



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA - ICET
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA
RECURSOS AMAZÔNICOS - PPGCTRA.

**ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO, QUÍMICO E MELISSOPALINOLÓGICO DE MÉIS
SAZONAIS DAS ESPÉCIES (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta*
Latreille) DE MELIPONICULTORES DA MESORREGIÃO AMAZÔNICA-AM**

MIKAIL QUEIROZ DA SILVA

ITACOATIARA - AM

2018

MIKAIL QUEIROZ DA SILVA

**ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO, QUÍMICO E MELISSOPALINOLÓGICO DE MÉIS
SAZONAIS DAS ESPÉCIES (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta*
Latreille) DE MELIPONICULTORES DA MESORREGIÃO AMAZÔNICA-AM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, área de concentração Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Recursos Amazônicos.

Orientador: Prof. Dr. Pierre André de Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Bruno Alexandre da Silva

**ITACOATIARA - AM
2018**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586e Silva, Mikail Queiroz da
Estudo físico-químico, químico e melissopalínológico de méis sazonais das espécies (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta latreille*) de meliponicultores da mesorregião Amazônica-Am / Mikail Queiroz da Silva. 2018
107 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Pierre André de Souza
Coorientador: Bruno Alexandre da Silva
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Meliponicultura-Amazônia. 2. Química. 3. Melissopanilogia. 4. Legislação. I. Souza, Pierre André de II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

MIKAIL QUEIROZ DA SILVA

Estudo físico-químico, químico e melissopalínológico de méis sazonais das espécies (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta latreille*) de meliponicultores rurais da mesorregião Amazônica-Am.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, área de concentração Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Recursos Amazônicos.


Aprovado em 05 de julho de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pierre André De Souza, PhD
UFPA
BANC 132003

Dr. Pierre André De Souza, Presidente
PPGCTRA-Universidade Federal do Amazonas


Dra. Odineia Do Socorro Pamplona Freitas
Universidade Federal do Amazonas


Dr. Santiago Linório Ferreyra Ramos
Universidade Federal do Amazonas

LABORATÓRIOS PARCEIROS NESTE PROJETO

Universidade Federal Oeste do Pará (UFOPA)

Laboratórios de Botânica Taxonômica e Panilogia - Coordenadora Dra. Vanessa Holanda Righetti de Abreu

Laboratório de Bioprospecção - Coordenadora Dra. Rosa Helena Veras Mourão

Unidade de Farmacognosia - Coordenador Dr. Bruno Alexandre da Silva

Universidade Estadual do Pará (UEPA)

Campos Santarém – Prof^a. Dra. Leoneide Bouillet

Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos (BIOSIS) - Dra. Favizia Freitas de Oliveira.

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Departamento de Microscopia Eletrônica – Dr. Américo Cruz Júnior

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Prof^a Dra. Roseane Fett em especial ao Técnico Sr. Luciano V. Gonzaga

AGRADECIMENTO

A Deus, pelo dom da vida e por ter me dado forças, persistência e fé, sempre me abençoando e iluminando.

Aos meus pais Gutemberg Gomes e Elieuzza Queiroz por tudo que me ensinaram e pela confiança e incentivo que sempre depositaram.

A minha esposa Samara Detoni e filha Sophia, minhas companheiras, pelo apoio, incentivo, carinho, principalmente paciência e compreensão em minhas inúmeras ausências em nosso lar, por serem a maior inspiração de todo meu empenho e sucesso.

Aos meus irmãos amados Makson e Olivia, meus companheiros fiéis e confidentes de minha vida, agradeço por sempre estarem ao meu lado me rodeando de carinho e amor. Além de minha gigante e maravilhosa família por rezarem, torcerem e se orgulharem sempre de mim. Obrigado!

Ao Instituto de Ciência Exatas e Tecnológicas (ICET), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, onde obtive conhecimento necessário para continuar a vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Pierre André de Souza, pelas orientações, ensinamentos, confiança, sugestões, pelas palavras certas, os quais sei que vou lembrar sempre. Agradeço, por esse tempo, ter se dedicado ao nosso trabalho, apresentando um vasto conhecimento, trocando ideias e experiências. Muito obrigado meu grande Amigo!

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Bruno Alexandre da Silva da Universidade Federal do Oeste do Pará, pela disposição, incentivo e ajuda na realização das análises da capacidade antioxidante do mel, e pelas suas ideias, contribuições e a participação fundamental para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

A Coordenadora Dra. Rosa Helena Veras Mourão da Universidade Federal do Oeste do Pará por ceder às instalações e equipamentos dos Laboratórios de Bioprospecção e Unidade de Microbiologia para realização das análises da capacidade antioxidantes e aroma do mel.

A professora, Dra. Favizia Freitas de Oliveira da Universidade Federal da Bahia, pelo apoio e oportunidade em participar do trabalho, agraciando e contribuindo com seus conhecimentos.

A Coordenadora Dra. Vanessa Holanda Righetti de Abreu da Universidade Federal do Oeste do Pará por suas orientações e por ceder o Laboratório de Botânica Taxonômica e Panilogia para realização das análises melissopalínológicas.

Meu agradecimento especial também é direcionado a Prof^a. Dra. Leoneide Bouillet, pessoa de bom coração e simplicidade, que nus acolheu em sua residência como irmão e amigo, além de ter contribuído nas análises antioxidante. Obrigada pela amizade, alegrias, risadas e estádias.

Agradeço também a Prof^a Dra. Roseane Fett em especial ao Técnico Sr. Luciano V. Gonzaga da Universidade de Santa Catarina, por toda sua dedicação e paciência, pelo seu enorme conhecimento transmitido no desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

Aos Professores doutores Geraldo José N. de Vasconcelos e Isabel Reis Guesdon, agradeço pela disposição e empenho em repassar seus conhecimentos de microscopia, sendo peça fundamental nas análises melissopalínológicas.

Aos meus queridos parceiros técnicos dos laboratórios do ICET, Almir Neto, Arlesson Freire, Brígida Moura, Francisco Emiliano e Sulcimilena Mady, em especial meu amigo Jander Savedra Nunes, pelas dicas, esclarecimentos e auxílio no decorrer das análises físico-químicas.

Também ao casal Thiago de Oliveira e Luana Silva, em especial a Vozinha Zilda Duarte de Oliveira onde Deus à chamou para fazer parte de sua casa, pela colaboração nas instalações em Santarém-AM, além da amizade e carinho criado.

Não poderia esquecer meus amigos de laboratório Raissa Rolin, Max Ryan Gama e Valcira Teixeira que caminharam junto comigo nessa estrada árdua, obrigado pela colaboração, apoio e descontração.

Aos meliponicultores Sr. Raimundo Viana (conhecido como Seu Dico) e esposa Sra. Maria do Socorro da Comunidade de São João do Araçá (Itacoatiara), além do Sr. Pedro Najibe e sua digníssima esposa de Urucará, por cederem amostras de mel e abelhas para realização do trabalho, pela estadia e pelo bom convívio em suas residências, além do enriquecimento do conhecimento a mim transmitido sobre a meliponicultura. Agradeço a Deus por colocar pessoas como vocês em minha vida.

Meu imenso agradecimento a todos que, direta ou indiretamente dedicaram seu tempo e contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

O mel das abelhas sem ferrão é um produto biológico muito complexo, com características físico-químicas particulares, cuja composição varia em função da flora visita pelas