a partir da normas estabelecidas pelas legislações sobre a identidade e qualidade do mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001), porém as mesmas tratam apenas do mel da abelha africanizada (*Apis mellifera*).

Os parâmetros a serem pesquisados no mel são: quanto à maturidade (umidade, açúcares redutores e sacarose aparente), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas e pólen), e deterioração (acidez livre, atividade diastásica e hidroximetilfurfural - HMF), além das características sensoriais (BRASIL, 2000).

De maneira geral, a umidade do mel das ASF é mais alta que a da abelha *A. mellifera* (BIJLSMA et al., 2006). Com relação às demais características existem divergências entre os relatos. O mel das abelhas sem ferrão não apresenta regulamentação nacional nem internacional que permita sua comercialização formal (ALMEIDA-MURADIAN, 2013). A maior dificuldade é devido às variações observadas nas características do mel de acordo com os gêneros desse tipo de abelhas, sendo proposta por alguns autores a divisão das ASF em três gêneros (*Melipona*, *Scaptotrigona* e *Trigona*) (VIT; MEDINA; ENRÍQUEZ, 2004).

Porém, outros fatores, além da espécie de abelha, podem causar variação na composição do mel, como: os ambientais (solo, condições climáticas e tipo de florada visitada) e os de produção (estádio de maturação, processamento e armazenamento) (SILVA; QUEIROZ; FIGUEIREDO, 2004).

O período de estocagem também pode afetar as características do mel, principalmente quando associado as condições de tempo e temperatura, sendo a cor do mel e o hidroximetilfurfural (HMF) as mais comumente alteradas (GONZALES; BURIN, BUERA, 1999; MELO; DUARTE; MATA, 2003).

Já com relação à qualidade do mel, essa pode ser influenciada por problemas de contaminação durante a produção, colheita e processamento. Esta pode ser por diferentes contaminantes, como: microrganismos, pesticidas, metal pesado e material radioativo (AL-WAILI et al., 2012).

Embora o mel de *Apis* não seja um alimento ideal para o desenvolvimento de microrganismos, devido à baixa atividade de água e a presença de componentes com propriedades antibacterianas, como o peróxido de hidrogênio, há relatos de contaminação por fungos e bactérias formadoras de esporos (SNOWDON; CLIVER, 1996). Estudos mostram que a presença de fungos e leveduras trazem efeitos positivos para as colônias de ASF (MENEZES et al., 2015; ROSA et al., 2003). As pesquisas microbiológicas no mel das ASF ainda são raras.

Outro problema para o mel de jandaíra pode ser o uso descontrolado de pesticidas, para aumentar a produtividade agrícola, que pode causar prejuízos ao ambiente, espécies animais e seres humanos (AL-WAILI et al., 2012), pois podem levar a morte de abelhas e atingir a população humana e animal, já que a polinização pode reduzir e consequentemente afetar a quantidade de alimentos ofertados, além da possibilidade de contaminar o ambiente (água e solo) e alimentos, como o mel. Para controlar esse tipo de contaminação, no Brasil, existe o programa de controle de resíduos e contaminantes de alimentos – PNCR, que é aplicado entre outros produtos ao mel (BRASIL, 2007).

Diante do exposto, verificou-se a necessidade de realizar uma pesquisa sobre o mel das ASF. E realizar uma ampla investigação sobre a qualidade do mel da abelha jandaíra (*M. subnitida*).

No capítulo I verifica-se uma compilação de vários trabalhos, publicados entre 2004 a 2016, sobre as características físico-químicas e cor do mel das ASF.

O capítulo II trata-se das características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra produzido no semiárido nordestino, como também da influência botânica nessas características. Já no capítulo III pesquisou-se sobre os tipos polínicos coletados pela abelha

jandaíra no semiárido nordestino. No capítulo IV avaliou-se a influência de diferentes períodos de estocagem sobre as características do mel de abelha jandaíra.

Nos capítulos V e VI verifica-se análises microbiológicas e a pesquisa de pesticidas no mel de abelha jandaíra, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. da S. de; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Tecnology**, v. 48, n. 8, 1698-1706, 2013.
- ALVES, R. R. N.; SOUSA NETA, R. O. de; TROVÃO, M. de B. M.; BARBOSA, J. E. de L.; BARROS, A. T.; DIAS, T. L. P. Traditional uses of medicinal animals in the semi-arid region of northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 8, p. 41-47, 2012. Disponível em: < <http://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-8-41> >. Acesso em: 15 nov. 2015.
- AL-WAILI, N.; SALOM, K.; AL-GHAMDI, A.; ANSARI, M. J. Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards. **The ScientificWorld Journal**, v. 2012, Article ID 930849, 9 pages. 2012. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/930849/> >. Acesso em: 15 nov. 2015.
- BIJLSMA, L.; BRUIJN, L. L. M. de; MARTENS, E. P.; SOMMEIJER, M. J. Water content of stingless bee honeys (*Apidae*, *Meliponini*): interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 37, n. 4, p. 480-486, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm >. Acesso em: 22 abr. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 9, de 30 de março de 2007. Aprovar os Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado do exercício de 2007**. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/IN%2009-2007.pdf >. Acesso em: 20 jul. 2015.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Caatinga**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>>. Acesso em: 4 de out. 2016.
- CÂMARA, J. Q.; SOUSA, A. H. de; VASCONCELOS, W. E. de; FREITAS, R. da S.; MAIA, P. H. S.; ALMEIDA, J. C. de; MARACAJÁ, P. B. Estudos de meliponíneos, com

ênfase a *Melípona subnitida* D. no município de Jandaíra, RN. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Sergipe, v. 4, n. 1, jan./jul. 2004.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. 2013>. Acesso em: 19 out. 2016.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standard for honey. **CODEX STAN 12-19811**. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.org/committees-task-forces/?provide=committeeDetail&idList=18>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D. W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, G. C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

GONZALES, A. P.; BURIN L.; BUERA M. DEL P. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. **Food Research International**, v. 32, n. 3, p. 185-191, 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. As flores e as abelhas. In: MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. DA; HRNCIR M.; QUEIROZ R. T. DE; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**. Fortaleza: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. p. 10-11.

KERR, W. E.; BUBLITZ FILHO, A. Meliponíneos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 8, p. 22-23, jan./fev., 1999.

KOFFLER, S.; MENEZES, C.; MENEZES, P. R.; KLEINERT, A. DE M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; POPE, N.; JAFFÉ R. Temporal Variation in Honey Production by the Stingless Bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): Long-Term Management Reveals its Potential as a Commercial Species in Northeastern Brazil. **Journal of Economic Entomology Advance**, v. 108, n. 3, p. 858-867, 2015.

MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M.; SILVA, C. I. da; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, n. 5, p.631–643, 2015.

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

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; MARSAIOLI, A. J.; ZAMPIERI, D.; FONTOURA, I. C.; LUCHESSI, A. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A brazilian social bee must cultivate fungus to survive. **Current Biology**, v. 25, n. 21, p. 2851-2855, 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**, Curitiba, v. 26, n. 5, p. 657-664, set./out., 2016.

ROSA, C. A.; LACHANCE, M-A.; SILVA, J. O. C.; TEIXEIRA, A. C. P.; MARINI, M. M.; ANTONINI, Y.; MARTINS, R. P. Yeast communities associated with stingless bees. **FEMS Yeast Research**, v. 4, n. 3, p. 271-275, 2003.

SILVA, C. L. da; QUEIROZ, A. J. de M.; FIGUEIREDO, R. M. F. de. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.8, n. 2/3, p. 260-265, maio/dez., 2004.

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

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

VENTURIERI, G. C.; RAIOL, V. F. O.; PEREIRA, C. A. B. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança-PA, Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 1-7, jul./dez., 2003.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico**: Mel de Abelhas sem Ferrão. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza. Brasil, 2012. 96 p. il.

VIT, P; MEDINA, M; ENRIQUEZ, M. E. Quality Standards for Medicinal Uses of Meliponinae Honey in Guatemala, Mexico Na Venezuela. **Bee world**, v. 85, n. 1, p. 2-5, 2004.

ZANELLA, F. The bees of the Caatinga (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes): a species list and comparative notes regarding their distribution. **Apidologie**, v. 31, p. 579-592, 2000.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar o mel de abelha jandaíra (*M. subnitida* Ducke) produzido no Estado do Rio Grande do Norte.

2.2 Específicos

- a) Determinar a composição do mel de abelha jandaíra do Estado do Rio Grande do Norte e verificar a influência botânica sobre as características do mel;
- b) Realizar a análise de melissopalinologia (estudo dos grãos de pólen) do mel de abelha jandaíra do Estado do Rio Grande do Norte;
- c) Avaliar as características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra do Estado do Rio Grande do Norte, durante a estocagem;
- d) Avaliar a qualidade microbiológica do mel de abelha jandaíra produzido no Estado do Rio Grande do Norte;
- e) Investigar a presença de pesticidas no mel de abelha jandaíra produzido no do Estado do Rio Grande do Norte.

3 CAPÍTULO I – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO (MELIPONÍNEOS) DO BRASIL: REVISÃO

3.1 Introdução

De acordo com Contrera, Menezes e Venturieri (2011) a meliponicultura, criação de abelhas sem ferrão (ASF), era considerada uma atividade de lazer. No entanto atualmente tornou-se uma atividade produtiva viável e rentável, especialmente para os agricultores de baixa renda. As ASF são encontradas em regiões de clima tropical, e no Brasil, são mais frequentes nas regiões Norte e Nordeste (VILLAS-BÔAS, 2012; SOUSA et al., 2013).

Existem várias espécies de ASF, que produzem mel, porém sua comercialização é limitada, pois as legislações que tratam da identidade e qualidade do mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001), que determinam as características físico-químicas (umidade, açúcares redutores, cinzas, sacarose, hidroximetilfurfural, sólidos insolúveis, acidez livre e atividade diastásica) do mel não consideram as particularidades do mel dessas abelhas. De acordo Marchini, Geni e Moreti (2004) essas análises contribuem na fiscalização, além de serem fundamentais no controle da qualidade do produto comercializado, protegendo o consumidor de adquirir um alimento adulterado.

O mel de ASF, mesmo sem adulteração, apresenta características distintas daquelas observadas no mel das abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). De acordo com alguns trabalhos (SOUZA et al., 2004a; EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005; ALVES et al., 2011; OLIVEIRA; SANTOS, 2011; HOLANDA et al., 2012; MONTE et al., 2013; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; SILVA et al., 2013; SOUSA et al., 2013) o principal parâmetro que não é atendido pelo mel das abelhas nativas é a umidade, que na maioria das vezes é superior aos 20% recomendado pelas legislações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001), porém existem estudos que mostram outros critérios que devem ser revistos para o mel destas abelhas (ALVES et al., 2011; HOLANDA et al., 2012; MONTE et al., 2013; OLIVEIRA; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2013).

Para facilitar a compreensão das características do mel das ASF e corroborar com pesquisas sobre essas abelhas, elaborou-se uma revisão, através da compilação de dados de trabalhos publicados.

3.2 Material e Métodos

Para elaboração desta revisão realizou-se ampla pesquisa em sistema de busca (google acadêmico) e nas bases de dados (Science direct e Scientific Electronic Library Online - Scielo), sendo utilizados os seguintes descritores para pesquisar os artigos: mel; abelhas sem ferrão; mel de abelhas nativas sem ferrão; meliponíneos; características do mel de abelhas sem ferrão; características físico-químicas do mel e características físico-químicas do mel das abelhas sem ferrão.

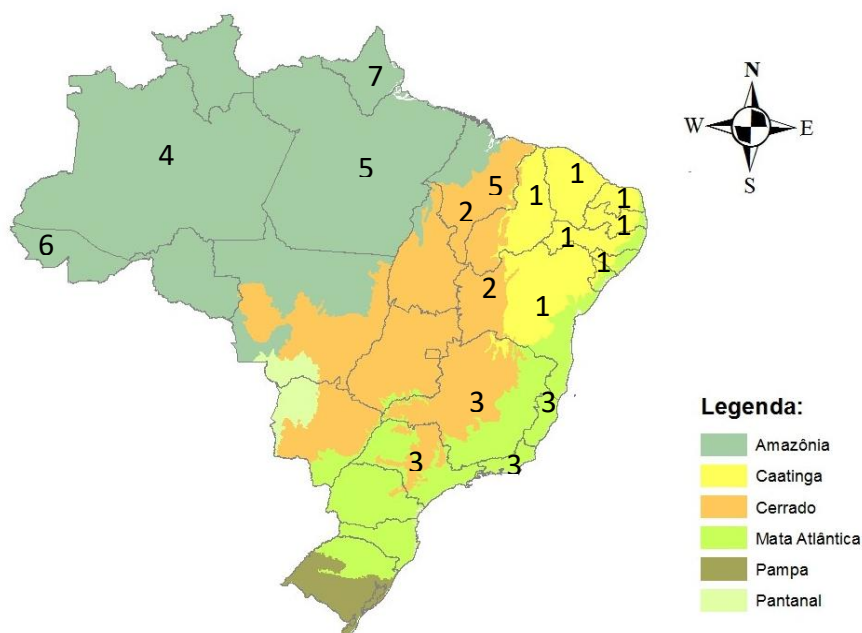
Os dados utilizados para elaboração da tabela das características físico-químicas do mel das ASF do Brasil foram obtidos de 20 trabalhos, publicados entre os anos de 2004 a 2016.

3.3 Revisão de literatura

3.3.1 Abelhas sem ferrão (ASF)

As ASF, ou meliponíneos, são mais observadas em regiões tropicais do mundo, como norte da Austrália, África, sudoeste asiático e na maior parte da América Latina (VILLAS-BÔAS, 2012). No Brasil, as regiões Nordeste e Norte concentram as maiores ocorrências dessas abelhas (SOUSA et al., 2013), havendo mais de 300 espécies de ASF distribuídas em 27 gêneros (KERR; BUBLITZ FILHO, 1999; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). Na figura 1 observa-se a distribuição de algumas espécies de ASF no Brasil.

Figura 1 - Distribuição de espécies de abelhas sem ferrão nos diferentes estados brasileiros.



1 *Melipona subnitida*, *Melipona asilvai* e *Scaptotrigona* sp; 2 *Friseomelitta varia*, *Melipona rufiventris*, *Scaptotrigona* spp., *Melipona mandacaia*; 1 e 3 *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Melipona quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*; 4 *Melipona compressipes manaoensis*, *Melipona seminigra merrillae* e *Melipona rufiventris paraenses*; 5 *Friseomelitta* sp., *Melipona compressipes fasciculata*, *Melipona compressipes manaoensis*, *Melipona rufiventris flavolineata*, *Melipona melanoventer*, *Melipona seminigra pernigra*, *Melipona seminigra* (Tapajós sub sp.), *Scaptotrigona nigrohirta*, *Tetragona clavipes* e *Tetragonisca angustula*. 6 *Melipona crinita*, *Melipona eburnea fuscopilosa*, *Melipona flavolineata*, *Melipona grandis* e *Tetragonisca weyrauchi* e 7 *Melipona compressipes fasciculata* e *Melipona fulva*.

Mapa (Fonte: IBGE, adaptado SFB, 2016), Informações adaptadas de Cortopassi-Laurino et al., 2006.

As ASF nidificam na natureza, em ocos de árvores, fendas de rochas, cavidades no solo e ninhos de formigas e cupins (SOUZA et al., 2009). Porém, as alterações do seu habitat devido ao desmatamento, uso indiscriminado de agrotóxico, entre outros, tem causado a extinção dessas abelhas. Por outro lado, a criação racional em cortiços poderá reduzir ou mitigar esse problema, principalmente se associado ao maior controle das causas da diminuição/eliminação da população das abelhas (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

3.3.2 Mel

O mel é descrito como o alimento “produzido pelas abelhas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia” (BRASIL, 2000). Para o mel das ASF deve-se substituir as palavras “favos da colmeia” por “potes da colônia”.

Nos últimos anos o consumo do mel tem aumentado significativamente em todo o mundo, em virtude da busca pelo consumo de produtos naturais, como também devido ao aumento nos padrões de vida (BERTOLDI, 2008). Entre os méis comercializados têm-se o da abelha africanizada (*A. mellifera*) e de ASF (*Meliponini*). O mel das ASF é bastante apreciado, sendo utilizado até com fins medicinais, nas áreas onde são produzidos (LIRA et al., 2014). De acordo com Rao et al (2016) estudos com mel de ASF mostram atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e contra catarata. Os autores recomendam mais estudos com o mel dessas abelhas, para investigar se ainda existem mais benefícios, como os citados para o mel de Manuka.

3.3.3 Legislação

As legislações sobre a identidade e qualidade do mel (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; MERCOSUL, 1999) tratam apenas do mel da abelha africanizada (*A. mellifera*), tornando-se um problema para os meliponicultores interessados em comercializar seu produto, já que esse apresenta características diferentes do estabelecido pela regulamentação. De acordo com a legislação brasileira vigente, os parâmetros a serem pesquisados são: quanto à maturidade (umidade, açúcares redutores e sacarose aparente), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas e pólen), e deterioração (acidez livre, atividade diastásica e hidroximetilfurfural - HMF), Tabela1 (BRASIL, 2000).

Quanto as características de maturidade, a umidade deve ser avaliada no mel, já que se for elevada (> 20%), o risco de fermentação do produto é maior, caso haja contaminação. Portanto são necessários cuidados para evitar a contaminação do mel durante a manipulação e armazenamento (SOUZA et al., 2004a). Os açúcares redutores do mel são representados pela glicose e frutose sendo esses relacionados aos aspectos de viscosidade, doçura e cristalização do mel (ALVES et al., 2005). Já o teor de sacarose aparente está relacionado a transformação da sacarose em glicose e frutose pela ação da enzima invertase. Portanto valores elevados de sacarose são relacionados a coleta prematura do mel (AZEREDO; AZEREDO; DAMASCENO, 1999).

Os parâmetros de pureza estão relacionado à presença de elementos que podem ter contaminado o mel, durante sua produção. Os sólidos insolúveis no mel relaciona-se com os resíduos (cera, patas e asas de abelhas) que podem “contaminar” o mel, durante a coleta e beneficiamento, assim como os hábitos das abelhas (SILVA et al., 2006; VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005). As cinzas do mel refletem os minerais contidos no produto, sendo a sua quantidade e variedade influenciada pelos aspectos ambientais (solo), geográficos e botânicos no qual o mel foi produzido (CHAVES; GOMES; COSTA, 2012; FINOLA; LASAGNO. MARIOLI, 2007).

A qualidade do mel é relacionada principalmente aos parâmetros de deterioração. A acidez livre do mel é relacionada com a produção do ácido glucônico, causada pela ação da enzima glicose-oxidase sobre a glicose, além das lactonas, estéres e alguns íons inorgânicos, como o fosfato (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007), porém essa pode ser alterada pela presença de microrganismos. A atividade diastásica é influenciada pela origem geográfica e floral do produto. Podendo ser alterada (elevada) sob condições de armazenamento longo ou elevadas temperaturas (FALLICO et al., 2006). O hidroximetilfurfural (HMF) pode ser

formado pela desidratação das hexoses causada por meio ácido (BELITZ; GROSCH, 1992), sendo sua formação acelerada durante estocagem inadequada, ou superaquecimento (MELO; DUARTE; MATA, 2003; ALMEIDA-MURADIAN; STRAMM; ESTEVINHO, 2014). Existindo relatos sobre a toxicidade atribuída ao 5-HMF (BILUCA et al., 2014).

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos estabelecidos para o mel da abelha *Apis mellifera* e padrões propostos para o mel das abelhas sem ferrão.

Parâmetros	<i>Apis mellifera</i> (IN n°11/2000) ¹	<i>Apis mellifera</i> (CODEX STAN 12-19811, 2001) ²	Abelhas sem ferrão (Brasil) ³	<i>Melipona</i> (M)/ <i>Scaptotrigona</i> (Sc)/ <i>Trigona</i> (T) (Guatemala, México e Venezuela) ⁴
Umidade (%)	Máx. 20,0	Máx. 20%*	Máx. 35,0	Máx. 30,0
Açúcares redutores g/100g	Mín. 65,0	Mín. 60,0*	Mín. 50,0	Mín. 50,0
Sacarose g/100g	Máx. 6,0	Máx. 5,0	Máx. 6,0	Máx. 6,0 Máx. 2,0 (Sc)
Sólidos Insolúveis (%)	Máx. 0,1	Máx. 0,1	Máx. 0,4	Nd
Cinzas (%)	Máx. 0,6	Nd	Máx. 0,6	Máx. 0,5
Acidez livre (mEq/kg)	Máx. 50,0	Máx. 50,0	Máx. 85,0	Máx. 70,0 (M)/ Máx. 85,0 (Sc)/ Máx. 75,0 (T)
Atividade diastásica (EG)	Mín. 8,0 Mín. 3,0*	Mín. 8,0 Mín. 3,0*	Mín. 3,0	Mín. 3,0/ Mín. 7,0 (T)
HMF (mg/kg)	Máx. 60,0	Máx. 40/ Máx. 80 (RT)	Máx. 40,0	Máx. 40,0

Máx. - Máximo; Mín. - Mínimo; Nd - não determinado * - particularidades, RT- regiões tropicais.

Fonte: ¹Brasil (2000); ²Codex Alimentarius (2001); ³Villas-Bôas e Malaspina (2005); ⁴Vit, Medina e Enriquez (2004).

De acordo com vários autores, tanto a legislação brasileira, quanto a internacional, não são adequadas para avaliar ou fiscalizar todas as características do mel de meliponíneos (VIT; MEDINA; ENRÍQUEZ, 2004; VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005). Vit, Medina e Enríquez (2004), sugeriram, ainda, dividir as ASF em três gêneros, (*Melipona*, *Scaptotrigona*

e *Trigona*) para elaboração de uma legislação específica para cada um desses grupos. Por isso, esses autores propuseram novos valores para os parâmetros deste mel (Tabela 1).

Portanto verifica-se que há diferenças dos valores dos parâmetros dentro da mesma espécie (*A. mellifera*) de locais distintos e as divergências são maiores entre as legislações existentes para a *Apis* e as propostas para o mel das abelhas sem ferrão (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; VIT; MEDINA; ENRIQUEZ, 2004; VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005). De maneira geral para o mel das ASF há propostas de aumento para a umidade, sólidos insolúveis e acidez livre. Já para açúcares redutores, atividade diastásica e HMF as propostas são para redução dos valores. Existem também particularidades devido ao gênero da abelha ou condições de produção (Tabela 1).

3.4 Resultados e Discussão

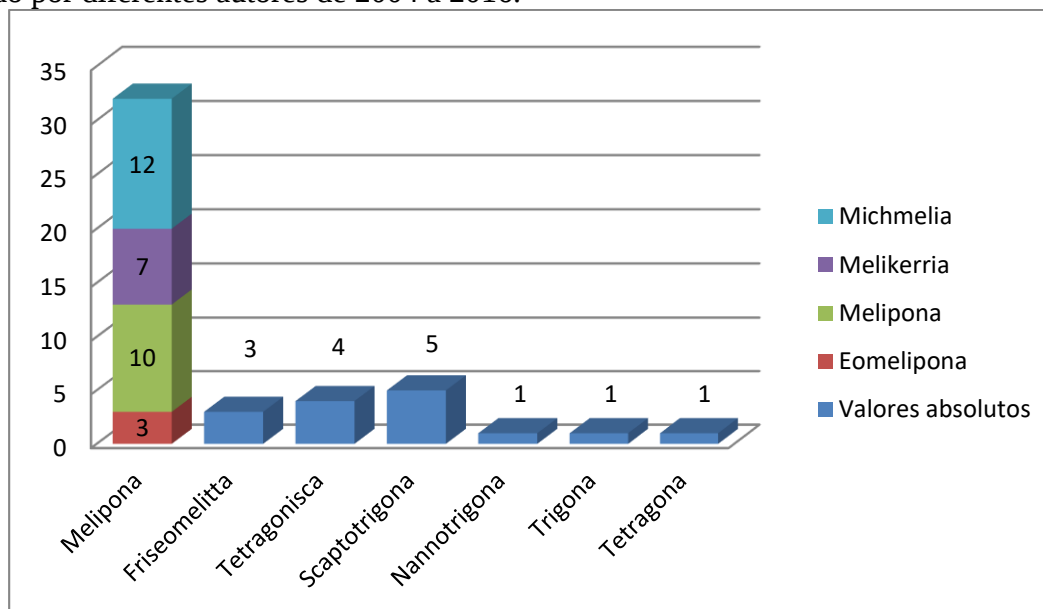
Nos trabalhos analisados (20) verificou-se que 24 espécies de abelhas sem ferrão tiveram seu mel avaliado, sendo algumas relatadas em mais de um trabalho, como a *Melipona compressipes*, *Melipona rufiventris*, *Melipona seminigra*, *Melipona scutellaris*, *Melipona subnitida*, *Melipona quadrifasciata*, *Tetragonisca angustula*, *Scaptotrigona* Sp e *Scaptotrigona bipunctata* totalizando 47 amostras (médias) avaliadas. O gênero *Melipona* pode ser subdividido em 4 subgêneros (*Michmelia*, *Melikerria*, *Melipona* e *Eomelipona*) (CAMARGO; PEDRO, 2013). A partir dos trabalhos avaliados elaborou-se a distribuição das ASF que tiveram suas amostras de mel avaliadas (Figura 2).

Ao avaliar os trabalhos sobre as características físico-químicas do mel das ASF (Tabela 2) verificasse que o parâmetro umidade é um fator limitante para que esse mel atinja os requisitos da legislação. Além desse, percebesse, em alguns trabalhos, que os açúcares redutores, sólidos insolúveis, acidez livre e atividade diastásica também podem interferir no atendimento aos padrões da legislação do mel. De acordo com Costa et al (2013) a umidade do mel depende da origem floral e a espécie da abelha que o produz.

Mesmo com resultados fora do recomendado pela legislação, os autores são unânimes em recomendar o consumo do mel das ASF. Alguns apenas indicam o cuidado durante a manipulação (coleta e no processo de armazenamento) para reduzir a contaminação microbiana. Como também, o processamento do mel através da desumidificação, para que a umidade reduza e o risco de fermentação diminua. Porém, existem divergências quanto aos

efeitos desse processamento, pois segundo Chaves, Gomes e Costa (2012) o sabor do mel não é alterado, já para Sodré et al (2008) que avaliaram o mel sem tratamento e tratado (pasteurização e desumidificação) não houve mudança no sabor, cristalização e aceitabilidade.

Figura 2 - Distribuição dos gêneros/subgêneros das abelhas sem ferrão que tiveram seu mel avaliado por diferentes autores de 2004 a 2016.



Os dados compilados sobre as características físico-químicas do mel de diferentes espécies de abelhas sem ferrão, obtidos nos trabalhos analisados, estão na Tabela 2.

Alguns trabalhos que avaliaram a atividade diastásica não verificaram valores, e de acordo com os autores, isso não indica adulteração do produto. E sim, que o mel das ASF apresenta essa peculiaridade, portanto eles afirmam que esse parâmetro não é tão importante para as abelhas nativas como para as abelhas africanizadas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; OLIVEIRA; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2013).

Nos trabalhos que pesquisaram a atividade da água (Aa) no mel de ASF essa variou de 0,65 a 0,75 (ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA; BASTOS, 2007; MONTE et al., 2013; SILVA et al., 2013; COSTA et al., 2013). O mel das ASF apresenta Aa baixa, água livre no alimento, o que dificulta o desenvolvimento de microrganismos.

Tabela 2 - Características físico-químicas do mel das abelhas sem ferrão do Brasil, provenientes de compilação de dados de pesquisas realizadas sobre este assunto, nos anos de 2004 a 2016.

Espécies de abelhas sem ferrão	Um %	AR g/100g	Sac g/100g	HMF mg/Kg	pH	Ac mEq/kg	Dia EG	Cin %	SI %	Autor/Ano
<i>Melipona asilvai</i>	29,5	68,89	4,70	2,44	3,27	41,64	Na	Na	Na	Souza et al., 2004a
<i>Melipona compressipes manaosensis</i>	30,7	68,3	Na	Na	Na	Na	Na	0,21	Na	Souza et al., 2004b
<i>Melipona compressipes manaosensis</i>	26,7	60,40	0,15	Na	3,74	23,88	Na	Na	Na	Almeida-Muradian; Matsuda e Bastos, 2007
<i>Melipona compressipes</i>	24,0	50,13	1,45	3,14	3,15	145,28	Na	0,10	0,29	Alves et al., 2011
<i>Melipona compressipes</i>	26,0	Na	Na	35,8	3,66	85,0	Na	Na	Na	Monte et al., 2013
<i>Melipona compressipes fasciculada</i>	29,6	52,70	5,4	Na	4,10	Na	Na	0,10	Na	Souza et al., 2013
<i>Melipona rufiventris paraenses</i>	23,9	75,5	Na	Na	Na	Na	Na	0,2	Na	Souza et al., 2004b
<i>Melipona rufiventris mondory</i>	27,7	65,6	<0,074	<0,31	4,21	38,2	<3	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona seminigra merrillae</i>	27,0	72,4	Na	Na	Na	Na	Na	0,3	Na	Souza et al., 2004b
<i>Melipona seminigra merrillae</i>	30,4	61,49	0,18	Na	3,78	26,54	Na	Na	Na	Almeida-Muradian; Matsuda e Bastos, 2007
<i>Melipona scutellaris</i>	25,3	Na	Na	18,92	4,66	28,33	Na	0,17	0,01	Evangelista-Rodrigues et al., 2005
<i>Melipona scutellaris</i>	23,0	51,23	3,51	38,08	3,25	26,93	Na	0,03	0,05	Alves et al., 2011
<i>Melipona scutellaris</i>	25,1	Na	Na	55,0	3,69	83,0	Na	Na	Na	Monte et al., 2013

<i>Melipona scutellaris</i>	35,4	49,80	5,3	Na	4,10	Na	Na	0,10	Na	Sousa et al., 2013
<i>Melipona scutellaris</i>	23,4	62,7	<0,074	<0,31	4,52	28,7	<3	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona scutellaris</i>	25,5	96,48	2,38	Nd	3,83	Na	Na	0,2	Na	Sousa et al., 2016
<i>Melipona mandacaia</i>	28,8	74,82	2,91	5,79	3,27	43,48	Na	Na	Na	Alves et al., 2005
<i>Melipona bicolor</i>	34,7	60,14	<0,074	<0,31	3,77	91,62	<3	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona subnitida</i>	27,0	61,17	0,78	8,64	3,67	20,55	Na	0,03	0,02	Alves et al., 2011
<i>Melipona subnitida</i>	26,4	Na	Na	47,9	2,51	52,0	Na	Na	Na	Monte et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	24,8	50,97	4,86	7,56	Na	32,49	Nd	0,02	Na	Almeida-Muradian et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	23,2	57,68	Na	13,67	3,34	41,58	Na	0,07	Na	Silva et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	31,1	52,60	3,7	Na	4,40	Na	Na	0,20	Na	Sousa et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	25,9	Na	Na	Na	3,27	Na	Na	Na	Na	Costa et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	26,4	97,11	1,85	Nd	3,95	Na	Na	0,2	Na	Sousa et al., 2016
<i>Melipona quadrifasciata</i>	28,1	52,80	6,6	Na	3,80	Na	Na	0,58	Na	Sousa et al., 2013
<i>Melipona quadriasciata</i>	32,5	61,77	<0,074	<0,31	3,71	42,53	~4,29	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona marginata</i>	32,7	63,5	<0,074	<0,31	3,67	79,82	<3,0	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona mondury</i>	29,8	67,45	<0,074	<0,31	5,19	61,1	~8,2	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Melipona fasciculata</i>	23,8	60,68	2,65	27,38	3,60	31,88	1,43	0,21	0,02	Holanda et al., 2012
<i>Melipona fulva</i>	30,9	Na	Na	448,4	2,87	0,105	Na	1,36	Na	Chaves, Gomes e Costa, 2012

<i>Melipona quinquefasciata</i>	28,8	64,00	5,8	Na	3,50	Na	Na	0,10	Na	Sousa et al., 2013
<i>Tetragonisca angustula</i>	24,4	55,46	0,95	9,39	4,10	45,23	32,28	0,39	Na	Anacleto et al., 2009
<i>Tetragonisca angustula</i>	25	53,0	Nd	55,6	4,2	69,06	Nd	0,36	2,86	Oliveira; Ribeiro; Oliveira, 2013
<i>Tetragonisca angustula</i>	29,0	63,45	3,96	1,93	4,13	71,68	Na	Na	Na	Lira et al., 2014
<i>Tetragonisca angustula</i>	23,8	63,75	<0,074	<0,31	4,78	41,15	~26,3	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Tetragona clavipes</i>	25,2	48,6	<0,074	<0,31	4,28	91,2	19,1	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Trigona fuscipennis</i>	34,4	56,6	<0,074	<0,31	3,44	46,7	<3	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Scaptotrigona</i> sp	28,3	46,30	1,5	Na	5,10	Na	Na	0,30	Na	Sousa et al., 2013
<i>Scaptotrigona</i> sp	27,2	54,88	6,33	2,94	3,66	81,01	Na	Na	Na	Lira et al., 2014
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	24,0	62,95	<0,074	<0,31	4,48	48,95	~3,62	Na	Na	Biluca et al., 2016
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	24,7	60,01	4,65	4,85	3,97	38,57	Na	0,83	0,27	Oliveira e Santos, 2011
<i>Scaptotrigona depilis</i>	>25	65,3	Nd	27,8	3,4	98,43	Nd	0,18	1,97	Oliveira; Ribeiro; Oliveira, 2013
<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	34,7	42,20	10,2	Na	5,00	Na	Na	0,60	Na	Sousa et al., 2013
<i>Friseomelitta varia</i>	19,6	67,62	11,93	Na	3,98	1,77	Na	Na	Na	Silva et al., 2009
<i>Friseomelitta flavicornis</i>	27,9	49,70	5,9	Na	3,50	Na	Na	0,30	Na	Sousa et al., 2013
<i>Friseomelitta doederleini</i> F.	17,3	49,10	5,1	Na	3,50	Na	Na	1,10	Na	Sousa et al., 2013
Médias	27,2	60,96	2,79	26,4	3,86	51,83	7,31	0,32	0,69	

Mínimo	17,3	42,20	Nd	0	2,51	0,105	Nd	0,02	0,01
Máximo	35,4	97,11	11,93	448,4	5,10	145,28	32,28	1,36	2,86

Um-Umidade; AR-Açúcares redutores; Sac-Sacarose; HMF-Hidroximetilfurfural; Ac-Acidez livre; Dia-Atividade diastásica; Cin-Cinzas; SI-Sólidos insolúveis; Na- não analisado; Nd – não detectado. Valores em negrito estão em desacordo com a legislação de mel (BRASIL, 2000). Para cálculo das médias foram considerados os valores >25- 26; Nd – 0; <0,074 – 0,073; <0,31 – 0,3; < 3- 2,9.

Ao comparar os valores das médias gerais das características físico-químicas (Tabela 2) com a legislação brasileira para o mel de *A. mellifera* (BRASIL, 2000) verifica-se desacordo dos valores de umidade, açúcares redutores, acidez livre e sólidos insolúveis. A umidade só esteve abaixo de 20% nas amostras de mel das espécies *Friseomelitta varia* e *Friseomelitta doederleini*. Com relação aos açúcares redutores estiveram de acordo onze amostras de mel de abelhas sem ferrão. A sacarose foi maior no mel das espécies *M. quadrifasciata*, *Scaptotrigona* sp, *Nannotrigona testaceicornis* e *F. varia*. Já a acidez livre foi maior em doze amostras de mel de abelhas sem ferrão. Valores maiores de cinzas foram observados no mel de *Melipona fulva*, *Scaptotrigona bipunctata* e *F. doederleini*. Embora não seja exigido pela legislação foi observado em alguns trabalhos o pH dos méis variando de 2,51 a 5,10.

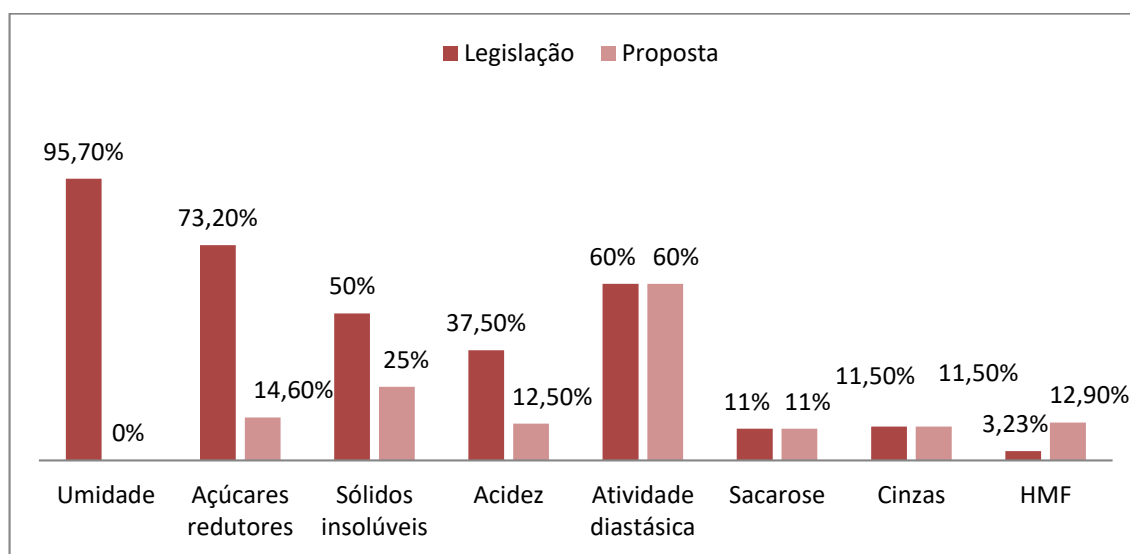
Fazendo uma comparação dos valores das médias gerais (Tabela 2) com as propostas para as abelhas sem ferrão (VILLAS-BÔAS; MALASPINA 2005) verifica-se que a todos os parâmetros estariam de acordo (umidade, açúcares redutores, sacarose, HMF, acidez livre, atividade diastásica e cinzas), com exceção dos sólidos insolúveis. Alguns autores relatam que a atividade diastásica não é adequada para avaliação do mel de ASF.

Na Figura 3 pode-se observar a porcentagem de amostras que estariam fora do padrão estabelecido pela legislação e a proposta para o mel de abelhas sem ferrão. Neste sentido, o percentual elevado de inadequação observada para sólidos insolúveis e atividade diastásica não deverá ser tida como regra no mel das ASF, pois estes parâmetros foram avaliados em poucas amostras, oito e 15, respectivamente. Porém o percentual maior em desacordo para o HMF em relação à proposta do que a legislação existente merece maior reflexão, se realmente na proposta para a regulamentação do mel de abelhas sem ferrão deve haver a redução para os 40mg/Kg.

Dos trabalhos avaliados, dez pesquisaram a cor do mel das abelhas sem ferrão, através desses foi possível verificar ampla variação da cor, do branco d'água ao âmbar escuro, porém

pode-se constatar que boa parte do mel era claro (ALVES et al., 2005; SILVA et al., 2009; ANACLETO et al., 2009; ALVES et al., 2011; HOLANDA et al., 2012; MONTE et al., 2013; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; SOUSA et al., 2013; LIRA et al., 2014; SOUSA et al., 2016).

Figura 3 - Percentual de inadequação das amostras do mel das abelhas sem ferrão, com relação à legislação brasileira para o mel de *A. mellifera* e a proposta brasileira para o mel de abelhas nativas, a partir de resultados de trabalhos publicados de 2004 a 2016.



Legislação (BRASIL, 2000); Proposta (VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005).

3.5 Conclusão

No Brasil pode-se observar grande quantidade de abelhas sem ferrão, e o mel dessas apresenta de maneira geral elevados valores de umidade e sólidos insolúveis, porém valores mais baixos são observados para açúcares redutores e atividade diastásica, ao compara-se com o mel de *Apis mellifera*. Portanto, se no futuro for criada uma instrução normativa específica para o mel das ASF se faz necessária atenção às particularidades do mel dessas abelhas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; MATSUDA, A. H.; BASTOS, D. H. M. Physicochemical parameters of Amazon Melipona honey. **Química nova**, São Paulo, 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.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. da S. de; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*.

International Journal of Food Science and Tecnology, v.48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.

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

ALVES, T. T. L.; MENESES, A. R. V. de; SILVA, J. N.; PARENTE, G. D. L.; HOLANDA NETO, J. P. de. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Pombal, v. 6, n. 3, p. 91-97, set./dez., 2011.

ANACLETO, D. de A.; SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. de C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 535-541, jul./set., 2009.

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

BELITZ, H.; GROSCHE, W. Química de los alimentos. 2ª ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A., 1992.

BERTOLDI, C. R. C. Meliponicultura uma alternativa sustentável. **Embrapa**. Agosto de 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2008/agosto/2a-semana/meliponicultura-uma-alternativa-sustentavel>>. Acesso em: 12 ago. 2009.

BILUCA, F. C.; BETTA, F. D.; OLIVEIRA, G. P. de; PEREIRA, L. M.; GONZAGA, L. V.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 1590, p. 244-249, 2014.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm>. Acesso em: 22 abr. 2012.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. 2013>. Acesso em: 11 nov. 2015.

CHAVES, A. F. A. C.; GOMES, J. E. H.; COSTA, A. J. S. da. Caracterização físico-química do mel de *Melipona fulva* Lepeletier, 1836 (Himenoptera: Apidae: Meliponinae) utilizada na meliponicultura por comunidades tradicionais do entorno da cidade de Macapá-AP. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 2, n.1, p. 1-9, jan./jul., 2012.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standard for honey. **CODEX STAN 12-19811**.

Disponível em:

<[http://www.codexalimentarius.org/committees-task-](http://www.codexalimentarius.org/committees-task-forces/?provide=committeeDetail&idList=18)

[forces/?provide=committeeDetail&idList=18](http://www.codexalimentarius.org/committees-task-forces/?provide=committeeDetail&idList=18)>. Acesso em: 18 ago. 2015.

CONTRERA, F. A. L.; MENEZES, C., VENTURIERI, G. C. New horizons on stingless beekeeping (*Apidae*, *Meliponini*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v. 40, p. 48-51, 2011 (supl. especial).

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D. W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, G. C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

COSTA, P. A.; MORAES, I. C. F.; BITTANTE, A. M. Q. B.; SPBRAL, P. J. A.; GOMIDE, C. A.; CARRER, C. C. Physical properties of honeys produced in the Northeast of Brazil. **International Journal of Food Studies**, v. 2, n. 1, p. 118-125, 2013.

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

FALLICO, B.; ARENA, E.; VERZERA, A.; ZAPPALÁ, M. The European food legislation and its impact on honey sector. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 11, n. 1, p. 49-54, 2006.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food chemistry**, v. 100, n. 40, p. 1649-1653, 2007.

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

KERR, W. E.; BUBLITZ FILHO, A. Meliponíneos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 8, p. 22-23, 1999.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha uruçú**: biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: Acangau, 1996. 154p. (Coleção manejo da vida silvestre; 2).

LIRA, A. F. L.; SOUSA, J. P. L. de M.; LORENZON, M. C. A.; VIANNA, C. A. F. J.; CASTRO, R. N. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com méis de meliponíneos. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v. 8, n. 3, p. 169-178, jul./set., 2014.

MARCHINI, L. C.; GENI, S. S.; MORETI, A. C. de C. C. **Mel Brasileiro**: Composição e normas. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 111p.

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

MERCOSUL. Resolução GMC nº89/99. **Regulamento técnico Mercosul identidade e qualidade do mel**. 1999. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/pdf/GMC_RES_1999-089.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2014.

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

OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. da C. Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 132-138, abr./jun., 2011.

OLIVEIRA, K. A. de M.; RIBEIRO, L. S.; OLIVEIRA, G. V. de. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e jataí (*Tetragonisca angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 3, p. 239-248, jul./set., 2013.

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**, Curitiba, v. 26, n. 5, p. 657-664, set./out., 2016.

SFB. Serviço Florestal Brasileiro. **Os biomas e suas florestas**. Disponível em: <http://www.florestal.gov.br/snif/recursos-florestais/os-biomas-e-suas-florestas?print=1&tmpl=component> >. Acesso em: 4 out. 2016.

SILVA, R. A. da; AQUINO, I. de S.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SOUZA, D. L. de. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do seridó do rio grande do norte. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Pombal, v. 4, n. 4, p. 70-75, out./dez., 2009.

SILVA, R. A. da; RODRIGUES, L. M. de F. M.; LIMA, A. de; CAMARGO, R. da C. R. Avaliação da qualidade do mel de abelha *Apis mellifera* produzido no município de Picos, Estado do Piauí, Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 144, p. 90-94, set., 2006.

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

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

SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C. A. L. de; FONSECA, A. A. O.; ALVES, R. M. de O.; SOUZA, B. de A. Perfil sensorial e aceitabilidade de méis de abelhas sem ferrão submetidos a processos de conservação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28(Supl.), p. 72-77, 2008.

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

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

SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. de O.; DIAS, C. de S.; CLARTON, L. **Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Insecta) 2009. 46 p. : il. (Série Meliponicultura; 7).

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

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 Amazônica**, Manaus, v. 3, n. 2, p. 333-336, abr./jun., 2004b.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012. 96 p.; il.

VILLA-BÔAS, J. K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Mensagem Doce** – online, n. 82, 2005.

VIT, P; MEDINA, M; ENRIQUEZ, M. E. Quality Standards for Medicinal Uses of Meliponinae Honey in Guatemala, Mexico Na Venezuela. **Bee world**, v. 85, n. 1, p. 2-5, 2004.

4 CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS DO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) E A INFLUÊNCIA BOTÂNICA

4.1 Introdução

As abelhas sem ferrão (ASF) são comumente observadas em regiões tropicais e subtropicais. São responsáveis em alguns locais pela polinização da vegetação nativa (MICHENER, 2007). Há mais de 300 espécies, distribuídas em 27 gêneros no Brasil (KERR; BUBLITZ FILHO, 1999; SILVEIRA et al., 2002). As maiores ocorrências, no Brasil, são nas regiões Nordeste e Norte (SOUSA et al., 2013) e entre as ASF tem-se a abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke), que são observadas em todos os estados do Nordeste brasileiro (CAMARGO; PEDRO, 2013).

O principal produto da criação de meliponíneos/ASF (meliponicultura) é o mel que, de acordo com as legislações que abordam a identidade (padrão) do mel, é definido como: “alimento naturalmente doce produzido pelas abelhas, a partir do néctar das flores ou de outras secreções, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia” (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001). Para a correta definição do mel ds ASF é necessário substituir as palavras “favos da colmeia” por “potes da colônia”.

Variações na composição física e química do mel são comuns, devido aos diversos fatores que podem interferir nas características do mel, como: condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento, além do tipo de florada visitada (SILVA; QUEIROZ; FIGUEIREDO, 2004).

As variações relacionadas à florada foram relatadas no mel de *Apis mellifera* com predominância de pólen de caju, com coloração escura, acidez total elevada, além do odor característico, sendo tais informações importantes para ajudar na caracterização do mel, podendo contribuir com a valorização do produto regional (BENDINI; SOUZA, 2008).

Tais variações tornam o controle de qualidade do mel mais difícil, já que as características físico-químicas devem está em conformidade com as normas vigentes: quanto à maturidade (açúcares redutores, umidade e sacarose aparente), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas e pólen), e deterioração (acidez livre, atividade diastásica e hidroxiacetilfurfural - HMF) (BRASIL, 2000). Porém a legislação não é adequada para todos

os caracteres do mel de ASF, reforçando a necessidade do desenvolvimento de um padrão próprio para esse tipo de mel (OLIVEIRA; SANTOS, 2011; ALVES et al., 2011).

O mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) apresenta boa aceitação no Nordeste do Brasil, porém este produto sofre entraves comerciais, pela inexistência de legislação aplicável, que seja condizente com o mesmo. Tendo em vista tal problema, o presente trabalho teve o objetivo de determinar as características físico-químicas e a cor do mel de abelha jandaíra produzido no semiárido nordestino, como também verificar a influência da origem botânica e da procedência (rural e urbana/município) sobre essas características do mel.

4.2 Material e métodos

Foram coletadas amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) de 35 meliponários, provenientes do semiárido nordestino do Brasil, localizados entre as coordenadas: S04°56'35,9" W037°18'31,5" a S06°02'08,0" W038°14'50,7", no período de agosto a novembro de 2013 (APÊNDICE A).

Coletou-se aproximadamente 500 mL/amostra, de maneira asséptica direto dos cortiços, através de seringa estéril. As amostras foram acondicionadas em embalagem de plástico com tampa, e armazenadas em caixas térmicas e mantidas à temperatura de 25 °C $\pm$ 1 °C.

Foram analisadas as características do mel (umidade; sólidos insolúveis; acidez livre; açúcares redutores; sacarose; hidroximetilfurfural; cinzas; atividade de água; pH e cor) no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, localizado na Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

Verificou-se também a influência da origem botânica sobre as características físico-químicas e a cor do mel de abelha jandaíra. Para a análise coletou-se 10 mL/amostra em tubos falcon estéreis e foram encaminhadas para o Bee Lab - Laboratório de Ecologia Comportamental da UFERSA.

4.2.1 Umidade

O teor de umidade foi avaliado pelo refratômetro digital portátil da marca Atago, modelo PAL-22S. Foram seguidas as instruções do fabricante do aparelho, como branco utilizou-se a água destilada. As amostras foram avaliadas em duplicata. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.2.2 Sólidos Insolúveis

Pesou-se 20 gramas da amostra de mel (p1) e essa foi diluída, com água a 80 °C, e filtrada em papel filtro (previamente seco em estufa a 135 °C por uma hora e dessecado por 35 minutos e pesado) (p2). Após a filtração o papel foi para estufa, a 135 °C/1h, e dessecado/35 minutos e pesado (p3). Para calcular a porcentagem de sólidos insolúveis em água, fez-se a diferença do peso do papel (p3-p2), dividido pela massa da mostra (p1), o valor da divisão foi multiplicado por 100 (IASC, [s.a]; Adaptado de ALMEIDA-MURADIAN; BERA, 2008). Esta análise foi realizada em duplicata. Foi expresso o resultado em porcentagem.

4.2.3 Acidez Livre

A determinação da acidez livre foi feita de acordo com Almeida-Muradian e Bera (2008) e IAL (2008), foram pesadas 10 gramas de cada amostra de mel, essas foram diluídas em 75 mL de água destilada. Em seguida titulou-se com hidróxido de sódio (NaOH) 0,05N cessando essa quando o pH indicava 8,5. As análises foram realizadas em duplicata. Para calcular os valores da acidez livre utilizou-se a seguinte fórmula: $\text{Acidez livre} = (\text{mL de NaOH utilizado} - \text{mL branco}) \times 50 / \text{massa da amostra}$. Os resultados foram expressos em mEq/Kg.

4.2.4 Açúcares redutores

A determinação de açúcares redutores foi baseada no método modificado de Lane e Eynon (IAL, 2008). Inicialmente padronizou-se as soluções de Fehling A e Fehling B utilizando a solução-padrão de açúcar invertido. Para o procedimento pesou-se dois gramas da amostra em seguida dilui com água destilada e transferiu para um balão volumétrico de 200 mL (d1) e completou-se o volume com água. Foram transferidos 50 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume (d2). Pipetou-se a quantidade de solução A e B, determinada na padronização, para um balão e adicionou-se sete mL de água. Na bureta foi colocada a solução de mel diluída (d2) e adicionou-se 15 mL no balão. Este

ficou em aquecimento, e quando estava em ebulição moderada, contou-se dois minutos e adicionou-se um de solução de azul de metileno e completou-se a titulação, até a descoloração do indicador, este volume gasto da solução de mel (V mL) foi anotado. Repetiu-se a titulação, usando a quantidade de mL determinada na padronização de cada solução de Fehling, (25 - V mL) de água e adicionou-se o volume da solução diluída de mel gasto na titulação preliminar menos 1,5 mL. Aqueceu-se a solução até a ebulição. Adicionou-se um mL de solução de azul de metileno e foi completada a titulação, adicionando gota a gota a solução diluída de mel até a descoloração do indicador.

Após a titulação fez-se os cálculos onde dividiu-se 2000 pela multiplicação do peso e volume gasto da solução de mel. Esta análise foi realizada em duplicata. E os resultados expressos em g/100g.

4.2.5 Sacarose Aparente

A sacarose aparente foi pesquisada após a inversão por hidrólise ácida, pelo método modificado de Lane e Eyon (IAL, 2008). Para isso, mediu-se 50 mL da solução de mel (d1) obtida no item 4.2.4 para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 25 mL de água. Aqueceu-se a 65 °C em banho-maria. Após a retirada do banho adicionou-se dez mL de solução de ácido clorídrico 5N. Esperou-se a solução resfriar naturalmente até a temperatura ambiente. Em seguida foi realizada a neutralização com solução de hidróxido de sódio 5N, usando papel indicador de pH. Finalizando o preparo colocando a solução em balão de 100 mL e completando o volume com água. Após o preparo da solução realizou-se o procedimento de titulação como descrito no item 4.2.4.

Com os resultados obtidos na titulação calculou-se o valor através da divisão de 2000 pela multiplicação do peso e volume gasto da solução de mel menos o valor obtido dos açúcares redutores. Esta análise foi realizada em duplicata. Os resultados foram expressos em g/100g.

4.2.6 Hidroximetilfurfural

Pesou-se cinco gramas do mel, sendo em seguida diluído e colocado em balão de 50 mL, formando a solução de mel. Separou-se dois tubos de ensaio, em cada um, pipetou-se dois mL da solução de mel e cinco mL da solução de P-toluidina. Em um dos tubos (tubo

branco), adicionou-se um mL de água destilada, e no outro (tubo teste), um mL de solução de ácido barbitúrico. Em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS 200-1000nm banda:5nm da marca Biospectro, modelo SP-220, em absorvância de 550 nm. O valor da absorvância foi multiplicado por 192 para determinar o valor do HMF em mg/Kg (IASC, [s.a]).

4.2.7 Atividade de água

Esta análise foi determinada através do medidor de atividade de água da marca Testo modelo 650. Foram seguidas as instruções do fabricante do aparelho. Sendo o resultado expresso em porcentagem.

4.2.8 pH

Para avaliar o pH do mel, foram pesadas 10 gramas de cada amostra de mel, essas foram diluídas em 75 mL de água destilada, em seguida utilizou-se o medidor de pH, previamente calibrado (IAL, 2008). Esta análise foi realizada em duplicata.

4.2.9 Cinzas

Para determinação das cinzas inicialmente os cadinhos foram mantidos em mufla a 600 °C por uma hora, em seguida colocou-os no dessecador por 30 minutos. Os cadinhos foram tarados (p1) e pesou-se cinco mL do mel (p2). Os cadinhos foram para estufa a 105 °C por quatro horas e depois para mufla a 600 °C por cinco horas, sendo em seguida mantidos em dessecador por 30 minutos, para serem pesados novamente (p3) (Adaptado de ALMEIDA-MURADIAN; BERA, 2008; IASC, [s.a]; IAL, 2008). A porcentagem de cinza foi determinada pela diferença do peso do cadinho (p3-p1) dividido pelo peso da amostra (p2) e multiplicado por 100. Esta análise foi realizada em duplicata e os resultados expressos em porcentagem.

4.2.10 Cor

Para verificar a cor do mel utilizou-se o fotômetro medidor, com parâmetro da cor do mel, da marca Hanna, modelo HI 83221. A análise foi realizada de acordo com as

recomendações do fabricante. O valor obtido em graus Pfund, determinado em milímetros (mm), foi relacionado à cor correspondente (Tabela 1) (CAMARGO et al., 2006).

Tabela 1 - Cores do mel a partir dos valores observados na Escala Pfund.

Coloração	Escala de Pfund
Banco d'água	0 até 8 mm
Extra branco	Mais de 8 a 17 mm
Branco	Mais de 17 a 34 mm
Extra âmbar claro	Mais de 34 a 50 mm
Âmbar claro	Mais de 50 a 85 mm
Âmbar	Mais de 85 a 114 mm
Âmbar escuro	Mais de 114 mm

Fonte: CAMARGO et al. (2006) modificado.

4.2.11 Análise polínica

As amostras foram preparadas (diluídas e centrifugadas) para a aplicação da técnica de acetólise (ERDTMAN, 1952). Em seguida as lâminas foram montadas e observadas ao microscópio. Os tipos polínicos presentes no mel foram determinados por comparação com o laminário referência da Palinoteca ASA (Abelhas Semiárido) da UFERSA e as descrições obtidas em literatura especializada (BARTH, 1989; SILVA, 2007; SILVA et al., 2010). Em seguida realizou-se a contagem de 400 grãos (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978) e verificou-se o pólen que foi mais frequente nas amostras de mel.

4. 2.12 Análise de dados (Estatística)

Os resultados das características do mel foram expostos de maneira descritiva. Para avaliar a influência da zona (rural e urbana), município, e do pólen predominante nas características do mel (umidade, atividade de água, açúcares redutores, sacarose, acidez livre, pH, HMF e cor) de abelha jandaíra, a análise estatística foi conduzida no programa Sigma Plot for Windows 12.5 (Systat Software Inc.,USA).

A influência da zona (rural e urbana) foi avaliada através do teste Mann-Whitney em nível de significância inferior a 5%. Já para avaliar a influência do pólen predominante sobre as características do mel, as amostras foram classificadas em quatro categorias (A, B, C e D), onde A era representada pelo mel com pólen predominante de *Mimosa tenuiflora*, B polifloral, C plantas herbáceas e D outras plantas arbóreas. Também foi pesquisada a

influência da procedência da amostra de mel, com relação ao município de produção do mel, sobre as características do mel. Para realização dessa análise apenas 27 amostras (das 35) foram consideradas, pois as demais amostras eram provenientes de municípios com amostras em quantidade insuficiente. Todos esses dados foram analisados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (ANOVA), em diferentes níveis de significância, sendo todos inferiores a 5%.

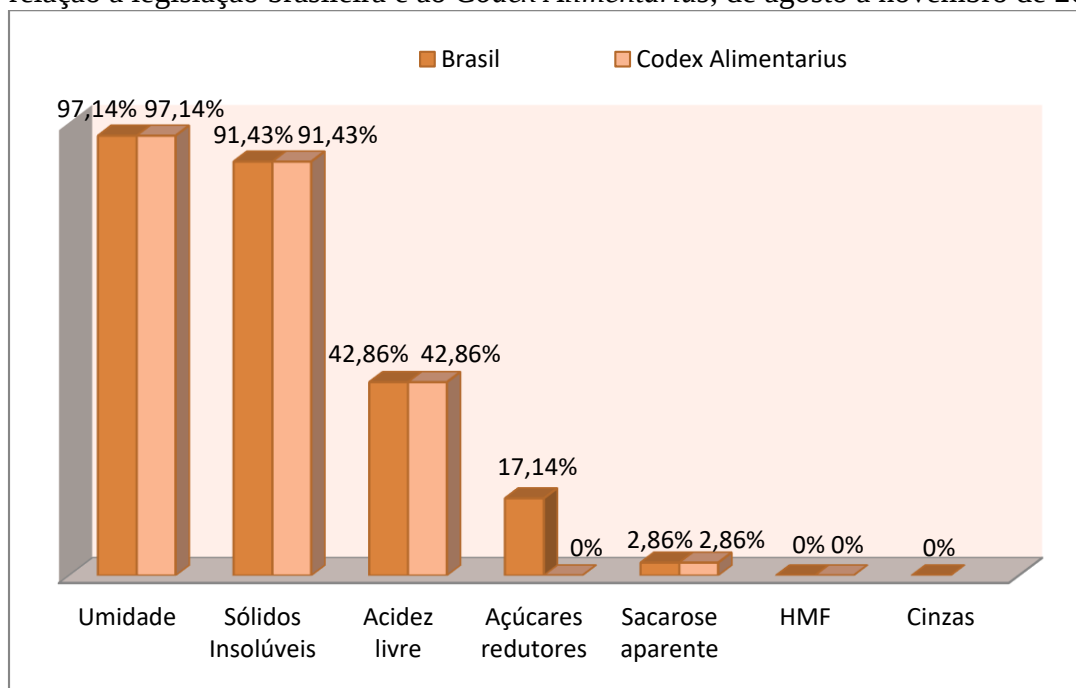
4.3 Resultados e Discussão

Comparando-se os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 2) com a legislação existente para mel de *A. mellifera* (BRASIL, 2000), verificou-se como principais problemas: umidade, sólidos insolúveis, acidez livre, açúcares redutores e sacarose (Figura 1). Se utilizada como base essa legislação, 100% das amostras estariam em desacordo, com 8,57% das amostras em desacordo apenas em um parâmetro, 42,86% das amostras em dois parâmetros (umidade e sólidos insolúveis), 37,14% das amostras irregulares em três análises e 11,43% em mais de três análises. Já com relação as demais legislações (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001) as características físico-química que estavam em desacordo foram: umidade, sólidos insolúveis, acidez livre e sacarose.

A média da umidade do mel foi 24,4%, havendo variação de 19,8 a 27,6% (Tabela 2). Ao comparar com as legislações (máximo de 20%) a média da umidade no mel de jandaíra estava acima do estabelecido, estando apenas uma amostra dentro do recomendado (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001). Os resultados da umidade estavam de acordo com o observado por diversos autores, os quais também encontraram valores de umidade maiores no mel de abelha jandaíra, com médias de 26,4 e 31,1% (MONTE et al., 2013; SOUSA, et al., 2013).

Para Monte et al (2013) a alta umidade no mel dos meliponíneos (ASF) é consequência da baixa taxa de desidratação do néctar durante o processo de transformação em mel. Alguns autores sugerem que o teor máximo da umidade deveria ser de 30% para os meliponíneos (VIT; MEDINA; ENRIQUEZ, 2004; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013). Se utilizada essa porcentagem como parâmetro para a umidade, todas as amostras do mel de abelha jandaíra no presente estudo estariam adequadas.

Figura 1 - Percentual de inadequação das características físico-químicas das amostras do mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino brasileiro, em relação à legislação brasileira e ao *Codex Alimentarius*, de agosto a novembro de 2013.



* Codex Alimentarius não apresenta valores para cinzas no mel. Foi considerado o valor do HMF para o Codex de 80mg/Kg.

Os valores de sólidos insolúveis no mel de jandaíra apresentaram variação de 0,05% a 0,82% com média de 0,36% (Tabelas 2 e 3). De acordo com as legislações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001) o mel deve ter no máximo 0,1% e o mel prensado 0,5%. Estando as amostras de mel de abelha jandaíra em sua grande maioria (32 amostras) com valores de sólidos insolúveis acima do recomendado, mesmo com a coleta realizada de maneira asséptica. Diferente do observado no trabalho de Almeida-Muradian et al (2013) no qual os valores de sólidos insolúveis foram baixos em conformidade com a legislação.

O valor de sólidos insolúveis avalia a qualidade higiênica do mel, já que determina as impurezas/sujidades do mel, tais como: resíduos de cera, patas e asas das abelhas, além de outros elementos inerentes do mel ou do processamento (SILVA et al., 2006).

Tabela 2 - Características físico-químicas e de cor do mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes de municípios do Estado do RN, 2013.

Parâmetros	A	B	C	D	E	F							G								H	I			J					K		L					Mín	Máx
	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	1	1	2	1	2	3	4	5	1	2	1	2	3	4	5			
Umidade	20,5	22,8	23,9	23,9	26	25,2	24,9	27,4	20,9	21,6	24,5	23,6	24,4	26,2	22,2	26,7	23,4	26,3	26,6	25,2	23,6	24,5	24,7	22,9	25,3	23,9	25,1	23,5	19,8	27,6	26	23,4	24,4	27,4	26,2	19,8	27,6	
Atividade de Água	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,65	0,77		
Cor	67	0	120	33	11	26	21	38	68	29	54	37	30	47	10	12	38	15	12	6	16	0	0	24	20	1	40	14	4	7	46	133	23	84	41	0	133	
Açúcares redutores	63,1	78,4	63,5	76,3	66,0	74,6	74,4	63,9	66,0	68,0	76,6	68,3	69,9	73,5	75,5	70,7	72,5	72	71,4	70,7	72,7	76,1	74,1	72,2	71,4	73,3	74,6	79,4	77	74,4	66,7	64,1	68,7	64,3	59,5	59,5	79,4	
Sacarose	4,0	1,2	1,6	1,1	2,1	0,5	3,3	0,8	2,6	2,8	1,1	1,1	0,9	1,6	0,3	3,5	1,3	0,3	0,5	0,7	0,8	3,2	0,8	3,1	0,5	1,0	0,5	2,5	0,3	7,3	2	1	2,6	0,8	4	0,3	7,3	
Acidez livre	67	21,5	72,3	33,5	71,8	60,8	44	70,3	44,8	37,3	48,3	39,5	63	64,5	34	52	45,3	69,5	48	38,8	38,3	33,5	59,3	44	51,5	30	52,5	38,8	35,5	24,3	83,8	50	49	52,5	55,8	21,5	83,8	
pH	3,4	3,7	5,1	3,5	3,3	3,4	3,4	3,8	4,0	3,5	3,5	3,6	3,4	3,5	3,5	3,4	3,4	3,3	3,4	3,4	3,5	3,5	3,3	3,4	3,4	3,5	3,6	3,5	3,4	3,5	3,4	3,8	3,4	3,7	3,4	3,3	5,1	
Cinzas	0,1	0,02	0,45	0,01	0	0,05	0,11	0,15	0,05	0,01	0,05	0,08	0,03	0,05	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,01	0,03	0,01	0	0,07	0,02	0,01	0,01	0,11	0,06	0,1	0,05	0,03	0	0,45	
Sólidos Insolúveis	0,7	0,4	0,2	0,4	0,4	0,3	0,3	0,05	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4	0,82	0,5	0,3	0,5	0,7	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,4	0,3	0,05	0,82	
HMF	60,1	1,2	0,2	1,2	0,8	1,2	2,9	0,4	3,8	0,6	7,5	8,6	3,1	1,5	1,3	1,3	1,3	0,9	0,9	0,6	1,3	0,2	1,3	*	0,4	1	1,3	1,5	0,8	0,6	0	1,3	2,3	0,6	6	0	60,1	
Localidade	R	R	R	R	R	U	R	R	R	R	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	R	R	R	U	U	R	R	R	R	R	R	U	R	R	R			

*Dado perdido; R – Zona Rural; U – Zona Urbana; Med – Média; Mín – Mínimo; Máx – Máximo.

Villas-Bôas e Malaspina (2005) propuseram alteração para o valor de sólidos insolúveis no mel de meliponíneos para no máximo 0,4%, desta forma a média do mel de jandaíra do presente trabalho estaria de acordo com o recomendado e apenas 25,71% das amostras estariam fora do recomendado. Essa alteração seria importante e necessária, visto que a forma de armazenamento do mel nos cortiços é diferente do observado nas colmeias de abelha *A. mellifera*, favorecendo a presença de impurezas no mel, como resina e cera (SOUZA; CARVALHO; ALVES, 2008), além do que o processo de coleta, normalmente naquele mel não passa pelos processos verificados no mel de *A. mellifera* (centrifugação e filtração), podendo contribuir com o maior valor dos sólidos insolúveis.

Tabela 3 – Médias e padrões (legislações) das características físico-químicas das amostras de mel de jandaíra provenientes do semiárido nordestino.

Parâmetros	Médias do mel de jandaíra (desvios)	Brasil IN nº11/2000 <i>Apis mellifera</i>	Codex Stan 12/2001/ EU Honey 110/2001 <i>Apis mellifera</i>
Umidade	24,4 (±1,9)	Máx. 20%	Máx. 20%*
Sólidos insolúveis	0,36 (±0,17)	Máx. 0,1g/100g	Máx. 0,1g/100g
Acidez Livre	49,3 (± 14,8)	Máx. 50mEq/kg	Máx. 50mEq/kg
Açúcares Redutores	71,0 (± 4,87)	Mín. 65g/100g	Mín. 60g/100g*
Sacarose aparente	1,76 (±1,46)	Máx. 6g /100g*	Máx. 5g /100g*
HMF	3,47 (±10,1)	Máx. 60mg/Kg	Máx. 40mg/Kg e 80mg/Kg (RT)
Cinzas	0,05(±0,08)	Máx. 0,6%	-
Atividade de água	0,72 (±0,0)	-	-
pH	3,53 (±0,3)	-	-

Máx. - Máximo; Mín. - Mínimo; *particularidades; - não há parâmetros determinados; RT - Região tropical

Os valores da acidez livre variaram de 21,5 a 83,8 mEq/Kg, com média de 49,3 mEq/Kg, estando de acordo com as recomendações (Tabelas 2 e 3). Silva et al (2013) também descrevem uma grande variação na acidez livre do mel de abelha jandaíra de 24,5 a 93,5 mEq/Kg. Almeida-Muradian et al (2013) observaram média de 32,49 mEq/Kg em mel de abelhas jandaíra.

Segundo Vit, Medina e Enriquez (2004) a acidez do mel de meliponíneos costuma ser mais alta que da *A. mellifera*, e isso pode ser verificado pelo sabor. A acidez também pode ser relacionada ao estado de deterioração do mel, aumentando com a fermentação.

Com relação à atividade de água verificou-se uma variação de 0,65 a 0,77. E o pH do mel avaliado variou de 3,3 a 5,1 (Tabela 2). O valor de pH pode ser relacionado com a composição florística, pode ser influenciado pelo pH do néctar, composição do solo ou a associação de espécies vegetais coletadas pela abelha para formar o mel (CRANE, 1983). Sabe-se que o desenvolvimento de alguns microrganismos, como bactérias, pode ser influenciado quando os valores de Aa e pH são baixos (GOMES et al., 2010).

Os valores dos açúcares redutores variaram de 59,5 a 79,4%, com média de 71,0% (Tabelas 2 e 3). A glicose e a frutose são os principais açúcares encontrados no mel, a frutose pode estar presente em maior quantidade, sendo uma das responsáveis por algumas características do mel como doçura e alta higroscopicidade (MOREIRA; MARIA, 2001; CRANE, 1983).

Os valores para sacarose aparente variaram de 0,3% a 7,3% com média de 1,76% (Tabelas 2 e 3). Esses valores foram inferiores aos observados por Almeida-Muradian et al (2013). Valor elevado de sacarose pode ser devido à colheita prematura do mel, antes da transformação completa da sacarose do mel em glicose e frutose pela ação da invertase (AZEREDO; AZEREDO e DAMASCENO, 1999; SOUZA et al., 2009). Ao avaliar as exigências nas legislações em relação à sacarose apenas uma amostra estaria em desacordo (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001).

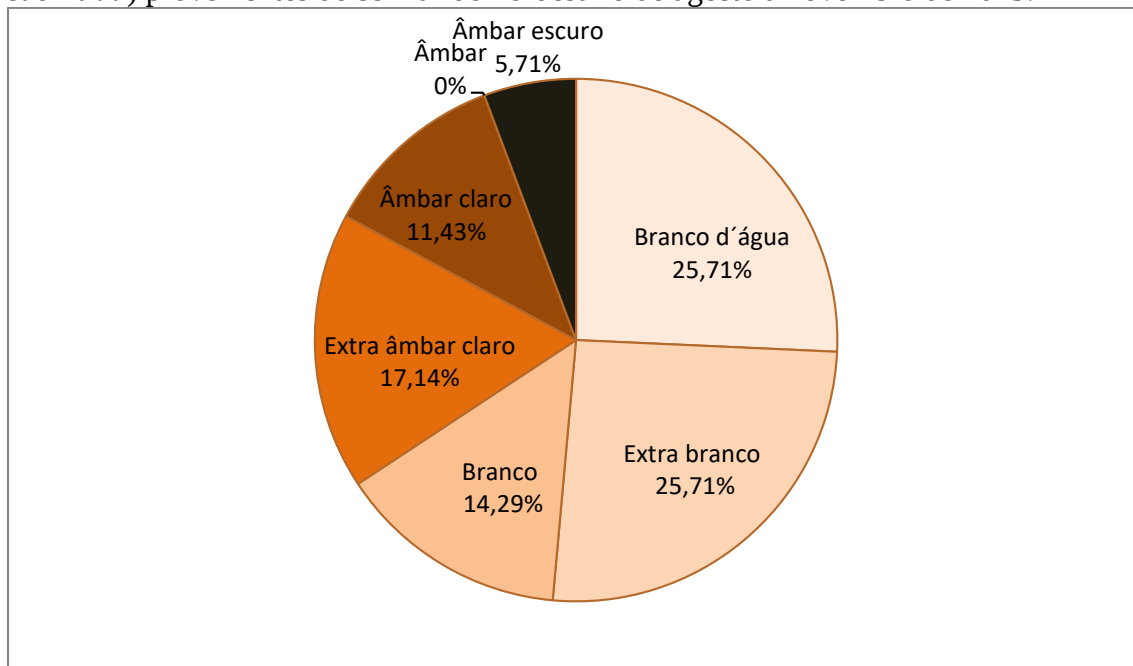
Ao avaliar o HMF do mel de abelha jandaíra observou-se variação de zero a 60,1 mg de HMF/Kg, com média de 3,47mg de HMF/Kg (Tabelas 2 e 3), estando em conformidade com as recomendações (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001; EU, 2001). Outros autores também observaram valores baixos de HMF no mel de abelha jandaíra (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013).

A formação do hidroximetilfurfural é devido à ação dos ácidos que causa a desidratação das hexoses (BELITZ; GROSCHE, 1992). Valores altos de HMF podem ser devido ao armazenamento prolongado em temperatura ambiente, e/ ou em embalagens sem proteção de luz, ou devido ao superaquecimento (MELO; DUARTE; MATA, 2003; ALMEIDA-MURADIAN; STRAMM; ESTEVINHO, 2014).

Ao avaliar o teor de cinzas observou-se uma variação de zero a 0,45%, com média de 0,05% (Tabelas 2 e 3). A legislação determina valor para cinzas proveniente de flores no máximo de 0,6% (BRASIL, 2000), no mel de *Apis*. Foi observado, em pesquisas realizadas em diferentes regiões, que normalmente a quantidade de cinzas no mel de abelha jandaíra não tem sido superior ao preconizado pela legislação (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; SILVA et al., 2013; SOUSA et al., 2013).

Ao avaliar a cor das amostras de mel de abelha jandaíra foi observada uma variação de zero a 133 mm da escala Pfund (Tabela 2). No percentual de distribuição das amostras de mel em relação à cor do mel de abelha jandaíra verifica-se coloração predominante clara (51,42%), variando entre branco d'água e extra branco (Figura 2). Foram observadas amostras de mel com cor branco, extra âmbar claro, âmbar claro e âmbar escuro. Almeida-Muradian et al (2013) também observaram predominância de cor clara (extra branco e branco) no mel de abelha jandaíra, porém Monte et al (2013) observaram coloração mais escura (âmbar claro e âmbar).

Figura 2 - Percentual da distribuição da cor do mel nas amostras de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino de agosto a novembro de 2013.

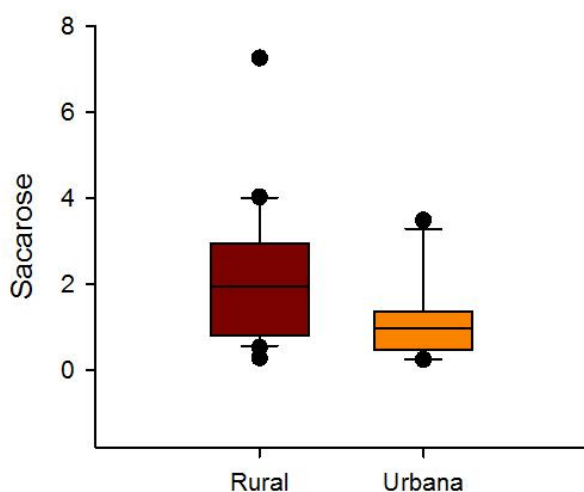


A cor do mel depende da sua composição, variando de quase incolor, neste caso o sabor é suave e é pobre em minerais, até âmbar escuro, no qual o sabor é forte, rico em minerais, apresenta também maior atividade antioxidante e compostos fenólicos (BRASIL, 2000; LACERDA et al., 2010; WILCZYŃSKA, 2014). No presente trabalho verificou-se,

através da correlação de Pearson (0,6), que o teor de cinzas foi menor em mel de jandaíra mais claro e mais alto no mel de jandaíra mais escuro.

Ao avaliar se diferentes aspectos influenciavam as características físico-químicas e cor do mel, verificou-se que a zona de procedência (rural ou urbana) das amostras de mel de jandaíra influenciou significativamente no parâmetro sacarose (Mann Whitney, $P = 0,04$). Sendo essa maior na zona rural que na zona urbana, com mediana de 1,96 e 0,97g/100g, respectivamente (Figura 3). As demais características não foram influenciadas pelos fatores relacionado à localização da zona de produção do mel.

Figura 3 - Influência da zona de procedência (rural ou urbana) das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) e a característica do mel do Estado do RN, 2013.

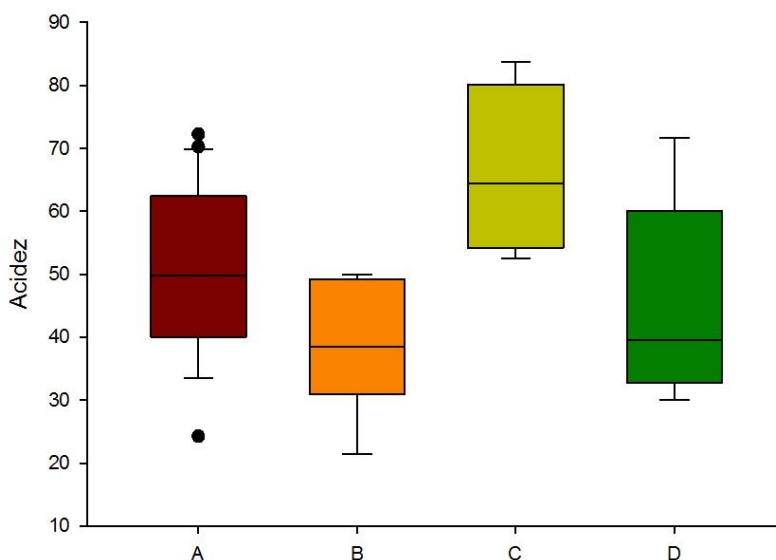


Foi realizada categorização das amostras com relação ao seu pólen predominante, onde A (Pólen *Mimosa tenuiflora*) compreendeu 20 amostras, B (Pólen polifloral) seis amostras, C (Pólen herbáceas) quatro amostras e D (Pólen arbóreas) cinco amostras. Verificou-se que o mel de espécies herbáceas (C) foi mais ácido do que mel polifloral (B) (Kruskal-Wallis, $P=0,024$), com médias de 66,3 e 38,6 mEq/Kg, respectivamente (Figura 4). As demais características não foram influenciadas pelo tipo de pólen predominante presente no mel.

Sousa et al (2016) ao trabalharem com mel de ASF (*M. subnitida* e *M. scutellaris*) constataram que o mel de joazeiro (*Ziziphus joazeiro*), classificada como árvore, apresenta altos valores para °Brix, proteína, cinza, cor (escala Pfund) e pH em relação aos outros tipos

polínicos estudados. Mostrando que as características do mel são influenciadas pela fonte floral.

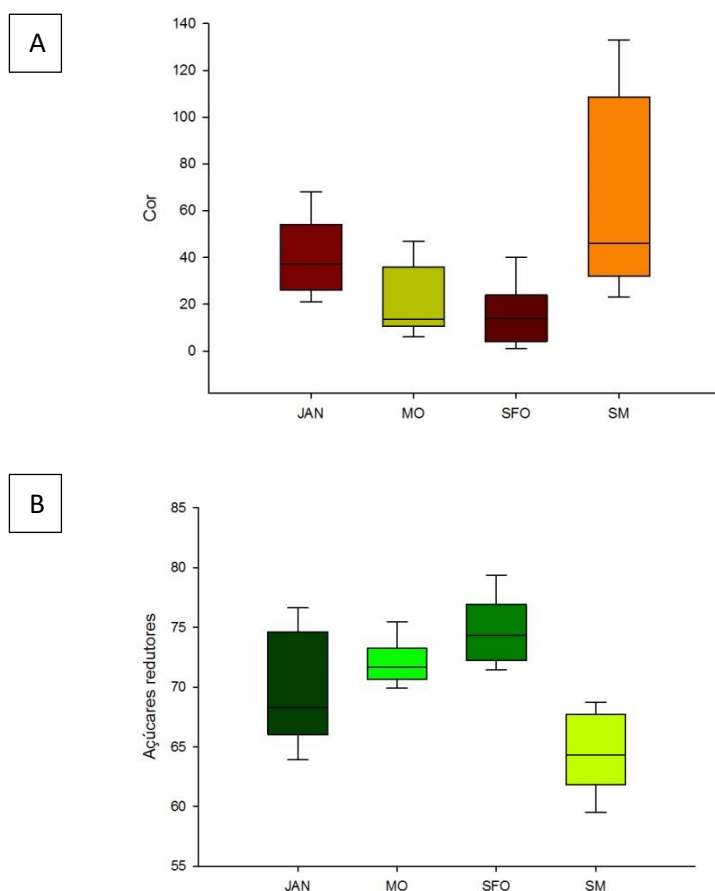
Figura 4 - Influência do pólen predominante na característica de acidez livre no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do Estado do RN, 2013.



A - Pólen predominante *Mimosa tenuiflora*; B – Pólen predominante Polifloral; C – Pólen predominante de herbáceas; D – Pólen predominante de arbóreas, com exceção da *M. tenuiflora*.

Para avaliar a influência da procedência das amostras de mel (municípios) sobre as características do mel, considerou-se as amostras procedentes de quatro municípios: JAN – Jandaíra (sete amostras), MO – Mossoró (oito amostras), SFO – São Francisco do Oeste (sete amostras) e SM – Serra do Mel (cinco amostras) e verificou-se efeito na cor e açúcares redutores (Figura 5A e 5B). A cor foi mais escura nas amostras provenientes do município de Serra do Mel do que de São Francisco do Oeste (Kruskal-Wallis, $P= 0,012$), com medianas de 46 e 14, respectivamente. E o inverso foi observado nos valores de açúcares redutores, com maior (Kruskal-Wallis, $P= 0,007$) valor observado em São Francisco do Oeste do que Serra do Mel, com medianas de 74,35 e 64,31, respectivamente. As demais características do mel não foram influenciadas pelos fatores envolvidos com o município de procedência das amostras.

Figura 5 - Influência do município de procedência, do Estado do RN, das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) em relação à cor e açúcares redutores, 2013.



JAN - Jandaíra; MO – Mossoró; SFO – São Francisco do Oeste; SM – Serra do Mel

4.4 Conclusão

O mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do semiárido nordestino apresenta características que o difere do mel da abelha *A. mellifera*, principalmente em relação à umidade, sólidos insolúveis, acidez e açúcares redutores. Portanto seria interessante a elaboração de uma instrução normativa adequada para o mel das abelhas sem ferrão.

Ao avaliar aspectos como: zona e município de procedência e influência polínica sobre as características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) verificou-se que os mesmos podem alterar algumas características do mel.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; BERA, A. **Manual de controle de qualidade do mel**. São Paulo: APACAME, 2008. 32p.
- 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.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. da S. de; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.
- ALVES, T. T. L.; MENESES, A. R. V. DE; SILVA, J. N.; PARENTE, G. D. L.; HOLANDA NETO, J. P. DE. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Pombal, v. 6, n. 3, p. 91-97, set./dez., 2011.
- AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 3-7, jan./abr., 1999.
- BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989. 93 p. il.
- BELITZ, H.; GROSCHE, W. **Química de los alimentos**. 2ª ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A., 1992.
- BENDINI, J. do N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 565-567, mar./abr., 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm. Acesso em: 22 abr. 2012.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. 2013. Acesso em: 11 nov. 2015.
- CAMARGO, R. C. R. de; PEREIRA, F. DE M.; LOPES, M. T. DO R.; WOLFF, L. F. **Mel: características e propriedades**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006. 28 p.
- CODEX ALIMENTARIUS. Codex standard for honey. **CODEX STAN 12-1981**. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/committees-task-forces//?provide=committeeDetail&idList=18>. Acesso em: 18 ago. 2015.
- CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Nobel, 1983. 225p.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms.** Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952. 539p.

EU Council: **Council Directive 2001/110/EC**, de 20 dezembro 2001 relating honey.

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

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

IASC - INSTITUTO DE APICULTURA DE SANTA CATARINA. **Métodos químicos para análise de mel.** Apostila Avulsa, [s.a]. 17 p

KERR, W. E.; BUBLITZ FILHO, A. Meliponíneos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 8, p. 22-23, 1999.

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

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, v. 59, n. 4, p. 139-157, 1978.

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

MICHENER, C. D. **The Bees of the World.** 2 ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 2007. 953p. Disponível em: <<http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Beekeeping/Thep-Bees-of-the-World.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2015.

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

MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B de. Glicídios no mel. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 516-525, jul./ago., 2001.

OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. da C. Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 132-138, abr./ jun., 2011.

SILVA, C. I.; BALLESTEROS, P. L. O.; PALMERO, M. A.; BAUERMANN, S. G.; EVALDT, A. C. P.; OLIVEIRA, P. E. **Catálogo polínico:** palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero Xyloca no Triângulo Mineiro. Uberlândia: EDUFU, 2010. 154p.

SILVA, C. L. da; QUEIROZ, A. J. de M.; FIGUEIREDO, R. M. F. de. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.8, n. 2/3, p. 260-265, maio/dez., 2004.

SILVA, F. H. M. **Contribuição à palinologia das caatingas**. 2007. 182 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, 2007. Disponível em: < http://www2.uefs.br/ppgbot/pdf_dissertacoes_teses/doutorado/2007/hildersilva.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2015.

SILVA, R. A. da; RODRIGUES, L. M. de F. M.; LIMA, A. de; CAMARGO, R. da C. R. Avaliação da qualidade do mel de abelha *Apis mellifera* produzido no município de Picos, Estado do Piauí, Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 144, p. 90- 94, set., 2006.

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

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

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

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

SOUZA, B. A. de; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. dos S.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. de O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 798-802, dez., 2009.

SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. de O. Notas sobre a Bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae:Meliponini) como subsídio à sua criação racional. **Archivos de zootecnia**, Córdoba, v. 57, n. 217, p. 53-62, 2008.

VILLAS-BÔAS, J. K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Mensagem Doce** – online, n. 82, 2005.

VIT, P; MEDINA, M; ENRIQUEZ, M. E. Quality Standards for Medicinal Uses of Meliponinae Honey in Guatemala, Mexico Na Venezuela. **Bee world**, v. 85, n. 1, p. 2-5, 2004.

WILCZYŃSKA, A. Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 767-774, 2014.

5 CAPÍTULO III - ORIGEM BOTÂNICA DO MEL DA ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) NA CAATINGA

5.1 Introdução

As abelhas coletam recursos alimentares nas flores durante a polinização, como: o néctar (fonte energética), o pólen (fonte proteica), entre outros, havendo uma relação de mutualismo entre elas. Essa relação garantiu o sucesso na polinização cruzada, possibilitando diferentes combinações de fatores hereditários e aumento na produção de frutos e sementes (IMPERATRIZ-FONSECA; CONTRERA; KLEINERT, 2004; SANTOS; AGUIAR; MELLO, 2010; COUTO; COUTO, 2002), como no plantio da goiaba (ALVES; FREITAS, 2007). De acordo com Cruz et al (2004) as abelhas sem ferrão (ASF) podem realizar polinização de culturas agrícolas, sob cultivo protegido.

O mel é produzido a partir do néctar das flores, e durante a sua coleta as abelhas forrageiras podem “contaminar-se” com os grãos de pólen aderidos ao corpo (pelos, pernas, asas), ocasionando o seu aparecimento nas amostras de mel (BARTH, 1989; BASTOS, 2002). Para verificar a origem botânica, ou seja, identificar o pólen coletado pelas abelhas e a partir daí determinar as plantas utilizadas (néctar) para produzir o mel, existe a linha de pesquisa chamada melissopalínologia. As análises das amostras de mel podem ser realizadas de duas maneiras: qualitativa e quantitativa. A avaliação qualitativa pode fornecer informações sobre a caracterização do mel, como: origem botânica e regional. A análise quantitativa acrescenta a participação de cada planta na formação do mel. A qualidade final do mel também será influenciada pela características do néctar e o tempo de maturação do mel. Portanto, a utilização desse estudo poderá melhorar a comercialização dos produtos da meliponicultura ao agregar informações aos produtos das colônias (BARTH, 1989; OLIVEIRA; BERG; SANTOS, 2010).

Além disso, a identificação das espécies vegetais, que contribuem para a produção do mel, é fundamental para se conhecer as plantas fornecedoras de recursos florais para as abelhas de uma determinada região, para preservá-las e multiplicá-las, e dessa forma contribuir com a conservação das abelhas e com a sustentabilidade da meliponicultura (MORETI et al., 1998; SANTOS JÚNIOR; SANTOS, 2002; CARVALHO; MARCHINI, 1999).

Sendo uma alternativa para a sustentabilidade de faunas e floras nativas a redução de áreas cultivadas, já que essas podem causar impacto negativo na diversidade (GIULIETTI et al., 2016), como também a conscientização dos meliponicultores, através de capacitação, para o repasse destas informações, como forma de estimular melhorias na criação/desempenho das ASF (MAIA et al., 2015).

Verificou-se a necessidade de identificar as espécies visitadas pela abelha jandaíra, devido seu importante papel (polinização de plantas nativas e cultivadas, produção de mel e educação ambiental) para o semiárido brasileiro, e dessa forma, auxiliar na elaboração de planos de manejo e uso sustentável das espécies de plantas. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar a origem botânica do mel produzido pela abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) em diferentes localidades geográficas do bioma Caatinga.

5.2 Material e Métodos

A área de estudo foi a região do semiárido do nordeste brasileiro caracterizado por período chuvoso e período seco (com chuvas nulas ou escassas), com domínio morfoclimático da Caatinga, sendo caracterizada pelas altas temperaturas e vegetação típica (ZANELLA; MARTINS, 2003; ALVARES et al., 2013; MORO, 2016).

A abelha jandaíra é uma espécie de abelha sem ferrão (Apidae, Meliponini) encontrada em todos os estados do nordeste brasileiro (CAMARGO; PEDRO, 2013). O seu ciclo de desenvolvimento e a longevidade são aproximadamente 42 dias e 90 dias, respectivamente, sendo maior que o da abelha *Apis mellifera*. Apresenta raio de voo (coleta de pólen, néctar, entre outros recursos) de cerca de 3 km. E seu mel é armazenado em potes, sendo esse produzido em menor quantidade do que em colônias de *A. mellifera* (BRUENING, 2001).

5.2.1 Amostras

Foram coletadas amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) de 35 meliponários (APÊNDICE B), provenientes de 12 municípios, sendo estes pertencentes a três mesorregiões do Estado do Rio Grande do Norte. Coletou-se aproximadamente 10 mL/amostra, de maneira asséptica direto das colônias, através de seringa estéril. As amostras foram acondicionadas em tubos falcon estéreis e encaminhadas para o Bee Lab - Laboratório de Ecologia Comportamental da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

5.2.2 Preparação das amostras - Análise polínica

Inicialmente foram adicionados 8 mL da amostra de mel, 4 mL de água destilada em tubo falcon (15 mL) e centrifugou-se a 2000 rpm/15 minutos. Descartou-se o líquido e acrescentou-se 4 mL de álcool a 70%, sendo novamente centrifugado por 5 minutos.

5.2.2.1 Acetólise

Para a análise polínica, as amostras de mel foram preparadas utilizando-se o processo de acetólise, APÊNDICE C, no qual adicionou-se em cada amostra 4 mL de ácido acético glacial, centrifugou-se 2000 rpm/15 minutos e descartou-se o sobrenadante. Em seguida adicionou-se 4 mL da mistura de acetólise (ácido sulfúrico e anidro acético - 1:9). As amostras foram para banho maria 100 °C/5 minutos, posteriormente foram centrifugados, 3000 rpm/3 minuto e eliminado o sobrenadante. Adicionou-se ao tubo 10 mL de água destilada e uma gota de álcool a 70%, centrifugou-se e foi eliminado o sobrenadante. Acrescentou-se 4 mL da mistura (água destilada mais glicerina – 1:1) que permaneceu por até 24 horas. Centrifugou, descartou-se o sobrenadante e virou os tubos em papel filtro (ERDTMAN, 1952).

5.2.2.2 Montagem das lâminas

Utilizou-se pedaços de gelatina para recolher o material nos tubos. Colocou-se a gelatina com o material em lâmina de microscópio e por cima a lamínula. Em seguida foram colocadas em chapa aquecedora para fusão da gelatina (98 °C/ até o derretimento da gelatina).

5.2.2.3 Análise dos grãos de pólen

As lâminas foram analisadas por dois métodos:

- a) Método qualitativo - os tipos polínicos presentes no mel foram determinados por comparação com o laminário referência da Palinoteca ASA (Abelhas Semiárido) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido e as descrições obtidas em literatura especializada (BARTH, 1989; SILVA, 2007; SILVA et al., 2010).
- b) Método quantitativo – realizou-se a contagem consecutiva de 400 grãos de pólen/amostra e foram determinadas as classes de ocorrência: pólen predominante (PP - > 45% do total de

grãos), pólen secundário (PS - 16 a 45%), pólen isolado importante (PII - 3 a 15%) e pólen isolado ocasional (PIO - < 3%) (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978). As amostras com um tipo polínico superior a 45% foram consideradas monoflorais (BARTH, 2013). A diversidade polínica foi estimada pelo índice de Shannon-Wiener (H').

5.3 Resultados e Discussão

Ao realizar a análise qualitativa dos grãos de pólen nas amostras de mel da abelha jandaíra (*M. subnitida*) registrou-se 16 famílias de plantas, sendo essas distribuídas em 57 diferentes tipos polínicos, havendo alguns grãos de pólen indeterminados, conforme APÊNDICE D.

As espécies mais frequentes (Fr: frequência relativa), na análise qualitativa foram: *Mimosa tenuiflora* (9,7% das amostras), *M. arenosa*/*M. caesalpiniiifolia* (9,1%), *Chamaecrista duckeana* (8,8%), *Psidium guajava* (6,4%), *Pityrocarpa moniliformis* (5,8%), *Waltheria rotundifolia* (5,8%), *Senna obtusifolia* (5%), *Myracrodruon urundeuva* (4,7%), *Waltheria* sp. 1 (4,7%) e *Borreria verticillata* (3,9%) (Tabela 1).

Ao estimar os valores quantitativos verificou-se que a maior riqueza polínica foi proveniente de uma amostra do município de São Francisco do Oeste (Meliponário 2), com 16 tipos diferentes, e a maior diversidade polínica ($H' = 2,0$) ocorreu na amostra proveniente do município de Serra do Mel (Meliponário 3). Os menores valores registrados tanto para a riqueza, quatro tipos polínicos diferentes, quanto para a diversidade ($H' = 0,1$), foram da mesma amostra (Meliponário 3) do município de São Francisco do Oeste (Tabela 1). Portanto, o mesmo município não contribuiu para a riqueza de maneira semelhante, pois a riqueza numa determinada área do município foi diferente de outra área de estudo do mesmo município. Demonstrando diferenças na composição florística entre os dois meliponários estudados.

Na análise quantitativa, os tipos polínicos com maiores valores de abundância total (A) nas amostras foram: *M. tenuiflora* (51,99%), *M. arenosa*/*M. caesalpiniiifolia* (9,64%), *C. duckeana* (8,85%), *B. verticillata* (5,59%) *W. rotundifolia* (5,31%) e Tipo *Gliricidia sepium* (4,66%) (Tabela 1), sendo esses e a espécie *M. urundeuva* (aroeira) os tipos polínicos predominantes registrados nas amostras de mel de jandaíra (Figura 1).

No total, 29 amostras (82,9%) apresentaram mel monofloral e seis amostras foram consideradas polifloral (Figuras 1 e 2). O mel polifloral foi proveniente de seis meliponários, referentes a cinco municípios, Mossoró (Meliponário 1), Barcelona (Meliponário 1), São Francisco do Oeste (Meliponário 1), Pau dos Ferros (Meliponário 1) e Serra do Mel (Meliponário 2). As imagens das plantas que foram classificadas como pólen predominante/dominante e secundário podem ser vistas no ANEXO A. Das 35 amostras avaliadas, verificou-se que o pólen da *M. tenuiflora* (jurema-preta) esteve presente em todas as amostras, sendo pólen predominante em 57,1% e secundário em 25,7% das amostras.

Na categoria tipos polínicos secundários (16 a 45%) foram registrados: *M. tenuiflora* (25,7% das amostras), *C. duckeana* (11,4%), *Ziziphus joazeiro* (8,57%), *M. arenosa*/*M. caesalpiniifolia* (8,57%), *W. rotundifolia* (5,71%), Tipo *Gliricidia sepium* (5,71%), *P. moniliformis* (2,86%), *Borreria verticillata* (2,86%) e *P. guajava* (2,86%). Algumas amostras apresentaram mais de um pólen secundários e outras nenhum.

Na categoria tipos polínicos isolados importantes (3 a 15%) verificou-se: *C. duckeana* (51,4% das amostras), *M. arenosa*/*M. caesalpiniifolia*, *W. rotundifolia* e *P. guajava* em 37,1%, 20% e 20% das amostras, respectivamente. Já para o pólen isolado ocasional observou-se: *M. arenosa*/*M. caesalpiniifolia* (45,7%), *Waltheria* sp. 1 (48,6%), *P. moniliformis* (45,7%), *P. guajava* (42,9%), *Senna obtusifolia* (40%) e *M. urundeuva* (37,1%).

Algumas espécies de plantas registradas nas amostras de mel, só disponibilizam pólen aos visitantes florais, sendo verificada no presente estudo seis espécies com anteras poricidas (plantas de pólen): *C. duckeana* (Fr=8,8%, A= 8,85%), *C. supplex* (Fr=0,3%, A=0,01%), *Chamaecrista* sp. 1 (Fr=0,6%, A=0,07%), *S. obtusifolia* (Fr=5%, A=1,1%), *S. trachypus* (Fr=0,8%, e A=0,06%), *Solanum* sp. (Fr=0,3%, A=0,01%), (Tabela 1). Embora a espécie *C. duckeana* tenha sido frequente e abundante nas amostras, a mesma provavelmente não contribuiu com as principais características físico-químicas determinadas pela legislação (BRASIL, 2000), com exceção do parâmetro cinza (minerais presentes no mel). Porém, provavelmente para a nutrição das abelhas essas espécies contribuíram com maior teor proteico.

Tabela 1- Origem botânica do mel de abelha jandaíra na Caatinga, Rio Grande do Norte, Brasil. Os dados representam a análise quantitativa das amostras. As letras de A a L representam as localidades das amostras (A: Alto do Rodrigues, B: Barcelona, C: Galinhos, D: Tibau, E: Governador Rosado, F: Jandaíra, G: Mossoró, H: Pau dos Ferros, I: Riachuelo, J: São Francisco do Oeste, K: São Paulo do Potengi, L: Serra do Mel) e os números representam os meliponários amostrados em cada localidade. Em cada amostra, os tipos polínicos predominantes (com ocorrência maior que 45%) foram destacados em cinza. Os tipos polínicos com maior abundância total (A), acima de 4%, foram destacados em negrito. Os tipos polínicos com maiores valores de frequência relativa (Fr) foram destacados em negrito. * plantas com anteras poricidas, as quais disponibilizam apenas pólen para as abelhas. Em localidade R: Rural; U: Urbana.

Tipos Polínicos	A	B	C	D	E	F							G								H	I			J					K		L						
	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	1	1	2	1	2	3	4	5	1	2	1	2	3	4	5	A(%)	Fr(%)	
<i>Alternanthera tenella</i>		13	0,3			1,3	0,3					2,5			2,3	0,8				0,3			0,3						1,3	0,3						0,64	3,0	
<i>Anacardium occidentale</i>																															1,0	0,8		0,3		0,06	0,8	
<i>Anadenanthera colubrina</i>	3,0				0,3		0,3							1,3										0,5	2,5										0,22	1,7		
<i>Azadirachta indica</i>	5,5										0,3																				5,0	3,0	1,8	0,5	0,3	0,46	1,9	
<i>Borreria</i> sp. 1										0,3																					2,8					0,09	0,6	
<i>Borreria</i> sp. 2																								0,3							0,5					0,02	0,6	
<i>Borreria verticillata</i>	0,3	0,3	0,5			0,3	0,3	0,3													0,5	0,3							2,0	1,0	48	44	7,3	91	5,59	3,9		
<i>Chamaecrista duckeana</i> *	16	4,3	1,5	9,8	11	5,3	14	0,3	15	9,5	3,3	7,0	12	0,8	40	15	2,8	46	6,0	12	4,0	3,3	1,8	16	10		2,3		1,3	25	4,0	5,8	0,8	6,0	8,85	8,8		
<i>Chamaecrista</i> sp. 1 *																			2,0				0,5												0,07	0,6		
<i>Chamaecrista supplex</i> *																																	0,3		0,01	0,3		
<i>Citrus lanatus</i>						0,3																														0,01	0,3	
<i>Eucalyptus</i> sp. 1		1,0		0,3											2,0													0,3					0,8	7,5	0,34	1,7		
<i>Eugenia uniflora</i>															1,0		0,3						0,3	0,8		0,5		0,5		6,3	0,3	0,8		0,3	0,31	2,8		
<i>Leucaena leucocephala</i>					1,8	1,0		0,3	0,3			0,5		0,3							0,3										0,5				0,14	2,2		
<i>Mangifera indica</i>																																		0,5	0,01	0,3		
<i>Mimosa arenosa</i> / <i>M. caesalpinifolia</i>	8,5	19,8	0,3	0,5	11	7,5	13	1,0	1,0	2,0	82	45,3	4,8	3,5	11	2,3	6,3	0,5	7,5	2,0		9,5	4,3	1,5	2,5		2,3	0,5	57	9,3	0,3	18	1,5	0,5	1,8	9,64	9,1	
<i>Mimosa filipes</i>																							2,3							0,5		0,5			0,09	0,8		
<i>Mimosa quadrivalvis</i>											0,3																	0,3							0,01	0,6		
<i>Mimosa sensitiva</i>		0,5		0,3																								0,3	0,3					0,3	0,04	1,4		
<i>Mimosa tenuiflora</i>	61	35	97	76	4,3	66	69	94	69	87	11	26,8	78	93	27	75	87	39	75	82	39	56,3	40	67	62	1,0	65	31	37	51	2,3	5,3	29	1,3	83	51,99	9,7	

[illegible]

Tipos Polínicos	A	B	C	D	E	F							G								H	I			J					K		L						
	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	1	1	2	1	2	3	4	5	1	2	1	2	3	4	5	A%	Fr%	
Indeterminado 22										0,3																									0,01	0,3		
Indeterminado 37											0,3																								0,01	0,3		
Indeterminado 5																		0,3																	0,01	0,3		
Indeterminado 8																			0,5																0,01	0,3		
Shannon-Wiener (H')	1,3	1,6	0,2	0,9	1,5	1,1	1,0	0,3	1,1	0,5	0,7	1,5	0,8	0,4	1,7	0,9	0,6	1,2	1,0	0,7	1,3	1,3	1,2	1,2	1,4	0,1	1,2	1,4	1,0	1,2	1,6	1,7	2,0	0,5	0,7			
Riqueza de espécies	11	11	6	11	10	10	9	8	14	8	10	13	6	9	12	9	7	11	10	10	9	9	9	14	16	4	11	11	11	11	13	13	14	12	10			
Localidade	R	R	R	R	R	U	R	R	R	R	U	U	U	U	U	U	U	U	U	R	R	R	U	U	R	R	R	R	R	R	U	R	R	R	R			
Codificação das amostras	1	7	30	11	22	28	29	31	32	33	34	35	20	21	2	8	9	10	12	13	18	3	4	14	15	16	17	19	5	6	23	24	25	26	27			

O presente trabalho corrobora com a afirmativa de Barth (2004) que os meliponíneos visitam um grande número de espécies de plantas, como as espécies nativas (*M. urundeuva*, *M. tenuiflora*, *M. arenosa*) e cultivadas (*Psidium guajava*, goiaba), entre outras. Também constatado por Pinto, Albuquerque e Rêgo (2014) ao avaliarem o mel de abelha jandaíra proveniente do Maranhão identificaram 50 tipos polínicos, pertencentes a 29 famílias, 39 gêneros e 28 espécies. Os autores não identificaram quatro tipos polínicos.

Estudos demonstraram que a abelha jandaíra visita preferencialmente espécies nativas da Caatinga para coleta de pólen e néctar (PEREIRA et al., 2014; LIMÃO, 2015; MAIA-SILVA et al., 2015). Portanto é necessária a preservação e o plantio de espécies nativas na Caatinga próxima aos meliponários, para auxiliar a abelha jandaíra na produção do mel (MAIA-SILVA et al., 2012). Felipe Neto (2015) ao avaliar a influência da paisagem sobre a qualidade do mel da abelha jandaíra na Caatinga verificou que as áreas de caatinga preservada devem ser mantidas e protegidas, assim como as matas secundárias (em processo de reconstrução) para que essas sirvam como refúgio futuro para os polinizadores.

Outros estudos também registraram a predominância de espécies nativas da Caatinga no mel de abelha jandaíra, *M. caesalpiniifolia* e *Crotalaria* sp.; *M. caesalpiniifolia*; e *Alternanthera* sp. (BARTH et al., 2013; SILVA et al., 2013; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013). Já Santos, Kill e Araújo (2006) ao avaliarem a flora apícola de interesse para a *A. mellifera*, nas áreas de vegetação nativa, como fornecedoras de néctar durante o período chuvoso destacaram-se as herbáceas: *Borreria verticillata*, *Waltheria rotundifolia*, *Merremia aegyptia*, *Jaquemontia confusa*, *Hypenia salzmanni*. Já no período seco destacaram-se as arbóreas *Schinopsis brasiliensis*, *Amburana cearensis*, *Myracrodruon urundeuva* e *Sideroxylon obtusifolium*.

Silva et al (2014) ao avaliarem o pólen predominante de duas amostras de pólen de abelha jandaíra, proveniente da Paraíba, verificaram em uma a presença de *Senna* sp. (94,5%) e na outra *Chamaecrista* sp. (39,2%) e *Mimosa tenuiflora* (43,5%). Novais, Lima e Santos (2010) e Moreti et al (2000) ao avaliarem o pólen e o mel, respectivamente, da abelha *A. mellifera*, do nordeste brasileiro, também verificaram a importância da família Fabaceae para essas abelhas. Resultado semelhante ao observado no presente estudo com o mel de abelha jandaíra. Isso se deve ao fato que a família Fabaceae é muito abundante na Caatinga.

A grande frequência de *M. tenuiflora* (jurema-preta) pode ser devido ao longo período de floração dessa espécie, mesmo sendo esse irregular, quanto aos aspectos da periodicidade

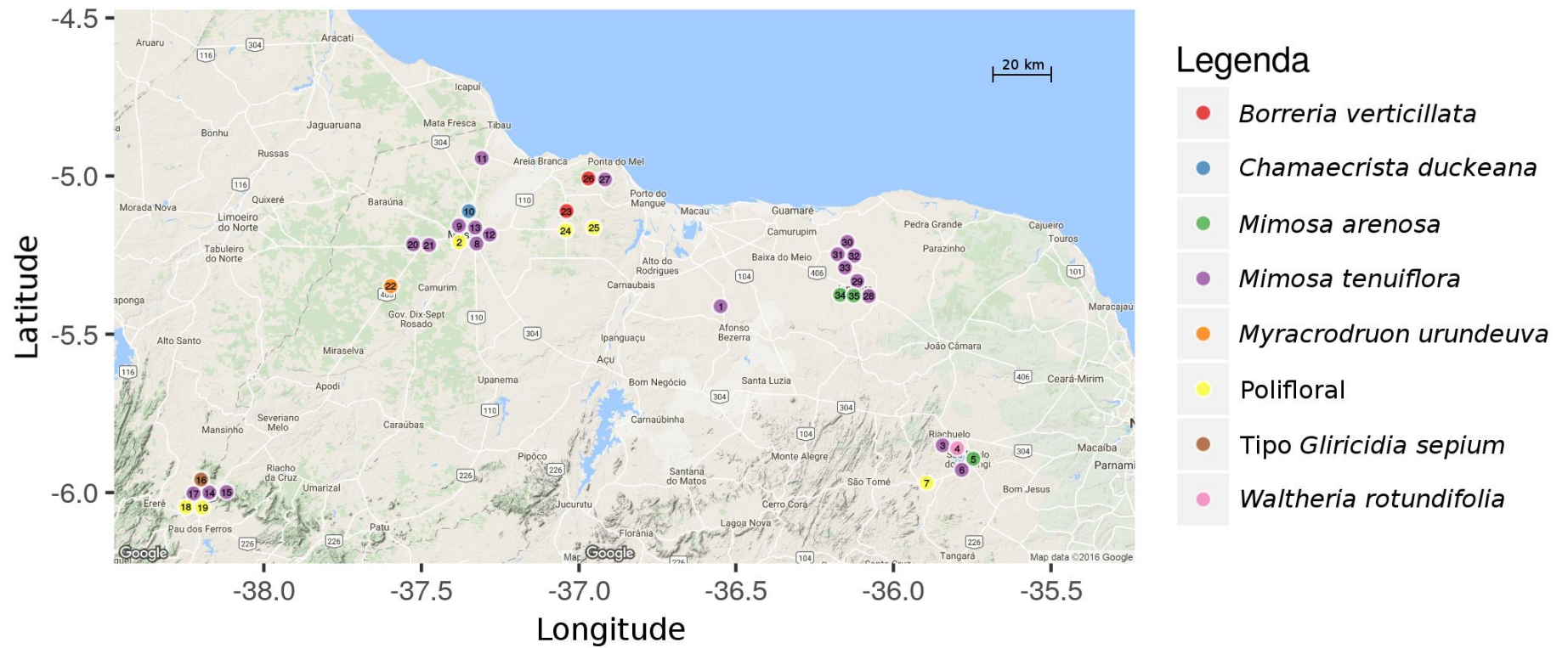
de floração e padrão de ocorrência, havendo relatos de floração entre os meses de novembro a fevereiro (BAKKE et al., 2006; LIMA, 1996). Porém, a grande quantidade observada merece destaque, pois a *M. tenuiflora* é uma das primeiras espécies a se instalar em áreas degradadas (MAIA-SILVA et al., 2012), demonstrando que as áreas estudadas apresentam espécies de vegetação primária, como a jurema-preta. Esse fato explica a predominância de jurema-preta nas amostras. A floração em massa dessa espécie é muito atrativa para as abelhas, pois permite que as forrageiras colem grande quantidade de pólen e néctar, favorecendo o aumento do estoque de alimento das colônias (LIMÃO, 2015; MAIA-SILVA et al., 2015).

Nossos resultados indicam que a espécie *M. urundeuva* (aroeira), espécie nativa da Caatinga com floração no período seco, embora tenha sido predominante, não foi frequente nas amostras de mel de jandaíra. Devido ao seu valor ecológico principalmente para as abelhas, por fornecer recursos florais na estação seca, quando esses são reduzidos (MAIA-SILVA et al., 2012), é fundamental o plantio dessa espécie em áreas de Caatinga. No estudo de Roque e Loiola (2013) foi verificado que a população local utiliza a aroeira tanto com fins medicinais, como para exploração de sua madeira, para produção de portas, mourões entre outros, devido a sua resistência. Provavelmente devido a sua exploração não sustentável para fins comerciais, essa planta é considerada ameaçada de extinção (BRASIL, 2008).

A *Waltheria rotundifolia* (malva) é uma importante fonte de néctar no período chuvoso, considerada uma espécie subarborescente perene, encontrada na Região Nordeste do Brasil, podendo ocupar áreas de lavouras, pastagens e áreas ocupadas com fruticultura (SANTOS; KILL; ARAÚJO, 2006; MOREIRA; BRAGANÇA, 2011). Plantas herbáceas são importantes no entorno dos meliponários.

Recomenda-se também o plantio próximo aos meliponários de *Pityrocarpa moniliformis* (catanduva) e *Ziziphus joazeiro* (juazeiro), pois estas além de serem espécies nativas podem contribuir com a produção de mel de ASF (MAIA-SILVA et al., 2012). Além disso, o juazeiro pode ser utilizado para diversos fins, alimentício, forrageiro e medicinal (ROQUE; LOIOLA, 2013). Alvarez et al (2012) sugeriram a utilização de plantas nativas da Caatinga com importância ecológica na arborização urbana, entre elas recomendam aroeira e juazeiro, as quais são fontes importantes de recursos florais para as abelhas. Espécies arbóreas proporcionam além de flores para as abelhas, áreas com sombra.

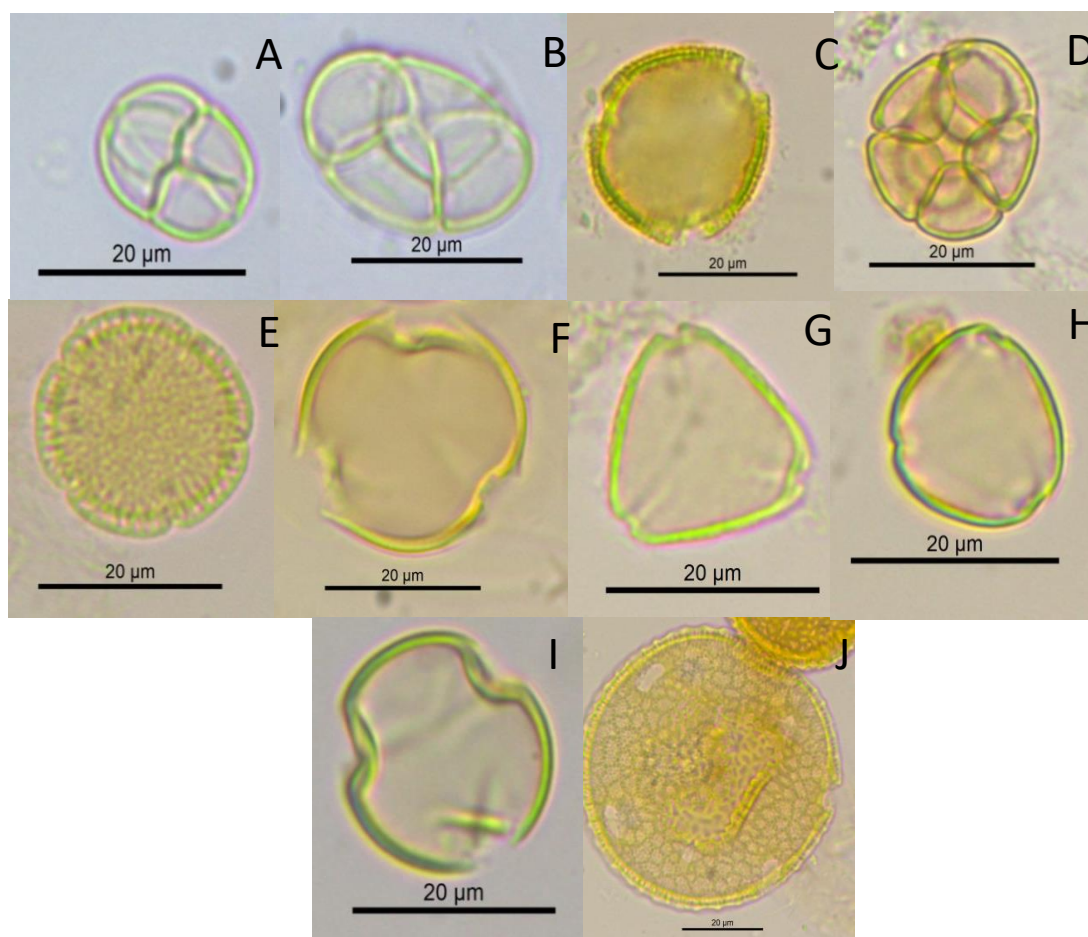
Figura 1 - Locais de coletas das amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) com identificação dos tipos de pólen predominantes (>45%), de agosto a outubro de 2013, no Bioma Caatinga.



A espécie *Psidium guajava* (goiabeira) apresenta produção de destaque na fruticultura brasileira, sendo importante para incrementar sua participação no mercado à utilização de agentes polinizadores, como as abelhas (ALVES; FREITAS, 2006). Portanto, conforme observou-se no presente estudo as plantas frutíferas podem ser utilizadas como fonte de recursos para as abelhas, e contribuir para incrementar a meliponicultura regional.

As abelhas coletam recursos florais ao visitarem as plantas, porém nem todas as espécies de plantas oferecem os mesmos recursos, havendo uma classificação das plantas em: plantas nectaríferas, plantas poliníferas e plantas poliníferas-nectaríferas (VILLANUEVA, 2002). De acordo com Machado e Lopes (2003) as plantas com anteras poricidas, polinizadas por vibração, apresentam apenas pólen como recurso. Essas plantas, principalmente os gêneros, *Senna* e *Chamaecrista*, são fundamentais para as colônias de jandaíra, predominantemente durante a estação chuvosa (MAIA-SILVA et al., 2015).

Figura 2 - Grãos de pólen predominantes e secundários (A - *Mimosa arenosa*/*Mimosa caesalpiniiifolia*, B - *Mimosa tenuiflora*, C - *Myracrodruon urundeuva*, D - *Pityrocarpa moniliformis*, E - *Borreria verticillata*, F - *Chamaecrista duckeana*; G - *Psidium guajava*, H - *Ziziphus joazeiro*, I - Tipo *Gliricidia sepium* e J - *Waltheria rotundifolia*) observados nas amostras do mel de abelha jandaíra do semiárido do Rio Grande do Norte, agosto a outubro de 2013.



5.4 Conclusão

A análise polínica do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*), proveniente do bioma Caatinga, revelou a importância das espécies nativas (*M. tenuiflora*, *M. arenosa/caesalpiniiifolia*, *M. urundeuva*, *P. moniliformis*, *Z. joazeiro*, entre outras) para a produção do mel. Além disso, demonstrou a abelha jandaíra pode servir como um potencial polinizador de um grande número de plantas nativas da Caatinga. Contudo, a biodiversidade do bioma Caatinga deve ser preservada e restaurada quando necessário, devendo-se, para isso, conscientizar as pessoas da importância da manutenção e cultivo de plantas nativas e proteção das abelhas.

REFERÊNCIA

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. da S. de; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, 1698-1706, 2013.
- ALVARES, C. A.; STAPE J. L.; SENTELHAS P. C.; GONÇALVES, M. J. L. de SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ALVAREZ, I. A.; OLIVEIRA, U. R.; MATTOS, P. P. de; BRAZ, E. M.; CANETTI, A. **Arborização urbana no semiárido: espécies potenciais da Caatinga**. Colombo: Embrapa Florestas, 2012. 30p. Disponível em: <
<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/947072/1/Doc.243arborizacaourbana.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2016.
- ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Comportamento de pastejo e eficiência de polinização de cinco espécies de abelhas em flores de goiabeira (*Psidium guajava* L.) **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p. 216-220, maio/ago., 2006.
- ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Requerimentos de polinização da goiabeira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1281-1286, set./out., 2007.
- BAKKE, I. A.; BAKKE, O. A.; ANDRADE, A. P. de; SALCEDO, I. H. Regeneração natural da jurema-preta em áreas sob pastejo de bovinos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.19, n.3, p. 228-235, jul./set., 2006.

BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: A review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, n. 3, p. 342-350, maio/jun., 2004.

BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989. 93 p. il.

BARTH, O. M. Palynology serving the stingless bees. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. **Pot honey: A legacy of stingless bees**. Cap. 20. p. 285-294. 2013.

BARTH, M. O.; FREITAS, A. da SILVA, ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; VIT, P. Palynological analysis of Brazilian stingless bee pot-honey. In: VIT, P. O.; ROUBIK, D. W. **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**, 2013. Disponível em: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/35621/3/4_palynological_analysis.pdf>. Acesso em: 20 out. 2015.

BASTOS, E. M. A. F. Origem botânica do mel e da própolis produzidos por abelhas, determinados por observações em campo, métodos microscópicos e RAPD. In: CONGRESSO BAIANO DE APICULTURA, 1.; 2002. Salvador. **Anais...** Salvador: Editora UESC, 2002. p.32-33.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm. Acesso em: 22 abr. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº6, de 23 de setembro de 2008. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/179_05122008033615.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2016.

BRUENING H. **Abelha Jandaíra**. 2. ed. Mossoró: Fundação Guimarães Duque/ Fundação Vingt-un Rosado: 2001. 148p.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Tipos polínicos coletados *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p.1-8, jul., 1999.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. 2013. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso em: 11 nov. 2015.

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

CRUZ, D. de O.; FREITAS, B. M.; SILVA, L. A. da; SILVA, E. M. S. da; BONFIM, I. G. A. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 293-298, jul./set., 2004.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms**. Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952. 539p.

FELIPE NETO, C.A. L. **Influência da estrutura da paisagem sobre a produção e qualidade de mel da abelha jandaíra (*Melipona subnitida*, Apidae: Meliponini) na Caatinga**. 2015. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

GIULIETTI, A. M.; BOCAGE NETA, A. L. DU; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J. F.; QUEIROZ, L. P. de; FIGUEIREDO, M. A.; RODAL, M. de J. N.; BARBOSA, M. R. de V.; HARLEY, R. M. **Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga**. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18267/1/Biodiversidade_Caatinga_parte2.pdf>. Acesso em: 04 maio 2016.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CONTRERA, F. A. L.; KLEINERT, A. M. P. A meliponicultura e a iniciativa brasileira dos polinizadores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 15 e CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 1. Natal-RN, 2004. **Resumo...** Disponível em: <http://www.webbee.org.br/conf_melipo_inc_bras_polin.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2016.

LIMA, J. L. S. **Plantas forrageiras da Caatinga: uso e potencialidades**. Petrolina: EMBRAPA CPATSA/PNE/RBG/KEW, 1996. 44 p.il.

LIMÃO, A. A. de C. **A influência dos fatores bióticos e abióticos no néctar coletado por *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) na Caatinga**. 2015. 60f. Dissertação (Ecologia e Conservação), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN. 2015.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, v. 59, p. 139-157, 1978.

MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Recursos florais e sistemas de polinização e sexuais em Caatinga. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. da. **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2003. Cap. 12. p. 515-564.

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

MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M.; SILVA, C. I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, p. 631-643, 2015.

MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. DA; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na caatinga**. Fortaleza: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. 195p.

MOREIRA, H. J. da C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes: hortifrúti**. São Paulo: FMC Agricultural Products, 2011. 1017 p.

MORETI, A. C. de C. C.; CARVALHO, C. A. L. de; MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA, P. C. F. de. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 1-6, jan./jun., 2000.

MORETI, A. C. de C. C.; MARCHINI, L. C.; TEIXEIRA, E. W. et al. Caracterização das plantas apícolas do Centro de Apicultura Tropical/ Instituto de Zootecnia em

Pindamonhangaba, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12. 1998, Salvador. **Anais...** Salvador: Confederação Brasileira de Apicultura, 1998. p. 179.

MORO, M. **As formações sazonalmente secas da América do Sul**. Disponível: <
<http://marcelomoro.tumblr.com/post/143862688550/as-forma%C3%A7%C3%B5es-sazonalmente-secas-da-am%C3%A9rica-do-sul>>. Acesso em: 17 jun 2016.

NOVAIS, J. S. de; LIMA, L. C. L. e; SANTOS, F. de A. R. dos. Bee pollen loads and their use in indicating flowering in the Caatinga region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n; 10, p. 1355-1358, 2010.

OLIVEIRA, P. P.; BERG, C. V. D.; SANTOS, F. DE A. R. DOS. Pollen analysis of honeys from Caatinga vegetation of the state of Bahia, Brazil. **Grana**, v. 49, n. 1, p. 66-75, mar., 2010. Disponível em: < <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00173130903485122>>. Acesso em: 20 de jun. 2016.

PEREIRA, J. S.; LIMÃO, A. A. C.; SILVA, A. G. M.; MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M. Forrageamento de pólen no semiárido brasileiro: plantas visitadas pela abelha jandaíra (*Meliponini*, *Melipona subnitida*) em um ambiente urbano. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 32 e SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE ETOLOGIA, 5. Mossoró-RN, 2014. **Anais...** Disponível em: <
http://www.etologiabrasil.org.br/xxxiieae/files/Anais_XXXIIEAE_VSLAE_nr86kjft.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2016.

PINTO, R. S.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RANGWO, M. M. C. Pollen Analysis of food pots stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga área. **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 461-469, 2014.

ROQUE, A. de A.; LOIOLA, M. I. B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, p. 88-98, out./dez., 2013.

SANTOS, G. M. de M.; AGUIAR, C. M. L.; MELLO, M. A. R. Flower-visiting guild associated with the Caatinga flora: trophic interaction networks formed by social bees and social wasps with plants. **Apidologie**, v. 41, p. 466–475, 2010.

SANTOS, R. F.; KIILL, L. H. P.; ARAÚJO, J. L. P. Levantamento da flora melífera de interesse apícola no município de Petrolina-PE. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 221-227, jul./set., 2006.

SANTOS JÚNIOR, M. C.; SANTOS, F. A. R. Identificação botânica de méis da Bahia: estudo palinológico. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53; REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 25. Recife-PE, 2002. **Resumos...** Recife: Sociedade Botânica do Brasil, 2002. p.191.

SILVA, C. I.; BALLESTEROS, P. L. O.; PALMERO, M. A.; BAUERMANN, S. G.; EVALDT, A. C. P.; OLIVEIRA, P. E. **Catálogo polínico**: palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xyloca* no Triângulo Mineiro. Uberlândia:EDUFU, 2010. 154p.

SILVA, F. H. M. **Contribuição à palinologia das caatingas**. 2007. 182 f. Tese (Botânica), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA. 2007. Disponível em: <

http://www2.uefs.br/ppgbot/pdf_dissertacoes_teses/doutorado/2007/hildersilva.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2015.

SILVA, G. R. da; NATIVIDADE, T. B. da; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S. da; SANTOS, F. de A. R. dos; SILVA, T. M. S. Identification of sugar, amino acids and minerals from the pollen of jandaíra stingless bees (*Melipona subnitida*). **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, p. 1015-1021, 2014.

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

VILLANUEVA, G. R. Polliniferous plants and foraging strategies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Yucatán Peninsula, Mexico. **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 50, n. 3-4, p. 1035-1044, dez., 2002.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. da. **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2003. Cap. 2. p. 75-134.

6 CAPÍTULO IV - ESTOCAGEM DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) DO SEMIÁRIDO

6.1 Introdução

O mel das abelhas sem ferrão (ASF), como a jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) é utilizado como alimento e medicamento natural no tratamento de algumas doenças (BIJLSMA et al., 2006). Este produto apresenta particularidades quando comparado com o mel da abelha africanizada (*Apis mellifera*), como umidade elevada e coloração predominante clara, além de outras diferenças. Não existindo legislações específicas para o mel das ASF, pela falta de informações sobre sua composição e também devido às particularidades observadas entre as diferentes espécies dessas abelhas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; SILVA et al., 2013; SOUSA et al., 2013).

As ASF apresentam mel com vida de prateleira menor, provavelmente devido à fatores como: o tipo de néctar coletado, que pode apresentar grande quantidade de água; associado ao fato da operculação dos potes de mel ocorrer quando ainda há umidade elevada do mel, o que facilita a fermentação (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

A vida de prateleira dos alimentos pode ser avaliada pela determinação das suas características físico-químicas e verificação do atendimento as normatizações. No mel essas permitem avaliar diversos aspectos, como: maturidade (açúcares, sacarose e umidade), pureza (sólidos insolúveis, cinzas e pólen) e deterioração (acidez livre, atividade diastásica, hidroximetilfurfural) (BRASIL, 2000). Essas podem ser modificadas mais rapidamente se o produto for mantido sob condições inadequadas de estocagem e embalagem (PAIVA et al., 2012; NOMBRE et al., 2010).

Portanto o conhecimento do comportamento das características do mel de abelha jandaíra durante a estocagem é fundamental para se estimar a vida de prateleira desse produto. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi analisar as características do mel de abelha jandaíra durante a estocagem.

6.2 Material e Métodos

Foram avaliadas 35 amostras de mel de abelha jandaíra (*M. subnitida* Ducke), coletadas no semiárido do nordeste brasileiro, de forma asséptica, com auxílio de seringas e espátulas esterilizadas, sendo acondicionadas em frascos transparentes de plásticos estéreis, e mantidos sob a proteção da luz, com temperatura média de 25 °C. As amostras foram avaliadas em três momentos, logo após a colheita (M_0), 12 meses pós-colheita (M_{12}) e 18 meses pós-colheita (M_{18}).

As amostras foram analisadas quanto as características de umidade, atividade de água (Aa), pH, acidez livre, hidroximetilfurfural (HMF) e cor.

O teor de umidade foi avaliado com o auxílio do refratômetro digital portátil da marca Atago, modelo PAL-22S. Para determinar a atividade de água do mel utilizou-se o medidor de atividade de água da marca Testo modelo 650. A cor foi medida através de fotômetro medidor, com parâmetro da cor do mel, da marca Hanna, modelo HI 83221. O valor obtido em graus Pfund em milímetros (mm) foi comparado com tabela de determinação da cor do mel. Para todos os equipamentos utilizados foram seguidas as instruções do fabricante, sendo os mesmos previamente calibrados.

Para avaliar o pH foram pesadas 10 gramas de cada amostra de mel, essas foram diluídas em 75 mL de água destilada, em seguida utilizou-se o medidor de pH, previamente calibrado (IAL, 2008). A determinação da acidez livre foi realizada de acordo com Almeida-Muradian e Bera (2008) e IAL (2008), na qual as amostras pesadas e diluídas para medição do pH foram utilizadas. O medidor de pH foi mantido nas amostras enquanto ocorria a titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,05N, até pH 8,5.

Para a avaliação do HMF pesou-se cinco gramas de cada amostra de mel, sendo em seguida diluído e colocado em balão de 50 mL. Pegou-se dois tubos de ensaio, em cada um, pipetou-se dois mL da solução de mel e cinco mL da solução de P-toluidina. Em um dos tubos (tubo branco), adicionou-se um mL de água destilada, e no outro (tubo teste), um mL de solução de ácido barbitúrico. Em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS 200-1000nm banda:5nm da marca Biospectro, modelo SP-220, em absorbância de 550 nm. O valor da absorbância foi multiplicado por 192 para determinar o valor do HMF em mg/Kg (IASC, [s.a]).

6.2.1 Análise estatística

A análise estatística foi realizada em ambiente R (R Core Team, 2015). Os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram testados segundo Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Todas as análises foram conduzidas a probabilidade de 5%.

No intuito de identificar diferenças significativas nos parâmetros (umidade, pH, Aa, Acidez livre, HMF e Escala Pfund - Cor) das amostras de mel nos diferentes tempos (momento zero – M_0 , 12 meses – M_{12} e 18 meses – M_{18} pós coleta) foi utilizada uma repeated measures ANOVA (medidas repetidas no tempo). Quando encontradas diferenças o teste de comparações múltiplas Dunnett foi utilizado, também a 5% de probabilidade. Foi realizada correlação de Pearson, entre os parâmetros físico-químicos, cor e o tempo de armazenamento das amostras de mel, para os dados.

6.3 Resultados e Discussão

Ao avaliar as características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*), Tabela 1, verificou-se que houve diminuição da umidade e pH, além de aumento da acidez livre, HMF e cor, durante o período de estocagem.

A umidade reduziu após 18 meses de estocagem, grande parte dos dados esteve próximo à média geral (Figuras 1A). A atividade de água (Aa) não apresentou comportamento homogêneo, verificou-se aumento (M_{12}) e depois diminuição (M_{18}), sendo que este não foi diferente do momento inicial (FIGURA 1B). Os valores de acidez livre, pH, e cor (escala Pfund) apresentaram distribuição semelhante, com alguns valores discrepantes acima da média. Durante as análises de estocagem o pH reduziu (Figura 1C) e a cor aumentou (escurecimento) (Figura 1F). A acidez livre e o HMF foram mais elevados com 18 meses de estocagem (Figuras 1D e 1E), porém a maioria dos valores discrepantes de HMF estava acima da média.

A umidade reduziu durante o armazenamento (Tabela 1). Almeida-Muradian, Stramm, Estevinho (2014) ao avaliarem as características do mel de *M. subnitida* armazenado em diferentes temperaturas, não verificaram diferença estatística entre os momentos de análise para umidade (0, 4, 8 e 12 meses).

Os valores da atividade de água (Aa) variaram, nos diferentes períodos de análises. A variação observada para Aa são semelhantes aos observado por Silva et al (2013), ao avaliarem o mel de *M. subnitida* até seis meses pós colheita.

O pH variou de 3,25 a 5,07 (M_0), 3,07 a 4,78 (M_{12}), 3,07 a 4,55 (M_{18}), havendo diminuição no valor ($p < 0,05$), nos diferentes tempos de estocagens. O valor do pH pode influenciar na textura e na vida de prateleira do mel, já que valores baixos de Aa e pH pode manter condições para o desenvolvimento de fungos e leveduras osmofílicas (TERRAB et al., 2004; GOMES et al., 2010).

Tabela 1 - Médias das características físico-químicas e cor do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos tempos 0, 12 e 18 meses de estocagem.

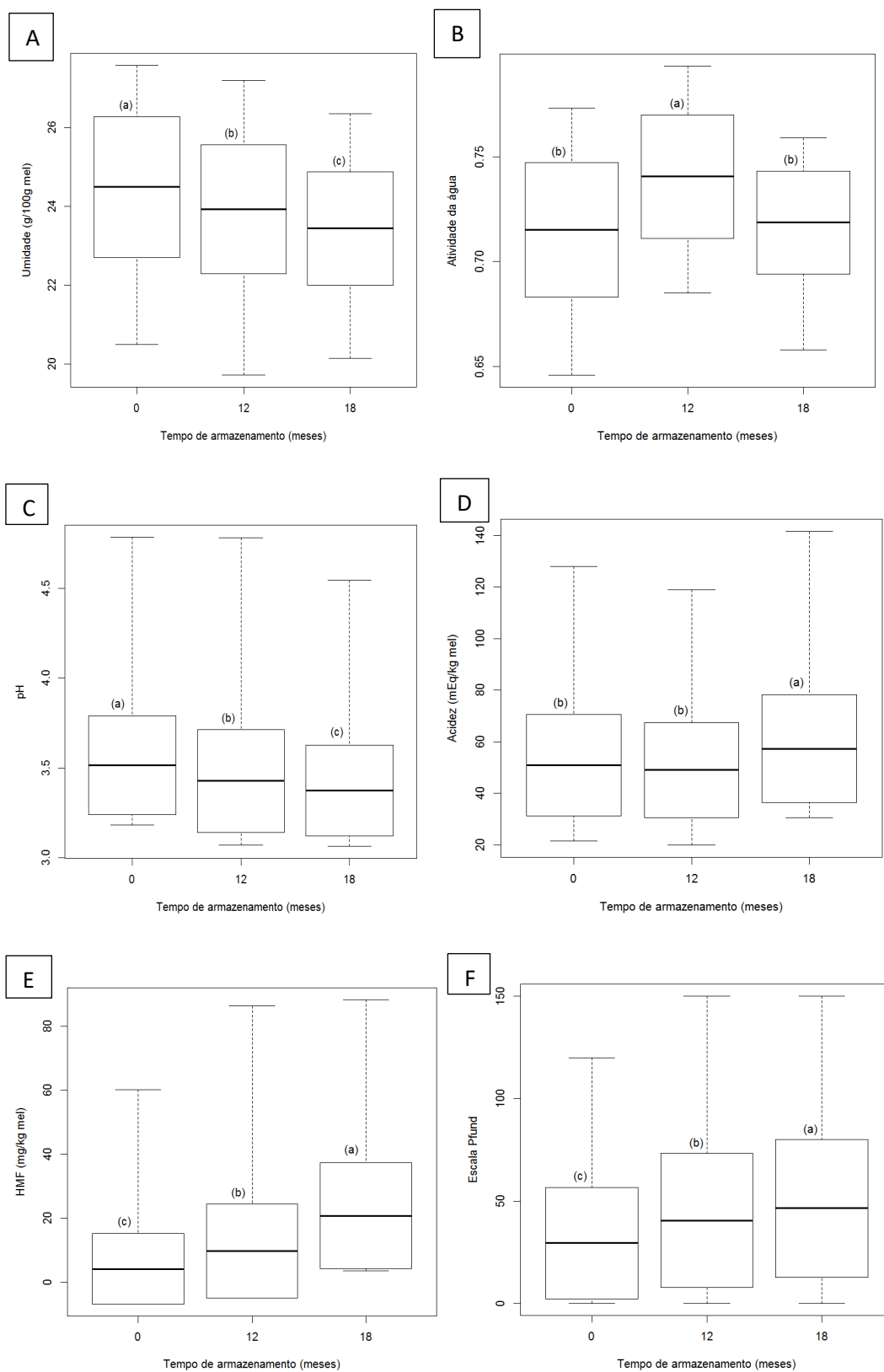
	Tempo (mês)		
	0	12	18
Umidade (g/100g mel)	24,49a ($\pm 1,79$)	23,93b ($\pm 1,63$)	23,43c ($\pm 1,44$)
pH	3,51a ($\pm 0,28$)	3,43b ($\pm 0,29$)	3,37c ($\pm 0,25$)
Aa	0,71b ($\pm 0,03$)	0,74a ($\pm 0,03$)	0,72b ($\pm 0,02$)
Acidez livre (mEq/kg mel)	50,89b ($\pm 19,63$)	48,98b ($\pm 18,53$)	57,30a ($\pm 20,92$)
HMF (mg/kg mel)	4,18c ($\pm 11,00$)	9,75b ($\pm 14,73$)	20,77a ($\pm 16,56$)
Escala Pfund – Cor (mm)	29,40c ($\pm 27,28$)	40,46b ($\pm 32,81$)	46,46a ($\pm 33,61$)

Letras diferentes na mesma linha significa diferença estatística em nível de significância de 5% nos períodos de estocagem.

A acidez livre variou de 24,3 a 83,8 mEq/kg (M_0), 20 a 119 mEq/kg (M_{12}), 31,0 a 141,5 mEq/kg (M_{18}). Silva et al (2013) verificaram acidez inferior ao apresentado no presente estudo para o mel de jandaíra em análise realizada até seis meses pós colheita. Almeida-Muradian, Stramm e Estevinho (2014) não verificaram variação significativa na acidez do mel de abelha jandaíra mantido em temperatura ambiente por 12 meses.

A acidez do mel pode estar relacionada com o tempo de colheita (maturidade do mel) e/ou fatores climáticos, que favorecem as reações que são capazes de liberar compostos ácidos no mel (PUCCIARELLI et al., 2014).

Figura 1 - Médias das características do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos diferentes tempos de análise. (A) Umidade; B) Atividade de água; C) pH; D) Acidez livre; E) HMF (Hidroximetilfurfural); F) Escala Pfund (Cor).

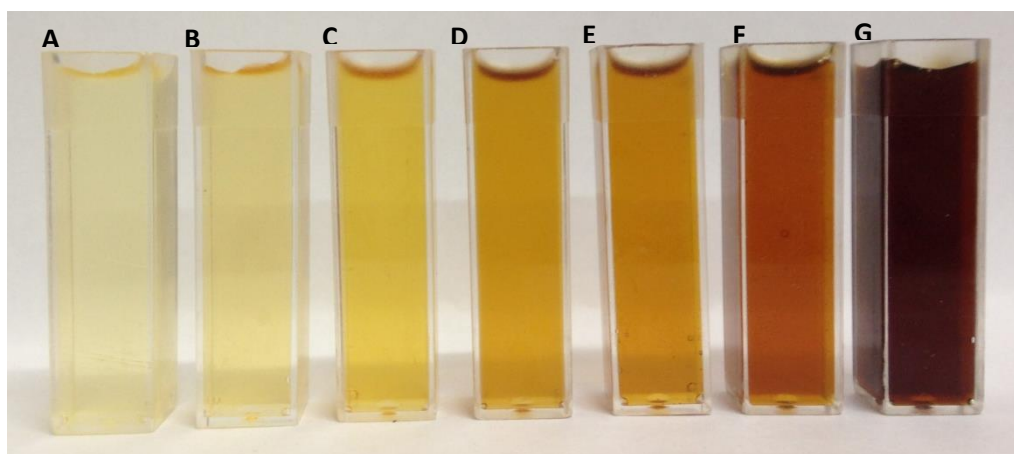


E de acordo com Ananias, Melo e Moura (2013) valores de acidez acima do permitido também podem estar relacionados com características de origem do produto, como: espécies de abelha, floração e clima ou região.

A média do HMF foi mais elevada no maior tempo de estocagem. Resultado semelhante foi relatado por Moura et al (2011) que observaram aumento do valor do HMF no mel de *A. mellifera* no maior tempo de estocagem, e verificaram que o mel quando mantido sob refrigeração, retarda o aparecimento do HMF. Corroborando com a conclusão de Melo, Duarte, Mata (2003) de que o HMF pode ser afetado pelo tipo de embalagem, temperatura e período de estocagem que o mel é submetido. Porém, diferente do observado por Almeida-Muradian, Stramm e Estevinho (2014) que ao avaliarem o mel de *M. subnitida*, estocado em temperatura ambiente, não verificaram diferença estatística no maior período de estocagem (12 meses).

Com relação à cor houve variação de 0 a 133mm (M_0), 0 a 150mm (M_{12} e M_{18}), na qual o 0mm corresponde a cor Branco d'água e os valores 133 e 150mm a cor Âmbar escuro, cores estabelecidas na escala Pfund (Figura 2). Portanto houve escurecimento do mel durante o período de estocagem, com média variando do Branco, no tempo 0, para o Extra âmbar claro com 18 meses. De acordo com Mehryar; Esmaili; Hassanzadeh (2013) a temperatura, o tempo de armazenamento e a forma da colheita afetam a cor do mel. No mel de meliponíneos há predominância de cor clara, o que pode resultar numa alta aceitação no mercado internacional (ALVES et al., 2005).

Figura 2 - Cores das amostras de mel de jandaíra (*Melipona subnitida*) após longo período de estocagem.



A - Extra Branco; B - Branco; C - Âmbar Claro; D - Âmbar Claro; E - Âmbar Claro; F - Âmbar; G - Âmbar escuro.

Observou-se correlação entre Aa e umidade ambas diminuíram; a acidez livre e HMF como também, acidez livre e cor aumentaram. O pH e a cor apresentaram comportamento inverso, ou seja, o pH diminuiu e a cor aumentou (Tabela 2).

O HMF e a cor aumentaram durante a estocagem, resultado também observado por Visquert, Vargas e Escriche (2014) ao avaliarem os efeitos das condições de armazenamento pós-colheita sobre os parâmetros de cor e de frescor do mel de *A. mellifera*, verificaram que o maior período de estocagem e as altas temperaturas fizeram com que o HMF e a cor aumentassem. Almeida-Muradian; Stramm; Estevinho (2014) observaram que durante a estocagem, a cor do mel de *M. subnitida* é menos afetada em temperatura ambiente.

Tabela 2 - Correlação de Perarson (r) das características físico químicas do mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) nos diferentes tempos de estocagem.

Variáveis	Tempo	Aa	HMF	Umidade	pH	Acidez	Cor
Tempo	1,00	0,11	0,41	-0,26	-0,21	0,11	0,22
Aa		1,00	-0,16	0,67	0,05	0,03	0,06
HMF			1,00	-0,33	-0,10	0,69	0,55
Umidade				1,00	-0,01	0,02	-0,11
pH					1,00	-0,01	0,59
Acidez						1,00	0,56
Cor							1,00

Considerando-se correlações moderadas ou fortes aquelas acima de |0,5|. Valores em negrito indicam correlação.

Embora a umidade tenha reduzido com o tempo de estocagem, o valor superior a 20%, preocupa, já que favorece o processo de fermentação. E isso pode ter ocorrido, já que observou-se elevação da acidez e redução do pH. Além disso, as características de HMF e cor também foram alteradas com o período de estocagem, mas essas estiveram de acordo com a legislação existente para o mel de *A. mellifera*. Por já existirem relatos de umidade e acidez mais alta no mel de ASF, em uma legislação própria para o mel deste tipo de abelhas, esses parâmetros sdeveriam seriam alterados, como também deveria ser exigido um maior controle das características microbiológicas do mel, já que a acidez pode ser proveniente do desenvolvimento de microrganismos, o que poderia afetar (diminuir) o prazo de validade do mel.

6.4 Conclusão

O mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) durante os diferentes períodos de estocagem (0, 12 e 18 meses) apresentou diminuição da umidade e pH, além do aumento do HMF, cor e acidez livre. Portanto, caso não ocorra a avaliação microbiológica do mel de jandaíra a vida de prateleira deveria ser inferior aos 18 meses, já que as características de deterioração começaram a aumentar o que pode alterar a qualidade do produto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; BERA, A. **Manual de controle de qualidade do mel**. São Paulo: APACAME, 2008. 32p.

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

ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* SMITH (HYMENOPTERA: APIDAE). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 644-650, out./dez., 2005.

ANANIAS, K. R.; MELO, A. A. M. DE; MOURA, C. J. DE. Analysis of moisture content, acidity and contamination by yeast and molds in *Apis mellifera* L. honey from central Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 679-683, jul./set., 2013.

BIJLSMA, L.; BRUIJN, L. L. M. de; MARTENS, E. P.; SOMMEIJER, M. J. Water content of stingless bee honeys (Apidae, Meliponini): interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 37, n. 4, p. 480-486, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm. Acesso em: 22 abr. 2015.

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

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.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

IASC - INSTITUTO DE APICULTURA DE SANTA CATARINA. **Métodos químicos para análise de mel**. Apostila Avulsa, [s.a].17 p.

MEHRYAR L.; ESMAILI M.; HASSANZADEH, A. Evaluation of Some Physicochemical and Rheological Properties of Iranian Honey and the Effect of Temperature on its Viscosity. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 13, n. 6, p. 807-819, 2013.

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

MOURA, S. G.; SOUZA, D. C.; MURATORI, M. C. S.; ALENCAR, L. C. Hidroximetilfurfural em méis de *Apis mellifera* Linnaeus (Apoidea: Apidae) armazenados à temperatura ambiente e sob refrigeração, Piauí – Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 4, p. 1077-1083, out./dez., 2011.

NOMBRÉ, I.; SCHWEITZER, P.; BOUSSIM, J. I.; RASOLODIMBY, J. M. Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso. **African Journal of Food Science**, v. 4, n. 7, p. 458 - 463, 2010.

PAIVA, C. A.; TOMAZ, H. V. de Q.; AROUCHA, E. M. M.S; NUNES, G. H. S.; OLIVEIRA, A. J. F. DE. Vida de prateleira do mel produzido por abelhas africanizadas. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 6, n. 2, p. 151-159, abr./jun., 2012.

PUCCIARELLI, A. B.; SCHAPOVALOFF, M. E.; KUMMRITZ S., SEÑUK, I. A.; BRUMOVSKY, L. A., DALLAGNOL, A. M. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 46, n. 4, p. 325-332, out./dez., 2014.

R Core Team. 2015. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <URL: <http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 27 dez. 2015.

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

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

TERRAB, A.; RECAMALES, A. F.; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. J. Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. **Food Chemistry**, v. 88, n. 4, p. 537-542, 2004.

VISQUERT, M.; VARGAS, M.; ESCRICHE, I. Effect of postharvest storage conditions on the colour and freshness parameters of raw honey. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 181–187, 2014.

7 CAPÍTULO V – SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) PRODUZIDO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

7.1 Introdução

O mel apresenta características que dificultam o desenvolvimento de microrganismos, como a atividade antimicrobiana e baixa atividade de água, porém mesmo com estes parâmetros intrínsecos, pesquisas comprovaram sua contaminação com microrganismos (SOUZA et al., 2009; SNOWDON, 1999).

Há relatos da atividade antimicrobiana do mel de abelhas sem ferrão (ASF) contra diversos microrganismos, sendo esses provenientes de cepas e focos infecciosos (BORSATO et al., 2013; GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005), além do efeito cicatrizante em feridas pelo uso do mel de *Melipona subnitida*, provavelmente devido à ação na defesa imunológica e da própria atividade antimicrobiana (ALVES et al., 2008).

O mel das ASF apresenta elevada umidade, que aumenta a probabilidade de deterioração microbiana, quando comparado ao mel de *Apis mellifera*, porém sua elevada acidez pode minimizar o efeito negativo (HOLANDA et al., 2012).

Segundo Snowdon e Cliver (1996) as contaminações do mel podem ser primárias (pólen, o aparelho digestivo das abelhas, poeira, ar, terra e néctar) e secundárias (pós-colheita). Os microrganismos no mel podem ser os comuns a esse; os que indicam qualidade sanitária; e os que podem causar doenças.

Nesse sentido, merecem atenção às leveduras, fungos e as bactérias formadoras de esporos, como as dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007). Porém a grande maioria dos trabalhos sobre microbiologia do mel de ASF apenas avaliam fungos, leveduras e coliformes (SOUZA et al., 2009; MATOS et al., 2011; MONTE et al., 2013), e poucos avaliaram outros microrganismos (PUCCIARELLI et al., 2014; ZAMORA; ARIAS, 2011). Mesmo sabendo-se do risco para as crianças menores de um ano de idade de ingerirem o mel, pela possibilidade de produção da toxina botulínica no intestino (KETCHAM; GOMEZ, 2003). No Brasil, as fórmulas infantis com adição de mel, deve ser designado como fórmula infantil de seguimento para crianças de primeira infância (de 1 a 3 anos de idade), além do mel passar por prévio tratamento para destruir os esporos de *C. botulinum* (ANVISA, 2011).

O mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*), embora seja um alimento bem aceito pelos consumidores do nordeste do Brasil, sofre alguns entraves, devido à inexistência de uma regulamentação que torne possível sua comercialização. Há ainda um número reduzido de trabalhos que abordem a pesquisa de microrganismos, dificulta o conhecimento de sua contaminação. Por estes motivos objetivou-se pesquisar microrganismos aeróbios e anaeróbios no mel de abelha jandaíra produzido na região semiárida do Brasil.

7.2 Material e Métodos

As amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) foram coletadas assepticamente, com auxílio de seringas e espátulas estéreis, e acondicionadas em frascos plásticos estéreis. Coletou-se 35 amostras, de meliponicultores diferentes, provenientes de 12 municípios da região semiárida do nordeste Brasileiro, durante agosto a outubro de 2013. Pesquisou-se nas amostras microrganismos aeróbios (Coliformes a 45 °C, Bactérias mesófilas, *Staphylococcus* sp, *Salmonella* spp., Fungos e Leveduras), no laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e microrganismos anaeróbios (*Clostridium perfringens*, *C. botulinum*, *C. difficile* e *Bacillus*) no Laboratório de Bacteriose e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e os *Bacillus* no Laboratório de doenças de animais aquáticos (AQUAVET) da UFMG.

7.2.1 Microrganismos aeróbios

Para a pesquisa dos microrganismos aeróbios (Coliformes a 45 °C, Bactérias mesófilas, *Staphylococcus* sp, *Salmonella* spp., Fungos e Leveduras) pesou-se 25 gramas da amostra de mel, e diluiu-se em 225 mL de água peptonada (10^{-1}). Em seguida foram realizadas as diluições sucessivas até 10^{-3} , sendo as análises realizadas de acordo com o recomendado pela instrução normativa nº 62/2003 do Ministério da Agricultura, a qual descreve os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água (BRASIL, 2003).

Na pesquisa de *Salmonella* incubou-se a diluição 10^{-1} em estufa a 36 °C por 20 horas, sendo depois incubada em caldos Rappaport-Vassiliadis, Tetrationato e Selenito Cistina por 24 horas a 41 °C em banho-maria. Em seguida os caldos foram repicados para placas

contendo ágar Rambach e ágar *Salmonella Shigella* e incubadas a 36 °C por 24 horas. As placas com colônias foram repicadas para tubos contendo ágar triplo açúcar ferro (TSI) e ágar lisina ferro (LIA) e incubadas por 24 horas a 36 °C. As amostras positivas, nos dois tubos, foram repicadas para tubos com ágar uréia e incubadas a 36 °C por 24 horas. Sendo consideradas positivas as amostras que não apresentaram reação a uréia.

A determinação de coliformes a 45 °C foi realizada pela técnica do número mais provável (NMP/g), em serie de três tubos, com caldo *Escherichia coli* e foram incubados em banho-maria a 45 °C por 48 horas.

Na pesquisa de bactérias mesófilas, *Staphylococcus*, utilizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade. O ágar padrão para contagem (PCA) foi usado para pesquisa de Bactérias mesófilas e para *Staphylococcus* o ágar Baird Parker suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito a 1%. As placas foram mantidas a 36 °C durante 48 horas.

Para a pesquisa de fungos e leveduras utilizou-se a técnica de plaqueamento em superfície em ágar batata dextrose acidificado (ácido tartárico a 10%), sendo as placas mantidas em BOD por cinco dias a 25 °C.

7.2.2 Microrganismos anaeróbios

Para a pesquisa de clostrídeos foram pesadas 25 gramas da amostra de mel, sendo essa diluída em 225 mL de PBS. Esta diluição foi homogeneizada, sendo então pipetado um mL em tubos contendo caldo Cooked Meat Medium (CMM) e caldo Reinforced Clostridial Medium (RCM). Estes tubos foram submetidos a choque térmico, 80 °C por 10 minutos, depois resfriados a 37 °C e incubados em câmara de anaerobiose (ThermoScientific, EUA) a 37 °C.

7.2.2.1 Técnica convencional

Para a pesquisa de *C. perfringens* os tubos de CMM e RCM, que estavam na câmara de anaerobiose, com turvação em 24 horas (APÊNDICE E) foram repicados para o ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS), e incubados na câmara de anaerobiose a 37 °C por 24 horas. As placas com crescimento de colônias foram selecionadas para realização da coloração de Gram. Colônias que apresentaram bastonetes gram-positivos foram submetidas à extração do DNA, para realização da PCR. Para isso, selecionou-se duas colônias das placas de ágar SPS e essas foram depositadas em *eppendorf* com água ultra-pura (Milli-Q, Millipore,

EUA). Os *ependorfs* foram mantidos em água fervente por 20 minutos sendo depois centrifugado (BAUMS et al., 2004). Coletou-se aproximadamente 300 µL do sobrenadante para serem utilizados como DNA molde na PCR multiplex da genotipagem de *C. perfringens*.

Já para a pesquisa de *C. botulinum* os tubos de CMM e RCM permaneceram incubados em câmara de anaerobiose a 37 °C por seis dias. Os tubos turvados foram repicados para placas contendo Ágar Muller-Hinton suplementado com 5% de sangue ovino e Ágar Gema de Ovo (GLASBY; HATHEWAY, 1985). Em seguida as placas foram incubadas em câmara de anaerobiose a 37 °C por 48 horas. As placas com crescimento de colônias foram selecionadas para realização da coloração de Gram. As colônias que apresentaram bastonetes gram-positivos foram submetidas à extração do DNA, para realização da PCR, conforme Baums et al (2004). Coletou-se aproximadamente 300 µL do sobrenadante para serem utilizados como DNA molde para as PCRs de *C. botulinum*.

7.2.2.2 Técnica Molecular

7.2.2.2.1 Clostrídeos - Extração de DNA e realização da PCR diretamente do caldo CMM

Os tubos de CMM, com crescimento, após a incubação por seis dias foram selecionados, e pipetou-se um mL do caldo em *ependorf* e foram centrifugados. O conteúdo do *ependorf* foi ressuspensionado com TE (tris edta). O material foi aquecido em termobloco a 98 °C por 20 minutos, e submetido novamente à centrifugação, sendo extraída a parte líquida, para realização da PCR das seguintes espécies de Clostrídeos: *C. perfringens*, *C. difficile* e *C. botulinum*.

7.2.2.2.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A PCR multiplex foi utilizada para a pesquisa de *Clostridium perfringens*, como cepas padrões utilizou-se, tipo A (ATCC 3624), tipo B (ATCC3626), tipo C (ATCC3628), tipo D (ATCC 3629) e tipo E (ATCC 27324). Foram utilizados iniciadores específicos para detecção das toxinas alfa (*cpa*), beta (*cbp*), beta-2 (*cpb-2*), épsilon (*etx*), iota (*ia*) e enterotoxina (*cpe*). (Tabela 1). O protocolo utilizado constituiu-se de desnaturação inicial 95 °C por 5 min, com ciclo de desnaturação 95 °C por 60s, anelamento 48 °C por 60s e extensão 72 °C por 60s, sendo repetido 40 vezes, e a extensão final foi 72 °C por 8 minutos (VIEIRA et al., 2008).

Clostridium difficile também foi pesquisado por uma técnica de PCR multiplex utilizando-se a cepa padrão (ATCC 9689) como controle da pesquisa de um gene constitutivo de *C. difficile* (*tpi*) e suas toxinas: Toxina A (TcdA), Toxina B (TcdB) e toxina binária (CdtB). A reação seguiu-se com desnaturação inicial foi de 95 °C por 5 min, e o ciclo foi de desnaturação 95°C por 30s, anelamento 52 °C por 30s e extensão 72°C por 30s, sendo repetido 35 vezes, e a extensão final foi de 72 °C por 10 minutos. As informações sobre os iniciadores estão na Tabela 1 (SILVA et al., 2011).

Para a pesquisa de *C. botulinum* utilizou-se dois protocolos de PCR: um para a pesquisa dos tipos A, B, E e F, com reação de desnaturação inicial a 95 °C por 15 min, seguido de ciclos de desnaturação 95 °C por 30s, anelamento 56 °C por 30s e extensão 72 °C por 90s, sendo repetido 35 vezes, e a extensão final foi 72 °C por 7 min (MEDICI et al., 2009). A reação para a pesquisa dos tipos C e D seguiu-se o protocolo de Prévot et al (2007), com desnaturação inicial a 95 °C por 15 min, e o ciclo foi de desnaturação 94 °C por 30s, anelamento 55 °C por 30s e extensão 72 °C por 30s, sendo repetido 40 vezes, e a extensão final foi 72 °C por 10 min. Os primers iniciadores e tamanho dos fragmentos utilizados para a pesquisa de *C. botulinum* podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 - Primers iniciadores e pares de bases utilizados nas PCR para a pesquisa de *Clostridium perfringens*, *C. difficile* e *C. botulinum*.

Tipo	Primers	Sequência (5' - 3')	Pares de base
<i>C. perfringens</i>	<i>cpa</i> _f <i>cpa</i> _r	GCT AAT GTT ACT GCC GTT GA CCT CTG ATA CAT CGT GTA AG	324
<i>C. perfringens</i>	<i>cpb</i> _f <i>cpb</i> _r	GCGAATATGCTGAATCATCTA GCAGGAACATTAGTATATCTTC	196
<i>C. perfringens</i>	<i>etx</i> _f <i>etx</i> _r	GCGGTGATATCCATCTATTC CCACTTACTTGTCTACTAAC	655
<i>C. perfringens</i>	<i>ia</i> _f <i>ia</i> _r	TTTTAACTAGTTCATTTCTAGTTA TTTTTGATTCTTTTTCTCTAGATT	298
<i>C. perfringens</i>	<i>cpe</i> _f <i>cpe</i> _r	GGAGATGGTTGGATATTAGG GGACCAGCAGTTGTAGATA	233
<i>C. perfringens</i>	<i>cpb2</i> _f <i>cpb2</i> _r	GAAAGGTAATGGAGAA GCAGAATCAGGATTTT	573
<i>C. difficile</i>	<i>tpi</i> _f <i>tpi</i> _r	AA AGA AGC TAC TAA GGG TACAAA CAT AAT ATT GGG TCT ATT CCTAC	210
<i>C. difficile</i>	<i>tcdA</i> _f <i>tcdA</i> _r	AGATTCCTATATTTACATGACAATAT GTATCAGGCATAAAGTAATATACTTT	365/110

<i>C. difficile</i>	<i>tcdB_f</i> <i>tcdB_r</i>	GGAAAAGAGAATGGTTTTATTAA ATCTTTAGTTATAACTTTGACATCTTT	160
<i>C. difficile</i>	<i>cdtB_f</i> <i>cdtB_r</i>	TTGACCCAAAGTTGATGTCTGATTG CGGATCTCTTGCTTCAGTCTTTATAG	262
<i>C. botulinum</i> A	<i>ioa_f</i> <i>ioa_r</i>	GGGCCTAGAGGTAGCGTARTG ^a TCTTYATTTCCAGAAGCATATTTT ^b	101
<i>C. botulinum</i> B	<i>cbmlb_f</i> <i>cbmlb_r</i>	CAGGAGAAGTGGAGCGAAAA CTTGCGCCTTTGTTTTCTTG	205
<i>C. botulinum</i> C	<i>cs1.2_f</i> <i>cas2_r</i>	TCCTCGAGTTACAAGCC CAGGAAAGGGTATATCTG	169
<i>C. botulinum</i> D	<i>ds2_f</i> <i>das2_r</i>	TTAGACTATACAGCATCCC TAACCTGTGGACGAATCC	264
<i>C. botulinum</i> E	<i>cbmle_f</i> <i>cbmle_r</i>	CCAAGATTTTCATCCGCCTA GCTTATTGATCCAAAACGGTGA	389
<i>C. botulinum</i> F	<i>cbmlf_f</i> <i>cbmlf_r</i>	CGGCTTCATTAGAGAACGGA TAACTCCCCTAGCCCCGTAT	543

^a R= C ou T; ^b Y=A ou G

7.2.2.2.3 *Bacillus*

As placas que apresentaram colônias com morfologia diferente do estabelecido para os Clostrídeos, item 7.2.2.1, as colônias foram coradas pela técnica de Gram, como também inoculadas em caldo BHI e em seguida repicadas em Ágar Sangue e incubadas a 37 °C por 48 horas.

Utilizou-se o *kit* comercial DNeasy (QIAamp DNA mini kit, Qiagen) para extrair o DNA total das amostras. O gene 16S RNA ribossômico foi amplificado e sequenciado utilizando-se os primers universais C70 (5'-AGAGTTTGATYMTGGC-3') e B37 (5'-TACGGYTACCTTGTTACGA-3') (FOX et al., 1995). O *kit* comercial (Wizard PCR Preps kit, Promega) foi usado para purificação dos produtos de PCR e sequenciados através do *kit* de sequenciamento BigDye™ Terminator Cycle (Life Technologies) com corrida em analisador genético ABI 3730XL (Life Technologies). As sequências obtidas foram comparadas com os dados do GenBank através da ferramenta BLASTn. O limite fixado para determinação da espécie foi de 98% de similaridade na análise do BLAST (MIAN et al., 2009).

7.3 Resultados e Discussão

Não foi observada presença de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas, Tabela 2. Resultado similar foi relatado por Pucciarelli et al (2014), no mel de *Tetragonisca angustula*. A contagem para coliformes a 45 °C, em todas as amostras, foi < 3,0 NMP/g, resultado que corrobora com o relato de Monte et al (2013) ao pesquisarem o mel de ASF (tiúba - *M. compressipes* Fabricius; urucu - *M. scutellaris*; e jandaíra - *M. subnitida*). Valores <3,0 NMP/g para coliformes a 35 °C e 45 °C podem indicar condições adequadas no decorrer do processamento do mel e qualidade do produto (SILVA et al., 2008), as amostras de mel de jandaíra não foram submetidas a nenhum tipo de processamento.

As contagens de bactérias mesófilas variaram de <1,39 a >3,40 Log UFC/g, com média aproximada de 2,66 Log UFC/g. Pucciarelli et al (2014) ao avaliarem o mel da abelha *T. angustula* verificaram média superior para bactérias mesófilas (3,13±1,05 Log UFC/g). A contagem de mesófilos indica informações gerais sobre a qualidade do alimento (SILVA et al., 2010).

Para *Staphylococcus* sp embora tenham sido observadas contagens em 85,7% das amostras, apenas uma amostra apresentou elevada contaminação, $2,6 \times 10^3$ UFC/g, provavelmente devido a idade do mel, pois de acordo com o meliponicultor as caixas não eram abertas para coleta de mel há muito tempo. Segundo Snowdon e Cliver (1996) fatores como as técnicas de colheita e análise, a própria amostra e a idade do mel podem afetar o número de bactérias. Pucciarelli et al (2014) ao pesquisaram a qualidade do mel de abelha *T. angustula* verificaram *Staphylococcus* spp. em duas amostras (7,14%).

De forma geral, a forma de contagem dos microrganismos aeróbios (*Salmonella* spp., Coliformes a 45 °C, bactérias mesófilas, *Staphylococcus* sp.) foi baixa, mesmo sendo utilizado por muitos *Meliponini*, como as abelha jandaíra, o batume, geoprópolis (mistura fina de argila e própolis), na construção de divisórias ou fechamento de frestas e algumas espécies de abelhas misturam também barro e excrementos de vertebrados (potencialmente de humanos) (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Por outro lado, a contagem de fungos e leveduras (Tabela 2) foi elevada, variando de <15 a $9,3 \times 10^4$ UFC/g (1,176 Log UFC/g a 4,968 Log UFC/g), estando 60% das amostras em desacordo com a regulamentação, $\leq 1,0 \times 10^2$ UFC/g ($\leq 2,00$ log UFC/g) estabelecida para o mel de *A. mellifera* (MERCOSUL, 1994). A média aproximada obtida no presente estudo foi

de 3,96 Log UFC/g. Já Monte et al (2013) ao avaliarem o mel de ASF, inclusive de jandaíra, observaram variação de 1,77 a 2,26 Log UFC/g, estando a média do mel de abelha jandaíra de acordo com a recomendação.

Provavelmente os microrganismos já deveriam estar presentes no mel, já que as amostras não passaram por processamento e a coleta foi realizada de maneira asséptica. Estudos mostram que a presença de fungos e leveduras trazem efeitos positivos para as colônias de abelhas sem ferrão. De acordo com Menezes et al (2015) a ASF (*Scaptotrigona depilis*) apresenta uma relação de simbiose com o fungo do gênero *Monascus*, na qual o fungo é consumido pela larva da abelha, o que eleva a taxa de sobrevivência da larva de 8 para 76%. E Rosa et al (2003) verificaram a presença de leveduras tanto nas ASF (*Tetragonisca angustula*, *Melipona quadrifasciata* e *Friseomelitta varia*) como em seus produtos, entre eles no mel. Nas abelhas foram mais observadas *Starmerella meliponinorum*, *Candida apicola* e *Starmerella clade* e no mel as duas primeiras espécies. Deve-se enfatizar ainda que quanto maior a quantidade de fungos e leveduras no mel maior a fermentação observada, o que causa redução na vida de prateleira do produto (SOUZA et al., 2009; SNOWDON; CLIVER, 1996).

Com relação aos microrganismos anaeróbios (*C. perfringens* e *C. botulinum*) avaliados, não houve crescimento de colônias características, provavelmente devido à baixíssima contaminação, porém ao realizar a pesquisa do DNA, através da PCR foram observadas amostras positivas para as espécies *C. perfringens* e *C. botulinum* tipo C, não sendo observado DNA compatível com o *C. difficile*. Observou-se que 40% das amostras de mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) estavam contaminadas por microrganismos anaeróbios (Figura 1). Resultado relevante, por ser o primeiro trabalho a pesquisar e detectar *Clostridium* e *Bacillus* no mel de abelha jandaíra.

Pucciarelli et al (2014) ao analisarem o mel da *T. angustula* verificaram que 64% das amostras apresentavam *Clostridium* spp, porém não foi detectado através de testes bioquímicos o *C. botulinum*. Zamora e Arias (2011) ao pesquisarem *C. botulinum* em mel de ASF da Costa Rica não observaram amostra positiva.

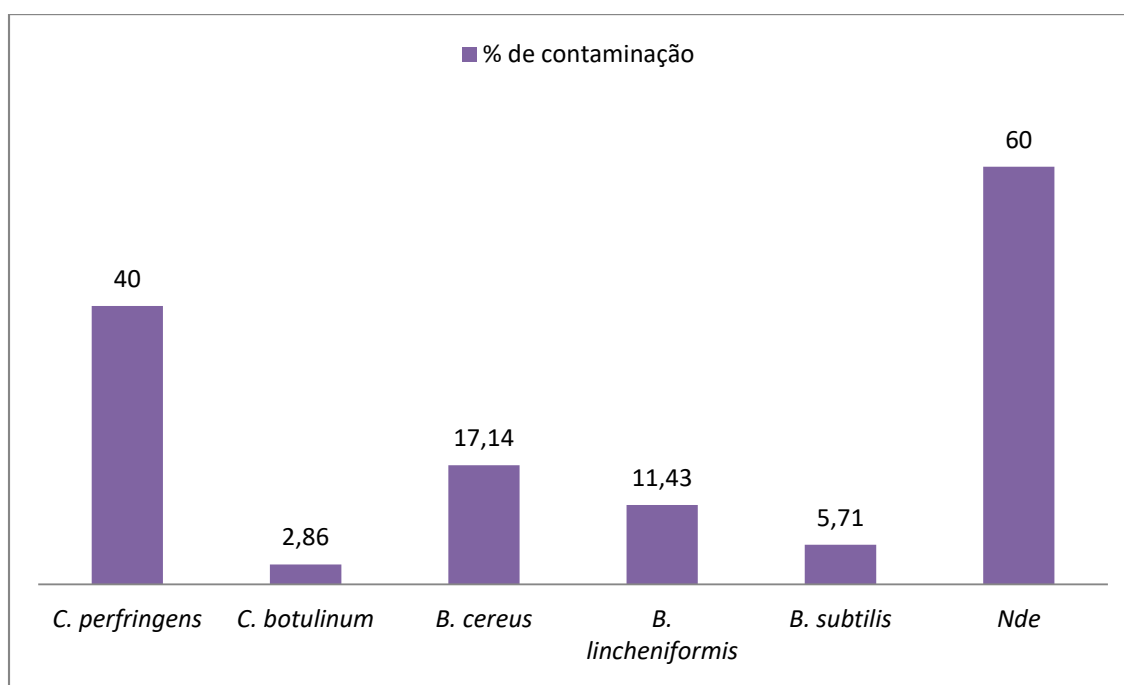
Tabela 2 - Microrganismos pesquisados no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) criadas na região semiárida do Brasil, nos meses de agosto a novembro de 2013.

Análises microbiológicas	A	B	C	D	E	F							G								H	I			J					K		L					
	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	1	1	2	1	2	3	4	5	1	2	1	2	3	4	5	R	
Coliformes 45°C NMP/g	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	-		
Mesófilas UFC/g	<25	<25	<25	>2,5 x 10 ³	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	>2,5 x 10 ³	8,8 x 10 ²	>2,5 x 10 ³	<25	<25	2,5 x 10 ²	>2,5 x 10 ³	<25	>2,5 x 10 ³	<25	<25	9,7 x 10 ²	<25	3,1 x 10 ²	<25	<25	<25	<25	-	
Staphylococcus sp UFC/g	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	0	<20	0	0	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	2,6 x 10 ³	<20	0	0	-	
Salmonella	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	Au	-
Fungos e Leveduras UFC/g	<15	7,6 x 10 ²	1,2 x 10 ⁴	<15	<15	3,1 x 10 ³	1,4 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁴	8,8 x 10 ⁴	5,7 x 10 ⁴	2,2 x 10 ²	2,0 x 10 ²	<15	9,3 x 10 ⁴	5,4 x 10 ²	<15	<15	<15	1,6 x 10 ³	<15	<15	7,7 x 10 ²	1,0 x 10 ³	<15	<15	<15	<15	<15	1,6 x 10 ³	7,1 x 10 ³	1,3 x 10 ⁴	2,5 x 10 ²	5,0 x 10 ²	2,1 x 10 ³	1,0 x 10 ⁴	<10 ²	
Clostridium perfringens	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-		
Clostridium botulinum	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Bacillus cereus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-		
Bacillus licheniformis	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Bacillus subtilis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Au – Ausente; + presença do DNA dos microrganismos anaeróbios; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade Formadora de Colônias; g - gramas.

De acordo com Finola, Lasagno e Marioli (2007) a principal fonte de bactérias do gênero *Clostridium* é o solo, porém esses podem ser encontrados na poeira, equipamentos e fezes. Dessa forma, é importante a realização de análises microbiológicas no mel para que o produto oferecido aos consumidores seja seguro. De acordo com Dutra et al (2001) *C. botulinum* tipo C está relacionado com a contaminação ambiental pelos esporos, sendo esses relacionados às carcaças de animais decompostas ou matéria orgânica vegetal na água de dessedentação.

Figura 1 - Percentual de microrganismos anaeróbios observados através da PCR (*Clostridium* sp.) e Sequenciamento (*Bacillus*) nas amostras de mel de abelha jandaíra, oriundas do semiárido do RN.



Nde – Microrganismo anaeróbios não detectado nas amostras

Foram detectadas bactérias do gênero *Bacillus* em 34,29% das amostras pesquisadas, sendo estes classificados em três espécies, das quais 50% eram *B. cereus*, 33,33% *B. licheniformis* e 16,67% *B. subtilis*. Na Figura 2 observa-se as morfologias dos *Bacillus* observados nas amostras de mel de jandaíra.

Pucciarelli et al (2014) ao avaliarem o mel de abelha *T. angustula* verificaram percentual semelhante, 39%, para *Bacillus* spp. De acordo com Nicholson (2002) a relação simbiótica entre os *Bacillus* e as abelhas faz com que a presença deste gênero de bactérias no mel seja esperada. Gilliam e Morton (1978) verificaram no intestino de abelhas várias

espécies de bacilos, sendo as mais frequentes o *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilus* e *B. licheniformis*.

Figura 2 - Características microscópicas das colônias de *Bacillus* isoladas do ágar sangue e coradas pela técnica de hematoxilina e eosina. A - *B. cereus*; B - *B. licheniformis* C - *B. subtilis*.



De maneira geral as amostras que apresentaram *Clostridium* foram positivas para *Bacillus*, com exceção de duas amostras (Tabela 2). Ao avaliar as amostras percebeu-se que a amostra 31 apresentou elevada contaminação por fungos e leveduras, além da presença de DNA de *C. botulinum* e *C. perfringens*.

Percebe-se com o presente trabalho que a contaminação do mel de abelha jandaíra estava relacionada aos contaminantes primários (solo, poeira, pólen, intestino da abelha), uma vez que os contaminantes secundários, que ocorrem durante o processamento foram evitados, pelo procedimento de coleta e processamento asséptico. Sugere-se para a garantia da qualidade do mel a aplicação de técnicas como pasteurização ou irradiação.

7.4 Conclusão

O presente trabalho foi o primeiro a detectar bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*). As amostras de mel de jandaíra apresentavam bactérias mesófilas, fungos, leveduras, *C. perfringens*, *C. botulinum*, além de diferentes espécies de *Bacillus*. Desta forma, fica clara a importância de uma regulamentação microbiológica para o mel de ASF, como a abelha jandaíra, a qual contemple pelo menos

limites para fungos, leveduras, Coliformes a 45 °C, *Salmonella* e *Clostridium botulinum*, devido aos problemas relacionados à vida de prateleira do produto e a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

ALVES, D. F. S.; CABRAL JÚNIOR, F. das C.; CABRAL, P. P. de A.C.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. M. de; REGO, A. C. M. do; MEDEIROS, A. C. Efeitos da aplicação tópica do mel de *Melipona subnitida* em feridas infectadas de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 188-193, maio/jun., 2008.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 44, de 19 de setembro de 2011. **Dispõe sobre o regulamento técnico para fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância**. Disponível

em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b11b30804aaa974f9effde4600696f00/Resolucao_RDC_n_44_de_19_de_setembro_de_2011.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 21 out. 2015.

BAUMS C.G.; SCHOTTE U.; AMTSBERG G.; GOETHE R. Diagnostic multiplex PCR for toxin genotype of *Clostridium perfringens* isolates. **Veterinary Microbiology**, v. 100, p. 11-16, 2004.

BORSATO, D. M.; ESMERINO, L. A.; FARAGO, P. V.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B.CEPPA)**, Paraná, v. 31, n. 1, p. 57-66, jan./jun., 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 19 de maio de 2014.

DUTRA, I. S.; DÖBEREINER, J.; ROSA, I. V.; SOUZA, L. A. A.; NONATO, M. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 2, p. 43-48, abr./jun., 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2001000200002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21 jan. 2016.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food chemistry**, v. 100, n. 40, p. 1649-1653, 2007.

FOX, J.G.; YAN, L.L.; DEWHIRST, F.E.; PASTER, B.J.; SHAMES, B.; MURPHY, J.C.; HAYWARD, A.; BELCHER, J.C.; MENDES, E.N. *Helicobacter bilis* sp. nov.: a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 445-454, 1995.

GILLIAM, M.; MORTON, H. L. Bacteria belonging to the genus *Bacillus* isolated from honey bees, *Apis mellifera*, fed 2,4-D and antibiotics. **Apidologie**, v. 9, n. 3, p. 213-222, 1978.

GLASBY, C.; HATHEWAY, C. L. Isolation and enumeration of *Clostridium botulinum* by direct inoculation of infant fecal specimens on egg yolk agar and *Clostridium botulinum* isolation media. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 264-266, 1985.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 4, p.455-459, out./dez, 2005.

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

KETCHAM, E.M.; GOMEZ, H.F. Infant botulism: a diagnostic and management challenge pediatric perspective. **Air Medical Journal**, v. 22, n. 5, p. 6-11, 2003.

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

MEDICI, D. DE; ANNIBALLI, F.; WYATT, G. M.; LINDSTRÖM, M.; MESSELHÄUBER, U.; ALDUS, C. F.; DELIBATO, E.; KORKEALA, H.; PECK, M. W.; FENICIA, L. Multiplex PCR for detection of botulinum neurotoxina-producing clostridia in clinical, food, and environmental samples. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 20, p. 6457-6461, 2009.

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; MARSAIOLI, A. J.; ZAMPIERI, D.; FONTOURA, I. C.; LUCHESSI, A. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A brazilian social bee must cultivate fungus to survive. **Current Biology**, v. 25, n. 21, p. 2851-2855, 2015.

MERCOSUL. Regulamento técnico Mercosul. **Identidade e qualidade do mel**. Resolução GMC nº15/94. Montedivéu, 1999. Disponível em:<
http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC_reS_1994-015.pdf>f. Acesso em: 2 fev. 2015.

MIAN, G. F., GODOY, D. T., LEAL, C. A. G., YUHARA, T. Y., COSTA, G. M.; FIGUEIREDO, H. C. P. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. **Veterinary Microbiology**, v. 136, n. 1-2, p. 180-183, 2009.

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

NICHOLSON, W. L. Roles of *Bacillus* endospores in the environment. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 59, n. 3, p. 410-416, 2002.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445 p

PRÉVOT, V.; TWEEPENNINCKX, F.; VAN NEROM, E.; LINDEN, A.; CONTENT, J.; KIMPE, A. Optimization of polymerase chain reaction for detection of *Clostridium botulinum* type C and D in bovine samples. **Zoonoses Public Health**, v. 54, n. 8, p. 320-327, 2007.

PUCCIARELLI, A. B.; SCHAPOVALOFF, M. E.; KUMMRITZ, S.; SEÑUK, I. A.; BRUMOVSKY, L. A.; DALLAGNOL, A. M. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 46, n. 4, p. 325-332, out./dez., 2014.

ROSA, C. A.; LACHANCE, M.-A.; SILVA, J. O. C.; TEIXEIRA, A. C. P.; MARINI, M. M.; ANTONINI, Y.; MARTINS, R. P. Yeast communities associated with stingless bees. **FEMS Yeast Research**, v. 4, n. 3, p. 271-275, 2003.

SILVA, M. B. DE L. DA; CHAVES, J. B. P.; MESSAGE, D.; GOMES, J. C.; GONÇALVES, M. M.; OLIVEIRA, G. L. DE. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no serviço de inspeção federal no estado de Minas Gerais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p.417-420, out./dez., 2008.

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

SILVA, R. O. S.; SALVARANI, F. M.; CRUZ JÚNIOR, E. C. C.; PIRES, P. S.; SANTOS, R. L. R.; ASSIS, R. A.; GUEDES, R. M. C.; LOBATO, F. C. F. Detection of enterotoxin A and cytotoxin B, and isolation of *Clostridium difficile* in piglets in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1130-1135, ago., 2011.

SNOWDON J. A. The microbiology of honey – Meeting your buyers' specifications, **American Bee Journal**, v. 139, p. 51-60, 1999.

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

SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. dos S.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. de O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p.798-802, dez., 2009.

VIEIRA, A. A. S.; GUEDES, R. M. C.; SALVARANI, F. M.; SILVA, R. O. S.; ASSIS, R. A.; LOBATO, F. C. F. Genotipagem de *Clostridium perfringens* isolados de leitões diarreicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 4, p. 513-516, out./dez., 2008.

ZAMORA L. G.; ARIAS M. L. Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón. **Rev biomed**, v. 22, n. 2, p. 59-66, 2011.

8 CAPÍTULO VI – PESTICIDAS EM MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

8.1 Introdução

A criação das abelhas sem ferrão (ASF) requer baixo investimento e manejo fácil. Além de permitir o desenvolvimento sustentável da agricultura, através da polinização e conservação da vida nativa (VENTURIERI; RAIOL; PEREIRA, 2003; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006).

No semiárido brasileiro a abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) é uma das ASF mais criadas, sendo importante a preservação e cultivo de plantas nativas por contribuir com a sobrevivência dessa e outras espécies de abelhas nativas (IMPERATRIZ-FONSECA, 2012).

As plantas (cultivadas ou nativas) podem ser contaminadas acidentalmente ou não por pesticidas, devido ao aumento no uso destas substâncias nas lavouras como consequência da maior produção de alimentos (SANCHES et al., 2003). A contaminação pode causar o envenenamento das abelhas polinizadoras, provocando a diminuição da população de inseto (como no caso da desordem do colapso da colônia - CCD), a redução da produção de mel, destruição das comunidades vegetais e perda significativa na renda dos apicultores/meliponicultores, portanto poderá afetar de maneira geral o meio ambiente e consequentemente os seres humanos, por isso tem-se dado maior importância à detecção dos resíduos de pesticidas (AL-WAILI et al., 2012; FREITAS; PINHEIRO, 2012; JOHNSON et al., 2010; MARTINEZ-VIDAL et al., 2006). De acordo com Menezes et al (2015) os pesticidas podem influenciar também as abelhas indiretamente, pois através de sua ação fungicida e bactericida, podem eliminar os microrganismos simbioses presentes nas colônias deixando as abelhas mais susceptíveis as doenças.

No Brasil os programas de controle de resíduos e contaminantes de alimentos – PNCR também é aplicado ao mel. Sendo necessária, para esse alimento, a pesquisa dos grupos de antimicrobianos; compostos halogenados e organoclorados; carbamatos; piretróides; e organofosforados (BRASIL, 2007).

Sabendo-se dos transtornos que podem ser causados pelos pesticidas aos seres humanos e ao meio ambiente, principalmente a flora e fauna nativa de uma região, objetivou-se pesquisar resíduos de pesticidas no mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) do semiárido brasileiro.

8.2 Material e Métodos

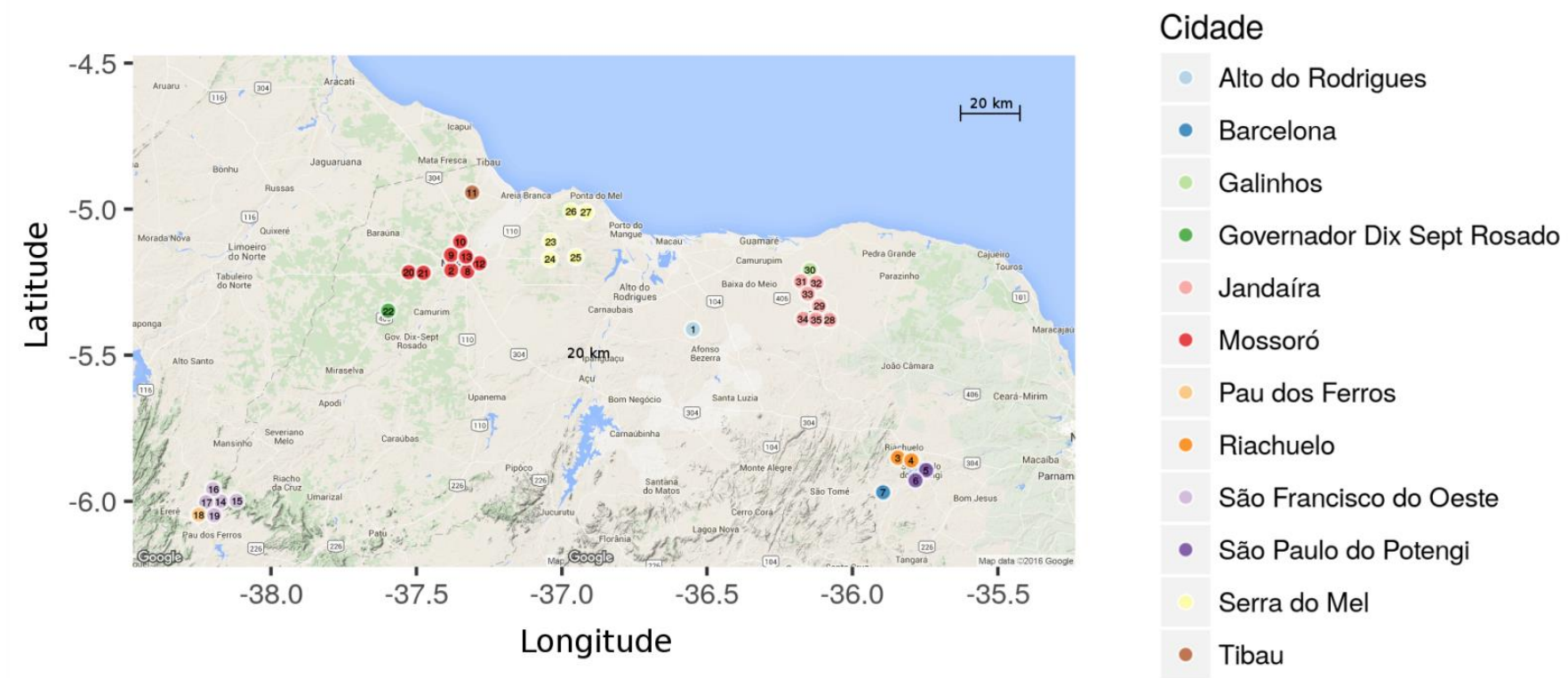
8.2.1 Amostras

As amostras de mel de abelha jandaíra (*M. subitida* Ducke) foram coletadas assepticamente sendo acondicionadas em tubos cônicos, tipo Falcon. Coletou-se 35 amostras, de diferentes meliponicultores, de 12 municípios, sendo 14 amostras da zona urbana e 21 da zona rural, provenientes da região semiárida do nordeste Brasileiro (Figura 1). As amostras foram encaminhadas para o Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) localizado em Pedro Leopoldo – MG para a pesquisada de 130 compostos nas amostras de mel.

8.2.2 Preparo das amostras para avaliação dos pesticidas

Para a extração dos pesticidas e remoção de interferentes das amostras, 5,0 g de cada amostra de mel foram transferidas para tubos de centrífuga de polipropileno (50 mL) com 10,0 mL de água ultrapura e os tubos foram agitados por 1 minuto a 3000 rpm. Então, 10,0 mL de solução acetonitrila:acetato de etila (70:30) foram adicionados, e os tubos foram agitados a 3000 rpm durante 1 minuto. Posteriormente foram adicionados 4,0 g de sulfato de magnésio anidro e 1,0 g de acetato de sódio, e novamente os tubos foram agitados por 1 minuto a 3000 rpm. Os tubos foram em seguida centrifugados a 4000 rpm, durante 9 minutos. Foram transferidos 1 mL do sobrenadante para um microtubo de 2 mL contendo 150 mg de sulfato de magnésio anidro, 50 mg de Florisil e 50 mg de PSA, seguido por agitação por 1 minuto a 3000 rpm e centrifugação 4000 rpm, durante 9 minutos. O sobrenadante (500 µl) foi transferido para vials de cromatografia e analisados utilizando o sistema LC-MS/MS. A técnica de análise de multirresíduos foi utilizada para identificação dos pesticidas, através de UPLC-MS. Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico (adaptado ANASTASSIADES et al., 2003).

Figura 1 - Locais de coleta das amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) para pesquisa de resíduos de pesticidas.



8.2.2.1 Condições cromatográficas

Utilizou-se o sistema UFLC (Shimadzu SIL20ACXR) equipado com bomba binária (Shimadzu LC20ADXR), amostrador automático (Shimadzu SIL20ACXR) e forno de coluna (Shimadzu CTO20AC). As separações foram realizadas utilizando-se a coluna Shim-pack XR-ODSII (2,0 x 100 mm, tamanho de partícula 2,2 μm ; Shimadzu). Nos experimentos utilizou-se a coluna Synergi Fusion-RP (2,0 x 50 mm, tamanho de partícula 2,5 μm ; Phenomenex). Para a separação cromatográfica utilizou-se na fase móvel o acetato de amônio (10 mmol/L) acidificado com 0,01% de ácido fórmico (fase A) e metanol (fase B), a uma taxa de fluxo de 0,5 mL/minuto. O programa de eluição gradiente foi o seguinte: A (50%): B (50%) (6 min); A (20%): B (80%) (5 min); A (10%): B (90%) (4 min); A (50%): B (50%) (0,5 min); e A (50%): B (50%) (2,5 min). O tempo total da corrida cromatográfica foi de 13 minutos. O volume de injeção da amostra foi de 5 μL , e manteve-se a coluna a temperatura de 60 °C (SILVA et al., 2015).

8.2.2.2 Condições de espectrometria de massa

Foi usado o espectrômetro de massa 5500 TRIPLÔ QUAD (Applied Biosystems, MDS SCIEX, Ontário, Canadá). Na avaliação utilizou-se uma fonte de ionização por eletro spray (ESI) em ambos os modos de íons positivos e negativos. O programa de software Analyst (versão 811.5.1, Applied Biosystems) foi usado para controlar as definições do aparelho, aquisição de dados e processamento de dados. A fonte de parâmetros foi otimizada do seguinte modo: tensão de pulverização de íon, 5,5 kV para ESI (+) e 4,5 kV para ESI (-); cortina de gás, de 20 psi; gás de colisão, 8 psi; gás nebulizador e gases auxiliares, 30 psi; temperatura da fonte de íons, a 500 °C. As condições operacionais do espectrômetro de massas para cada composto estão apresentadas no APÊNDICE F.

Foi utilizado como solvente para as curvas de calibração a acetonitrila para padronizar os resultados de recuperação e simplificar o experimento. As calibrações realizadas foram: 5,0, 7,5, 10,0, 25,0, 50,0, 75,0 e 100 $\mu\text{g/kg}$, sendo injetada de forma aleatória, em sextuplicata (n=6). As soluções foram preparadas de forma independente. Para quantificação e identificação simultâneas, além de evitar falsos negativos em níveis residuais de pesticidas, utilizou-se dois ou três transições MRM para cada substância. Os picos foram distribuídos uniformemente ao longo da janela cromatográfica e foram resolvidos de forma simétrica. Foi

utilizado o programa Analyst (Versão 1.5.1, Applied Biosystems) para análises dos dados cromatográficos. Sendo o modelo para a curva de regressão para cada composto selecionado por meio da aplicação de um teste homocedasticidade. O ajuste da significância e qualidade do modelo de regressão empregado foi avaliado através do teste de falta de ajuste. O limite de detecção (LOD) e do limite de quantificação (LOQ) para todos os pesticidas encontram-se no Apêndice F. Os picos foram comparados com os produzidos por cada um dos padrões de cada composto pesquisado.

8.3 Resultados e Discussão

A avaliação da presença de pesticidas no mel de jandaíra revelou que 25 (71,4%) amostras apresentaram contaminação por algum pesticida. 16 (64%) apenas um, oito (32%) por dois e uma (4%) por três pesticidas. Todos eram da classe química dos organofosforados (clorpirifós metil, monocrotofós, terbufós e triclorfom) (Tabela 1).

Para as abelhas, os pesticidas organofosforados mais tóxicos, são: dimetoato, diazinon, malation, fenitrothion e parathion, podendo causar distúrbios como regurgitação, distensão abdominal, desorientação, letargia e paralisia. O mecanismo de ação dos organofosforados consiste na inibição da enzima colinesterase, que medeia a transmissão de sinais nervosos (DEVILLERS, 2003a).

Para os humanos diversos sintomas podem ser observados no envenenamento por organofosforados como: gástrico (salivação, diarreia, vômitos e cólicas abdominais), ocular (lacrimejamento), fraqueza (podendo causar parada respiratória), neurológico (confusão, alucinações e convulsões), além de bradicardia, hipotensão, incontinência urinária e broncoespasmo, podendo causar coma (VON ESSEN; MCCURDY, 1998).

Silva et al (2015) ao pesquisarem resíduos de pesticidas no mel de *Apis mellifera* e *M. subnitida*, de habitats diferentes, detectaram 19 compostos. Porém os pesticidas observados no mel de abelha jandaíra foram diferentes dos verificados no presente trabalho, como a bifentrina (piretroide), dimetoato (organofosforado), iprodiona (carboxamida) e miclobutanil (triazol).

Tabela 1 - Níveis de pesticidas detectados no mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) provenientes do semiárido nordestino.

Análises Pesticidas	A	B	C	D	E	F							G								H	I		J					K		L					BR	EU	
	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	1	1	2	1	2	3	4	5	1	2	1	2	3	4	5			
Clorpirifós-metil (ppb)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24,3	
Monocrotofós (ppb)	55	-	-	10 1	72	38	57	15	21	-	49	-	62	50	81	-	-	18	57	33	-	37	-	61	52	74	11	-	-	-	43	33	46	56	24	b		
Terbufós (ppb)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<LOQ		<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	<LOQ	13			
Triclorfom (ppb)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<LOQ	-	<LOQ	23	-	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	74	59	-	-	-	b	10		
Localidade	R	R	R	R	R	U	R	R	R	R	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	R	R	R	U	U	R	R	R	R	R	R	U	R	R	R			

<LOQ: menor que o limite de quantificação (Clorpirifós metil – 10ppb; Terbufós - não determinado; Triclorfom - 10 ppb); R- Rural; U – Urbana; BR – Brasil -IN nº9/2007; EU - EC (European Commission) –Regulamento nº 396/2005; LMR - limite máximo de resíduo; b - uso proibido.

Os resultados observados no presente trabalho, também são diferentes dos relatados pelo PNCR em 2014, onde todas as 109 amostras de mel de *A. melífera* estavam adequadas (BRASIL, 2015).

Ao considerar as amostras por sua localização, zona rural (21) e urbana (14) (Tabela 1), verifica-se que 66,7% (14) e 78,6% (11) foram positivas para presença de pesticidas nas zonas rural e urbana, respectivamente.

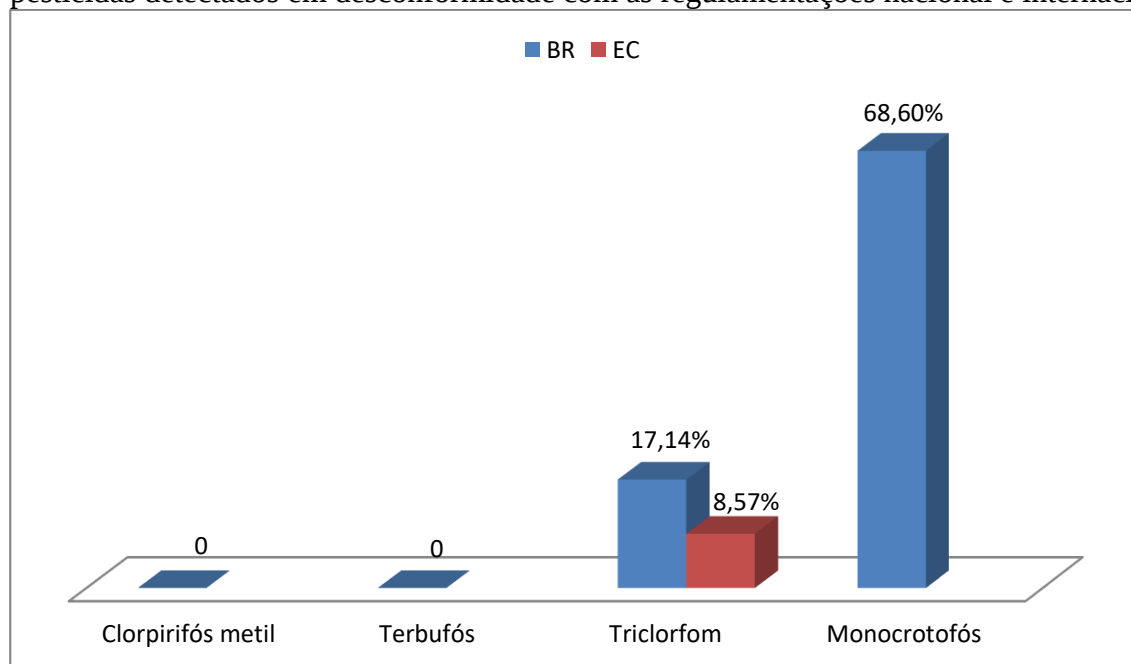
Das amostras positivas para pesticidas (25), 96% (24) apresentavam monocrotofós, com variação de concentração nas amostras de 11 a 101 ppb. O clorpirifós metil foi detectado em duas amostras de mel e o terbufós em três amostras, ambos em concentrações abaixo do limite de quantificação (10 ppb e não determinado, respectivamente). O triclorfom foi observado em seis amostras em concentrações que variaram de <LOQ a 74 ppb.

De acordo com a PNCR (BRASIL, 2007) a quantidade encontrada de organofosforados (clorpirifós metil e terbufós) esteve dentro do limite tolerado, sendo importante ressaltar que não há padrões, neste programa, para a quantidade de triclorfom e monocrotofós, pois estes pesticidas não são autorizados para uso no Brasil (ANVISA, 2015). Mesmo assim, foram os pesticidas observados em maior concentração nas amostras do mel de abelha jandaíra (Figura 2).

De acordo com o preconizado no regulamento nº 369 (2005), da Comissão Européia, dos pesticidas encontrados nas amostras de mel apenas é determinado limite máximo de resíduo (LMR) para triclorfom, sendo aceito 0,01 mg/kg (10µg/Kg), Figura 2.

O triclorfom (dimetil 2,2,2, tricloro-1-hidroximetil fosfonato) é um inseticida e acaricida amplamente utilizado no controle de várias pragas em campos, lares, plantas ornamentais e contra parasitas em animais domésticos e peixes (LOPES et al., 2006). Yeh et al (2005) ao avaliarem o efeito do triclorfom sobre os camarões (*Macrobrachium rosenbergii*) evidenciaram que esse afeta a osmorregulação e o equilíbrio ácido-base, podendo também causar depressão da resistência imunológica. Das amostras positivas para este pesticida apenas uma foi da zona rural, mostrando que talvez o uso de medicamentos para animais ou soluções para pragas domiciliares tenham sido responsáveis pela presença do triclorfom no mel.

Figura 2 - Percentual de amostras de mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) com pesticidas detectados em desconformidade com as regulamentações nacional e internacional.



BR – Brasil; EC – European Commission; Ausência da cor vermelha em alguns pesticidas é devido à inexistência de parâmetro.

O monocrotofós é um inseticida sistêmico e acaricida, utilizado no controle de pragas em culturas como: algodão, arroz e cana de açúcar. É altamente tóxico por todas as vias de exposição. Por isso, em todo o mundo têm-se tomado medidas para regulamentar, proibir ou restringir a utilização desse pesticida, com base nos seus riscos: alta toxicidade aguda para a saúde humana e potenciais efeitos nocivos para o ambiente e, especialmente, para pássaros, abelhas, peixes e outros organismos aquáticos (WHO, 2009). Existindo relatos sobre sua influência no sistema reprodutivo, além de efeitos analgésico e sedativo em ratas (RAO; KALIWAL, 2002).

A presença de resíduos de pesticidas no mel de abelha jandaíra merece atenção, já que essas são nativas e encontradas apenas no Nordeste do Brasil. De acordo com Kerr et al (1996) as abelhas nativas são responsáveis pela polinização de 40 a 90% das plantas nativas. Provavelmente esta contaminação deu-se de maneira indireta, sendo as ASF e a florada nativa da Caatinga as principais afetadas, podendo contribuir com a extinção da fauna e flora nativas.

Portanto torna-se necessária a intensificação da fiscalização para evitar o uso de pesticidas de forma irregular e abusivo pelos produtores (CANTARUTTI et al., 2008). Além de estabelecer que as pulverizações de plantações sejam em épocas que as plantas não estejam

florescendo, ou pelo menos utilize pesticidas menos nocivos a fauna e flora (SOUSA et al., 2013). Para auxiliar na fiscalização, as abelhas e seus produtos (mel cera, geleia real) podem servir como sentinelas para detectar pesticidas no meio ambiente (DEVILLERS, 2003b).

8.4 Conclusão

O mel de abelha jandaíra (*M. subnitida*) do semiárido brasileiro apresentou resíduos de pesticidas, sendo alguns de uso proibido no Brasil (triclorflom e monocrotofós). A contaminação do mel provavelmente deu-se de maneira indireta, mostrando que este produto pode ser uma alternativa para monitorar o uso de pesticidas, exercendo, portanto o papel de alimento sentinela, para monitorar a contaminação ambiental e a partir daí estimar a utilização.

REFERÊNCIAS

AL-WAILI, N.; SALOM, K.; AL-GHAMDI, A.; ANSARI, M. J. Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards. **The ScientificWorld Journal**. v. 2012, 9 pg, 2012. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/930849/>>. Acesso em: 2 jul. 2015.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

ANVISA. **Monografias de agrotóxicos**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias+Excluida>>. Acesso em: 2 jul. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa nº 9, de 30 de março de 2007. Aprovar os Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado do exercício de 2007**. Disponível em:< http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/IN%2009-2007.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria SDA nº 22, de 07 de Abril de 2015. Publicar os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e**

Contaminantes dos subprogramas de monitoramento e exploratório em Carnes (Bovina, Suína, de Aves, de Avestruz e Equina), em Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2014. Disponível em: <

http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/Publicacao%20resultados%20PNCRC%202014f.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2015.

CANTARUTTI, T. F. P.; ARAÚJO, S. L. DE; ROSSI S. C.; DALSENTER, P. R. Resíduos de pesticidas em alimentos. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 18, jan./dez., 2008.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK D. W.; DOLLIN A.; HEARD, T.; AGUILAR I.; VENTURIERI, G. C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

DEVILLERS, J. Acute toxicity of pesticides to honey bees. In: DEVILLERS, J.; PHAM-DELEÈGUE, M.-H. **Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, 2003a. Cap. 4, p. 56-64. Disponível em:

<<http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Beekeeping/Honey-Bees-Estimating.pdf#page=201>>. Acesso em: 15 jun. 2016.

DEVILLERS, J. The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. In: DEVILLERS, J.; PHAM-DELEÈGUE, M.-H. **Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, 2003b. Cap. 1, p. 1-10.

Disponível em:

<<http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Beekeeping/Honey-Bees-Estimating.pdf#page=201>>. Acesso em: 15 jun. 2016.

EC (European Commission). **Regulation (EC) no 396/2005 of the european parliament and of the council on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC**. Products to which MRLs apply (Part A of Annex I to Reg. 396/2005) Disponível em:

<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database-redirect/index_en.htm>. Acesso em: 23 de junho de 2015.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. **Polinizadores e pesticidas: princípios e manejo para os agroecossistemas brasileiros**. Brasília: MMA, 2012. 112 p.:il

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. As flores e as abelhas. In: MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. DA; HRNCIR M.; QUEIROZ R. T. DE; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**. Fortaleza: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. p. 10-11.

JOHNSON, R. M.; ELLIS, M. D.; MULLIN; C. A.; FRAZIER, M. Pesticides and honey bee toxicity – USA. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 312-331, 2010.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte, MG: Acangau, 1996. 154p.

- LOPES, R. B.; PARAIBA, L. C.; CECCARELLI, P. S.; TORNISIELOET, V. L. Bioconcentration of trichlorfon insecticides in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Chemosphere**, v. 64, n. 1, p. 56-62, 2006.
- MARTINEZ-VIDAL, J. L.; ARREBOLA-LIËBANAS, F. J.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. J.; GARRIDO-FRENICH, A.; FERNÁNDEZ-MORENO, J. L. Validation of a gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry based method for the quantification of pesticides in food commodities. **Rapid Communications Mass Spectrometry**, v. 20, n. 3, p. 365-375, 2006.
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; MARSAIOLI, A. J.; ZAMPIERI, D.; FONTOURA, I. C.; LUCHESSI, A. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A brazilian social bee must cultivate fungus to survive. **Current Biology**, v. 25, n. 21, p. 2851-2855, 2015.
- RAO, R. P.; KALIWAL, B. B. Monocrotophos Induced Dysfunction on Estrous Cycle and Follicular Development in Mice. **Industrial Health**, v. 40, p. 237-244, 2002.
- SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. DE P. DA; CAMPOS, S. X. DE; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, jan./dez., 2003.
- SILVA, I. P. DA; OLIVEIRA, F. A. S.; PEDROZA, H. P.; GADELHA, I. C. N.; MELO, M. M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**. 2015. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007/s13592-015-0360-3>>. Acesso em: 26 jul. 2015.
- SOUSA, J. R. L.; AMARANTE JÚNIOR, O. P. de; BRITO, N. M.; FRANCO, T. C. R. dos S. Ação dos pesticida sobre abelhas: avaliação do risco de contaminação de méis. **Acta tecnológica**, Maranhão, v. 8, n. 1, p. 28-36, jan./jun., 2013.
- VENTURIERI, G. C.; RAIOL V. DE F. O.; PEREIRA C. A. B. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 1-7, jul./dez., 2003. Disponível em: < <http://www.biotaneotropica.org.br/v3n2/pt/fullpaper?bn00103022003+pt>>. Acesso em: 04 ago. 2015.
- VON ESSEN, S. G.; MCCURDY, S. A. Health and Safety Risks in Production Agriculture. **Western Journal of Medicine**, v. 169, n. 4, p. 214-220, 1998.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Regional Office for South-East Asia. **Health implications from monocrotophos use: a review of the evidence in India**. 2009. 74p. Disponível em: <http://www.searo.who.int/entity/occupational_health/health_implications_from_monocrotophos.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2015.
- YEH S.-P.; SUNG, T.-G.; Chang, C.-C.; CHENGA, W.; KUO, C.-M. Effects of an organophosphorus insecticide, trichlorfon, on hematological parameters of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **Aquaculture**, v. 243, p. 383-392, 2005.

9 CONCLUSÕES GERAIS

O mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) produzido no Estado do Rio Grande do Norte, mesmo recém colhido apresenta características que o difere do mel de *Apis mellifera*, como elevada umidade e sólidos insolúveis e baixa quantidade de açúcares redutores. As características do mel podem ser alteradas por fatores relacionados à procedência, influência polínica e período de estocagem.

Com a avaliação polínica verificou-se a importância da abelha jandaíra para a manutenção da flora do bioma Caatinga, principalmente a família Fabaceae.

Durante a estocagem as características de deterioração do mel avaliadas aumentaram, associado à diminuição do pH. Portanto, caso não ocorra a avaliação microbiológica do mel de jandaíra a vida de prateleira deveria ser de dezoito meses.

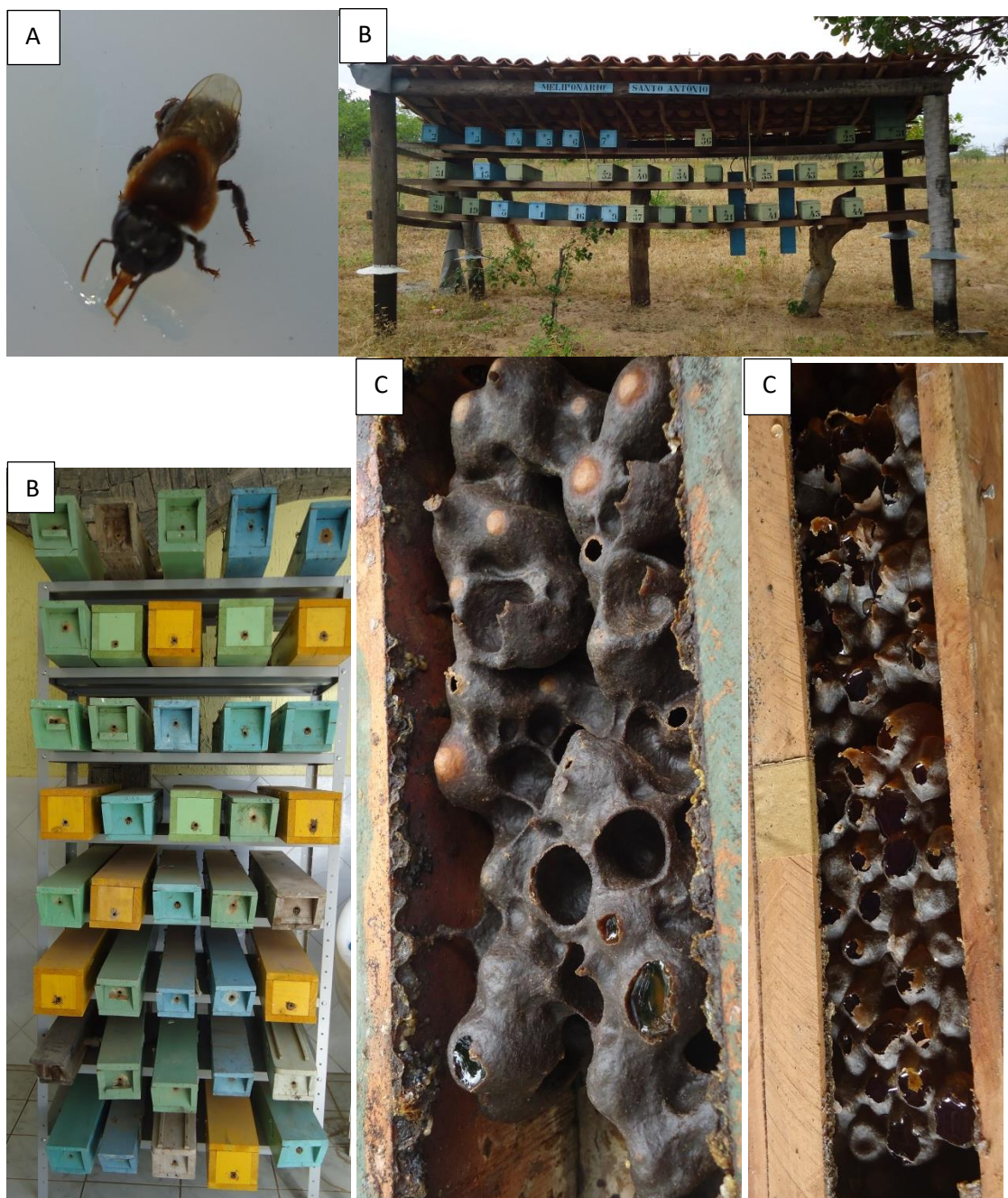
A microbiota no mel de abelha jandaíra é diversificada, havendo contaminação por bactérias formadoras de esporos (*Clostridium perfringens*, *C. botulinum* e diferentes espécies de *Bacillus*), fungos e leveduras. Constatando assim a importância de uma regulamentação microbiológica do mel, para melhorar o controle de qualidade do produto que será ofertado aos consumidores.

Os resíduos de pesticidas, da classe dos organofosforados, foram encontrados no mel de abelha jandaíra, principalmente o triclorflom e monocrotofós, podendo causar danos à saúde da população humana, animal, além do meio ambiente. Percebeu-se que o mel de jandaíra pode ser utilizado como indicador de contaminação ambiental.

Diante disso, percebe-se que para que o mel de jandaíra seja comercializado atendendo os parâmetros estabelecidos por uma regulamentação se faz necessária a elaboração de uma regulamentação específica para as abelhas sem ferrão. Sendo essa normatização importante, pois poderá servir como fonte de renda para diversos produtores, que poderão comercializar de maneira formal este produto. A legislação deverá contemplar parâmetros físico-químicos, microbiológicos, pesquisa de pesticidas e a vida de prateleira do produto.

APÊNDICE

APÊNDICE A – IMAGENS DA A) ABELHA JANDAÍRA; B) MELIPONÁRIOS; C) CORTIÇOS DE *Melipona subnitida* NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE.



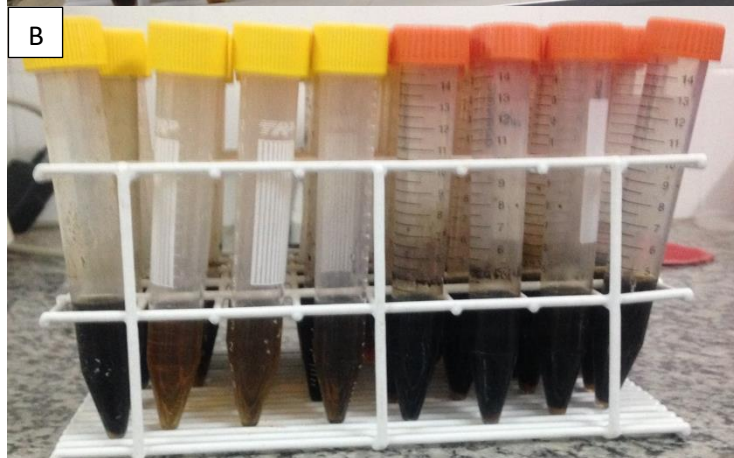
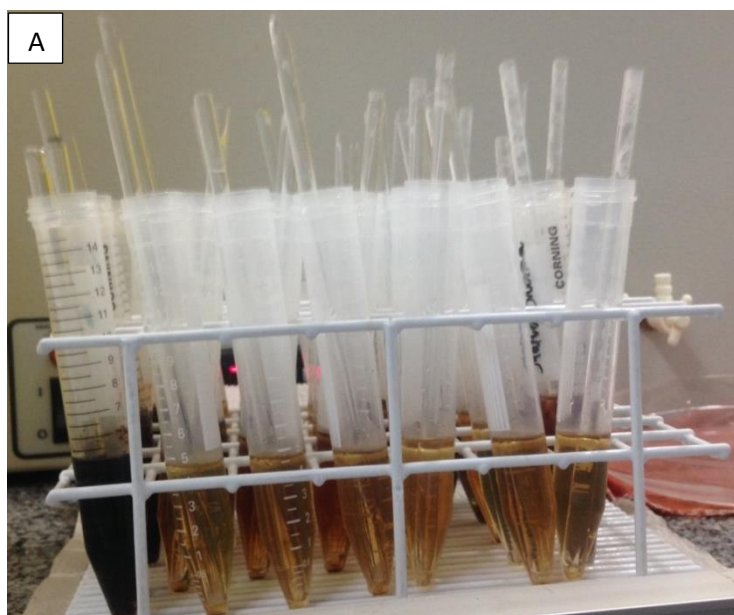
APÊNDICE B - INFORMAÇÕES SOBRE AS AMOSTRAS DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA COLETADOS NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO.

Amostras	Localidade	Coleta Mês/ano	Nº de caixas abertas	Alimentadas	Relato das visitas as plantas
A1	Alto do Rodrigues	Agosto/2013	1	Não	aroeira, catanduva, nim, moringa
B1	Barcelona	Setembro/2013	1	Não	jitirana, amarra-cachorro, marmeleiro, malva branca
C1	Galinhos	Outubro/2013	2	Não	caju, jurema-preta, manga, coqueiro, tamarindo, cabeça de velho
D1	Tibau	Setembro/2013	1	Não	catanduva, catingueira
E1	Governador Dix Sept Rosado	Outubro/2013	1	-	Goiabeira
F1	Jandaíra	Outubro/2013	3	Não (mas coloca cera da jandaíra)	leucena, limão, acerola e malva branca
F2	Jandaíra	Outubro/2013	1	Não	algaroba, umbu, jurema-preta e espinheiro
F3	Jandaíra	Outubro/2013	1	Não	caju, acerola, tamarindo, jurema-preta
F4	Jandaíra	Outubro/2013	3	Não	seriguela, caju, goiaba, boa noite, noni, pinha
F5	Jandaíra	Outubro/2013	1	Não recentemente, fazia mais de um ano	leucena, gliricidia, jurema-preta, catingueira
F6	Jandaíra	Outubro/2013	2	Não	goiaba, acerola, limão, coco
F7	Jandaíra	Outubro/2013	1	Não	jurema-preta, aroeira, coqueiro e acerola
G1	Mossoró	Outubro/2013	3	Não	cajarana, noni, acerola, goiaba, pinha, tamarindo, seriguela, malva branca
G2	Mossoró	Outubro/2013	2	Nov./Dez./2012	malva branca, manga, goiaba, algaroba e aroeira
G3	Mossoró	Setembro/2013	1	Fev./2013	malva branca, catanduva, sabiá
G4	Mossoró	Setembro/2013	2	Não	jurema-preta, jitirana, cajarana, manga, cabeça de velho, goiaba, sabiá, acerola e malva branca
G5	Mossoró	Setembro/2013	1	Jan./Fev./2013	jitirana, eucalipto, malva branca
G6	Mossoró	Setembro/2013	1	Não	mutri, manga, goiaba
G7	Mossoró	Setembro/2013	1	Mar./2013	não sabia dizer (observou-se cabeça de velho, chanana)
G8	Mossoró	Setembro/2013	1	Fev./2013	eucalipto, limoeiro, goiaba e tamarindo
H1	Pau dos Ferros	Outubro/2013	2	Não	sabiá, aroeira, pereiro, angico e catingueira
I1	Riachuelo	Setembro/2013	1	Mar./2013	jitirana, amarra-cachorro, marmeleiro, malva branca
I2	Riachuelo	Setembro/2013	1	Nov./Dez./2012	jitirana, amarra-cachorro, marmeleiro, malva branca

J1	São Francisco do Oeste	Outubro/2013	3	Nov./Dez./2012	goiaba e acerola
J2	São Francisco do Oeste	Outubro/2013	7	Não	marmeleiro, jerema-preta, juazeiro e mofumbo
J3	São Francisco do Oeste	Outubro/2013	2	Não	malva branca, catingueira, juazeiro, jitirana, sabiá, pereiro, canafistula, relógio, mofumbo, marmeleiro
J4	São Francisco do Oeste	Outubro/2013	3	Não (Fazia mais de 2 anos que não abria a caixa)	sabiá, aroeira, malva branca, pereiro, angico, catingueira, marmeleiro
J5	São Francisco do Oeste	Outubro/2013	3	Set./Out./2012	Tamarindo
K1	São Paulo do Potengi	Setembro/2013	1	Mar./2013	jitirana, amarra-cachorro, marmeleiro, malva branca
K2	São Paulo do Potengi	Setembro/2013	1	Não	jitirana, amarra-cachorro, marmeleiro, malva branca
L1	Serra do Mel	Outubro/2013	1	Não	véu de noiva, cabeça de velho, malva branca, vassourinha, pitanga, louro, manjerição, cajarana e jitirana
L2	Serra do Mel	Outubro/2013	1	Não (mais de 2 anos e sem pólen)	mangueira, coqueiro
L3	Serra do Mel	Outubro/2013	1	-	cajarana, manga, caju
L4	Serra do Mel	Outubro/2013	1	Não	eucalipto, caju, goiaba
L5	Serra do Mel	Outubro/2013	2	Não	eucalipto e manga

- Não sabia dizer

APÊNDICE C - IMAGENS DAS AMOSTRAS DE MEL SUBMETIDAS AO PROCESSO DE ACETÓLISE: A) AMOSTRAS COM SOLUÇÃO DE ACETÓLISE E BASTÃO DE VIDRO; B) AMOSTRAS COM SOLUÇÃO DE GLICERINA; C) DESCARTE DO SOBRENADANTE PARA COLETA DO PÓLEN.



APÊNDICE D – TIPOS POLÍNICOS OBSERVADOS NAS AMOSTRAS DE MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*), PROVENIENTE DO SEMIÁRIDO NORDESTINO.

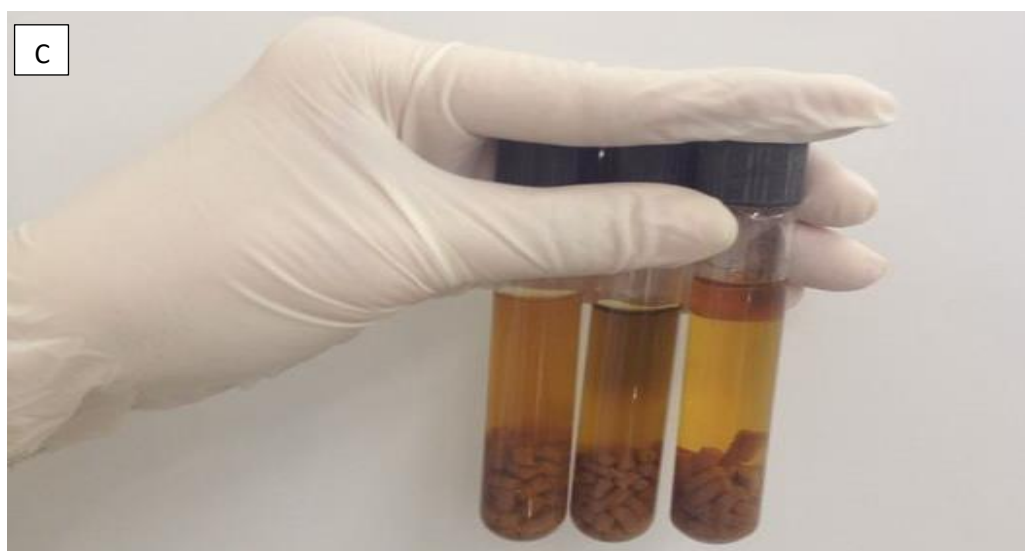
Família/Subfamília	Gênero/ Espécies de plantas	Nome popular	Número de amostras
Amaranthaceae	<i>Alternanthera tenella</i>	quebra- panela	19
	Tipo <i>Chamissoa</i>	x	14
	Tipo <i>Gomphrena</i>	x	1
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i>	cajueiro	5
	<i>Mangifera indica</i>	mangueira	1
	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	aroeira	23
	<i>Spondias tuberosa</i>	umbuzeiro	9
Asteraceae	Tipo <i>Aspilia</i>	x	3
	Tipo <i>Lepidaploa</i>	x	1
Combretaceae	Tipo <i>Combretum</i>	mofumbo	5
Cucurbitaceae	<i>Citrulus lanatus</i>	melanciaira	1
	Tipo <i>Cucumis anguria</i>	maxixe	1
Euphorbiaceae	Tipo <i>Croton</i>	marmeleiro	1
Fabaceae/ Caesalpinioideae	<i>Chamaecrista duckeana</i>	palma-do- campo	33
	<i>Chamaecrista</i> sp. 1	x	4
	<i>Chamaecrista supplex</i>	palma-do- campo	3
	<i>Senna obtusifolia</i>	mata-pasto	29
	<i>Senna trachypus</i>	canafístula	4
Fabaceae / Mimosoideae	<i>Anadenanthera colubrina</i>	angico	13
	<i>Leucaena leucocephala</i>	leucena	13

	<i>Mimosa arenosa/Mimosa caesalpiniiifolia</i>	calumbi	35
	<i>Mimosa filipes</i>	x	7
	<i>Mimosa quadrivalvis</i>	malícia	5
	<i>Mimosa sensitiva</i>	dorme- dorme	8
	<i>Mimosa</i> sp. 1	x	1
	<i>Mimosa tenuiflora</i>	jurema- preta	35
	<i>Pityrocarpa moniliformis</i>	catanduva	27
	<i>Pityrocarpa stipulacea</i>	jurema- branca	6
	Tipo <i>Albizia</i>	x	4
	Tipo <i>Desmantis</i>	x	1
	Tipo <i>Neptunia plena</i>	x	17
	Tipo <i>Pithecellobium diversifolium</i>	x	1
Fabaceae / Papilionoideae	Tipo <i>Centrosema</i>	jequitirana	9
	Tipo <i>Chaetocalyx scandens</i>	rama- amarela	3
	Tipo <i>Gliricidia sepium</i>	gliricídia	8
	Tipo <i>Pterocarpus</i>	x	6
	Tipo <i>Zornia</i>	x	1
Lamiaceae	<i>Hyptis</i> sp.	x	1
	<i>Hyptis suaveolens</i>	bamburral	1
Malvaceae	<i>Sida</i> sp.	x	3
	<i>Waltheria rotundifolia</i>	malva prateada	28

	<i>Waltheria</i> sp.	x	25
Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i>	nim	15
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i> sp. 1	eucalipto	13
	<i>Eucalyptus</i> sp. 2	eucalipto	1
	<i>Eugenia uniflora</i>	pitangueira	14
	<i>Psidium guajava</i>	goiabeira	27
	Tipo <i>Myrcia</i>	x	2
	Tipo <i>Syzygium cumini</i>	jamelão	2
Rhamnaceae	<i>Ziziphus joazeiro</i>	juazeiro	7
Rubiaceae	<i>Borreria</i> sp. 1	x	7
	<i>Borreria</i> sp. 2	x	3
	<i>Borreria verticillata</i>	cabeça-de-velho	23
Solanaceae	<i>Solanum</i> sp.	x	4
Turneraceae	<i>Turnera melochioides</i>	x	1
	<i>Turnera subulata</i>	chanana	3
Verbenaceae	Tipo <i>Lantana câmara</i>	cambará	8
Indeterminado	Indeterminado 1	x	1
	Indeterminado 2	x	2
	Indeterminado 3	x	1
	Indeterminado 4	x	1
	Indeterminado 5	x	1
	Indeterminado 6	x	2
	Indeterminado 7	x	2
	Indeterminado 8	x	1
	Indeterminado 9	x	1

	Indeterminado 10	x	2
	Indeterminado 11	x	1
	Indeterminado 12	x	1
	Indeterminado 13	x	1
	Indeterminado 14	x	1
	Indeterminado 15	x	1
	Indeterminado 16	x	1
	Indeterminado 17	x	1

**APÊNDICE E – IMAGENS DA PESQUISA DE MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS:
A) INOCULAÇÃO DOS CALDO CMM E RCM; B) CÂMARA DE ANAEROBIOSE;
C) CALDO CMM.**



APÊNDICE F – CONDIÇÕES DO ESPECTROFOTÔMETRO DE MASSAS E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CADA COMPOSTO PESQUISADO NO MEL DE ABELHA *Melipona subnitida*.

Compostos	TRA(min)	Transição de Quantificação (CE ^b , V; CXP ^c , V)	Transição de Confirmação (CE ^b , V; CXP ^c , V)	Declustering potential (V)	LOD ^d (ppb)	LOQ ^e (ppb)
3-Hidroxicarbofurano	0,76-0,80	238,1>163,1 (21, 4)	238,1>181,2 (15, 2)	82	5	25
Acetamiprido	0,74-0,78	223,1>126,0 (29, 12)	223,1>73,0 (71, 8)	51	5	25
Alacloro	5,55-5,75	270,1>238 (15, 22)	270,1>162,1 (27, 14)	76	5	10
Aldicarbe	1,18-1,25	208,1>116,0 (11, 3)	208,1>88,9 (20, 3)	51	5	10
Aletrina	7,99-8,41	303,1>135,1 (17, 12)	303,1>91,1 (55, 8)	106	5	10
Ametrina	4,20-4,40	228>186 (25, 16)	228>116 (35, 10)	71	5	10
Azinfós etil	5,07-5,33	346>132,2 (23, 12)	346>160,2 (15, 12)	76	5	10
Azinfós metil	3,34-3,52	318,1>132,1 (23, 12)	318,1>261,1 (9, 24) 318,1>160,0 (11, 16)	106	5	10
Azoxistrobina	3,99-4,20	404,1>371,9 (21, 34)	404,1>343,9 (29, 34)	101	5	10
Benalaxil	6,21-6,52	326>148,0 (31, 12)	326>294,0 (15, 28)	81	5	10
BF 500-3 (metabólito piraclostrobina)	6,42-6,75	358>132,1 (41, 12)	358>164,1 (19, 16)	56	5	nd
Bitertanol	6,53-6,87	338,1>269,1 (13, 24)	338,1>99,0 (21, 10)	51	5	10
Buprofenzina	8,15-8,30	306,2>201,1 (17, 18)	306,2>116 (21, 10)	56	5	10
Cadusafos	7,17-7,30	271,1>159 (19, 18)	271,1>215 (13, 10)	76	5	10
Carbaril	1,95-2,05	202,2>145,1 (15, 14)	202,2>127,1 (39, 12)	66	5	10
Carbendazim	0,95-1,00	192>160,1 (25, 14)	192>132,1 (41, 12)	56	5	10
Carbofurano	1,75-1,84	222,1>165,2 (17, 2)	222,1>123,0 (29, 2)	70	5	nd
Cinidon etílico	7,68-8,10	410,9>347,9 (31, 32)	410,9>365,9 (24, 34)	51	5	10
Ciazofamida	5,25-5,52	324,9>108,0 (19, 10)	324,9>261,0 (13, 24)	66	5	10
Ciflufenamida	7,02-7,16	413,1>294,9 (21, 26)	413,1>241 (31, 22)	56	5	nd
Cialofope butil	7,42-7,52	375,1>256 (23, 22)	375,1>120 (41, 10)	61	5	10
Cimoxanil	0,91-0,96	199,1>128,0 (13, 12)	199,1>110,9 (25, 12)	96	5	nd
Ciproconazol	4,74-5,00	292,1>70,1 (23, 8)	292,1>125,0 (37, 12)	81	5	25
Ciprodinil	5,98-6,28	226,1>92,9 (45, 34)	226,1>76,9 (63, 34)	71	5	10

Clorbufan	3,86-4,06	241,1>172,0 (17, 16)	241,1>154,0 (29, 14)	51	5	25
Clorpirifós metil	6,77-7,12	321,9>125,0 (27, 12)	321,9>289,8 (23, 26)	106	5	10
Clortiofós	8,80-8,92	361>304,8 (23, 28)	361>192 (39, 16)	86	5	10
Clofentezina	6,82-6,97	303>137,9 (21, 12)	303>102 (53, 8)	21	5	10
Desmedifam	3,35-3,60	318,1>182 (19, 16)	318,1>136 (37, 12)	46	5	10
Diazinona	6,32-6,65	305,1>97,0 (49, 10)	305,1>169,1 (31, 16)	71	5	10
Difenoconazol	6,63-6,97	406,1>250,9 (35, 24)	406,1>337,2 (23, 24)	96	5	10
Dimetomorfe	4,52-4,92	388,1>300,9 (29, 26)	388,1>165,1 (43, 14)	66	5	10
Diniconazol	6,86-7,00	326,1>70,0 (59, 12)	326,1>70,1 (61, 8)	76	5	10
Dissulfotona sulfona	2,57-2,71	307>153,0 (17, 14)	307>171,0 (17, 14)	91	5	10
Diurom	3,00-3,20	233,1>72,0 (23, 8)	233,1>159,9 (35, 14)	81	5	10
Espiromesifeno	8,80-8,92	371,1>273 (21, 22)	371,1>255,1 (31, 20)	141	5	10
Etiona	7,93-8,34	385>199,1 (15, 18)	385>171,0 (23, 18)	91	5	10
Etiprole	4,36-4,55	397>350,9 (29, 30)	397>254,9 (47, 22)	156	5	10
Etofumesato	3,93-4,14	304,1>121,1 (29, 12)	304,1>161,2 (31, 12)	71	5	10
Etoprofós	5,29-5,57	243,1>131,0 (27, 12)	243,1>96,6 (41, 10)	91	5	25
Etrinifós	5,98-6,29	293,1>125,0 (33, 12)	293,1>265,1 (21, 12)	66	5	10
Fenamifós	5,58-5,87	304,1>217,1 (29, 20)	304,1>202,0 (45, 20)	11	5	10
Fenamifós sulfona	1,82-1,92	336>188,0 (39, 16)	336>266,0 (27, 24)	131	5	10
Fenamifós sulfóxido	1,66-1,75	320,1>232,9 (33, 20)	320,1>171,1 (31, 16)	131	5	10
Fenarimol	5,07-5,34	330,9>268,0 (31, 24)	330,9>139,0 (47, 12)	101	5	10
Fenazaquina	9,60-9,75	307,2>57 (37, 10)	307,2>91 (87, 14)	66	5	10
Fenexamida	5,13-5,40	302,1>97,2 (31, 10)	302,1>55,1 (55, 8)	116	5	25
Fenpropimorfe	10,47-11,00	304,3>147,1 (37, 14)	304,3>117,1 (73, 10)	66	5	10
Fenpiroximato	9,15-9,27	422,1>366,1 (25, 31)	422,1>135 (41, 12)	81	5	10
Fentoato	5,80-6,10	321>79,1 (51, 16)	321>163,1 (17, 16)	96 /101	5	25
Fluasifope p-butílico	7,75-8,15	384,1>282,0 (29, 26)	384,1>328,0 (23, 30)	116	5	10
Flumetrina	10,68-11,2	527>267,0 (21, 24)	527>239,0 (31, 22)	46	5	10
Fluquinconazol	4,92-5,17	376>307,0 (33, 28)	376>349,0 (33, 28)	11	5	25
Fluzilazol	5,88-6,02	316,0>247 (25, 22)	316,0>165,1 (37, 14)	86	5	10

Flutriafol	2,70-2,83	302,1>122,9 (35, 12)	302,1>109,0 (43, 12)	85	5	10
Forato sulfóxido	2,46-2,60	276,9>199,0 (13, 18)	276,9>142,9 (27, 12)	111	5	10
Fosmete	3,42-3,59	318>133,0 (51, 12)	318>130,1 (51, 12) 318>160,0 (19, 14)	96	5	10
Fosfamidona	1,25-1,55	300>127 (27, 12)	300>226,9 (19, 20)	91	5	10
Fostiazato	2,55-2,80	284,1>104 (27, 10)	284,1>227,9 (11, 20)	91	5	10
Furatiocarbe	7,64-8,04	383,2>195,2 (17, 3)	383,2>252,2 (24, 3)	72	5	10
Hexaconazol	6,29-6,61	314,2>70,0 (53, 12)	314,2>159,2 (37, 12)	86	5	10
Hexitiazoxi	8,18-8,60	353>228,0 (21, 20)	353>168,1 (35, 16)	61	5	10
Imazalil	5,92-6,23	297>159,0 (29, 14)	297>200,9 (23, 14)	81	5	10
Imidacloprido	0,62-0,66	256,2>175,1 (27, 16)	256,2>209,1 (21, 20)	66	5	nd
Indoxacarbe	7,15-7,52	528>203,1 (59, 18)	528>150,1 (31, 14)	136	5	10
Iprovalicarbe	5,14-5,41	321,2>119 (23, 3)	321,2>203,2 (12, 2)	61	5	10
Isoproturon	2,86-3,01	207,3>72,1 (23, 8)	207,3>165,1 (19, 14)	71	5	10
Linuron	3,71-3,90	249,1>159,9 (25, 4)	249,1>182,0 (21, 4)	76	5	10
Malationa	4,48-4,72	330,9>127,1 (17, 12)	330,9>285,1 (11, 26)	111	5	10
Metalaxil	3,05-3,21	280,2>220,1 (19, 20)	280,2>192,2 (25, 18)	66	5	10
Metazaclor	2,89-3,04	278,1>134,1 (29, 12)	278,1>210,1 (15, 18)	51	5	10
Meticonazol	6,39-6,72	320,1>70,1 (59, 6)	320,1>125,1 (57, 12)	96	5	10
Metamidofós	0,44-0,47	142>93,9 (19, 12)	142>124,9 (19, 12)	76	5	nd
Metidationa	3,15-3,32	303>145,0 (13, 14)	303>85,1 (29, 8)	86	5	10
Metiocarbe	3,90-4,10	226,1>169,1 (13, 14)	226,1>121,1 (25, 10)	76	5	10
Metiocarbe sulfóxido	0,68-0,72	242,1>185,1 (19, 16)	242,1>122,1 (39, 12)	81	5	10
Metoxifenoazida	4,90-5,04	369,1>149 (23, 14)	369,1>313,1 (11, 28)	71	5	10
Mevinfós	0,83-0,89	225,1>127,1 (21, 12)	225,1>193,0 (11, 16)	66	5	10
Monocrotofós	0,54-0,57	224,1>127,0 (23, 12)	224,1>98,0 (17, 12)	71	5	10
Monolinuron	2,16-2,28	215,1>125,9 (27, 12)	215,1>148,0 (19, 12)	91	5	10
Miclobutanil	4,64-4,88	289,1>70,1 (33, 10)	289,1>125,1 (39, 10)	91	5	10
Nuarimol	3,90-4,20	314,9>252,0 (31, 22)	314,9>81,1 (51, 8)	81	5	10
Ometoato	0,44-0,47	214,1>183,0 (15, 16)	214,1>125,0 (29, 12)	56	5	10

Oxamil	0,50-0,53	237,1>72,1 (25, 8)	237,1>90,0 (11, 10)	51	5	10
Paclobutrazol	4,48-4,72	294>70,1 (55, 6)	294>125,0 (55, 12)	81	5	10
Paraoxom etil	2,75-3,00	276>220 (21, 20)	276>174 (33, 16)	81	5	10
Parationa etílica	5,66-5,95	292>235,9 (21, 22)	292>97,0 (37, 10)	66	5	nd
Penconazol	5,90-6,21	284,2>70,1 (21, 8)	284,2>159,0 (41, 14)	46	5	25
Pencicuron	6,72-7,07	329>125,0 (31, 12)	329>218,0 (23, 20)	91	5	10
Pendimetalina	8,15-8,57	282,2>212,1 (15, 20)	282,2>91,0 (33, 8)	36	5	10
Picolinafem	7,71-8,10	377,2>238,3 (35, 14)	377,2>145,0 (69, 14)	91	5	10
Pirimifós etil	7,85-8,26	334,2>198,0 (32, 18)	334,2>182,1 (31, 18)	61	5	10
Pirimifós metil	6,63-6,97	306,1>164,1 (29, 14)	306,1>108,1 (39, 10)	51	5	10
Procloraz	6,51-6,85	376>308,0 (17, 28)	376>265,9 (25, 28)	61	5	nd
Profenofós	7,42-7,81	372,9>302,9 (25, 28)	372,9>97,0 (35, 28)	126	5	10
Propaquizafope	8,07-8,20	444,1>370,9 (21, 34)	444,1>100,0 (23, 10)	111 / 86	5	10
Propargito	8,56-9,00	368,1>231,1 (15, 20)	368,1>175,1 (23, 16)	41	5	10
Profam	2,61-2,74	180,1>138,1 (13, 14)	180,1>120,1 (25, 14)	61	5	25
Propiconazol	6,24-6,57	342,1>159,1 (37, 14)	342,1>89,1 (99, 8)	76	5	nd
Propoxur	1,68-1,77	210,1>111,0 (19, 3)	210,1>168,1 (11, 3)	61	5	10
Propizamida	4,36-4,59	256,1>190,0 (19, 16)	256,1>173,0 (31, 16)	61	5	nd
Piraclofós	6,84-6,94	361>256,9 (31, 24)	361>111,0 (81, 10)	111	5	25
Piraclostrobina	6,46-6,80	388>194,1 (17, 18)	388>163,1 (33, 14)	51	5	10
Pirazofós	6,51-6,85	374,1>222,1 (29, 20)	374,1>194,1 (43, 20)	86 / 91	5	10
Piridaben	9,43-9,95	365,1>309,1 (17, 30)	365,1>147,2 (31, 30)	41 / 21	5	10
Pirifenox	7,99-8,40	294,9>93,1 (27, 8)	294,9>92,1 (83, 8)	86	5	10
Piriftalide	3,81-3,97	319>139 (37, 12)	319>220,1 (33, 20)	96	5	10
Pirimetaniil	4,00-4,21	200,2>107,1 (33, 10)	200,2>80,0 (39, 8)	41	5	10
Piriproxifem	7,99-8,40	322>96,0 (21, 10)	322>78,1 (75, 6)	71	5	10
Piroquilon	1,60-1,85	174,1>132,0 (33, 12)	174,1>117 (41, 12)	91	5	10
Quinalfós	5,73-6,03	299,1>163,1 (33, 14)	299,1>147,1 (31, 14)	61	5	10
Quinoclamina	1,40-1,65	208,1>105,0 (33, 10)	208,1>89,0 (51, 8)	106	5	10

Quizalofope-p-etil	7,77-7,88	373>299,0 (27, 26)	373>271,0 (35, 22)	151	5	10
Tebuconazol	5,98-6,29	308,1>70,1 (57, 8)	308,1>125,1 (53, 12)	71	5	10
Tebufempirade	7,80-8,20	334,1>145,1 (39, 4)	334,1>117,1 (67, 6)	111	5	10
Temefós	8,10-8,20	466,9>418,9 (25, 34)	466,9>125,0 (41, 12)	86	5	10
Terbufós	7,91-8,05	289>57,1 (31, 8)	289>103,1 (13, 10)	71	5	nd
Tetraconazol	5,45-5,60	372,0>159,0 (39, 14)	372,0>161,0 (39, 14)	101 / 81	5	10
Tiacloprido	0,80-0,85	253,3>126,0 (29, 12)	253,3>186, 0 (21, 12)	101	5	10
Tiobencarbe	6,96-7,08	258,0>125,0 (23, 12)	258,0>127,0 (25, 14)	56	5	10
Tiodicarbe	2,05	355,1>88,1 (21, 3)	355,1>108,0 (21, 3)	26	5	10
Tiofanato metílico	0,47-0,50	342,9>151,1 (29, 14)	342,9>93,1 (69, 8)	86	5	nd
Triadimefon	4,67-4,91	294>197,0 (21, 18)	294>225,0 (17, 20)	66	5	10
Triadimenol	4,84-5,09	296,1>70,1 (31, 8)	296,1>70,0 (33, 8)	46	5	10
Triclorfom	0,79-0,84	257>109,0 (23, 10)	257>221,0 (15, 20)	101	5	10
Triciclazol	1,00-1,25	190,1>163,0 (31, 14)	190,1>136,0 (39, 12)	61	5	10
Trifloxistrobina	7,20-7,57	409,1>186,1 (23, 16)	409,1>145,1 (63, 14)	66	5	10
Triflumizol	7,12-7,48	346>278,0 (15, 26)	346>73,1 (21, 8)	51	5	10
Triforin	3,51-3,69	434,9>389,8 (17, 36)	434,9>215,1 (37, 20)	56	5	10
Triticonazol	5,45-5,60	318,1>70,0 (43,12)	318,1>69,9 (43,12)	61	5	nd

^a TRA: Tempos de Retenção Aproximado

^b CE: Energia de colisão (Collision Energy)

^c CXP: Potencial de Saída da Cella de Colisão (Collision Cell Exit Potential)

^d LOD: Limite de detecção

^e LOQ: Limite de quantificação

^f nd.: não determinado (ensaio qualitativo)

ANEXO

ANEXO A - PLANTAS DOS GRÃOS DE PÓLEN PREDOMINANTE E SECUNDÁRIO OBSERVADAS NO MEL DE ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida*) A) *Mimosa arenosa*/*Mimosa caesalpiniiifolia*; B) *Mimosa tenuiflora*; C) *Myracrodruon urundeuva*; D) *Pityrocarpa moniliformis*; E) *Borreria verticillata*; F) *Chamaecrista duckeana*; G) *Psidium guajava*; H) *Ziziphus joazeiro*; I) *Waltheria rotundifolia*, Imagens: Michael Hrcir; J) Tipo *Gliricidia sepium*, Imagem do autor

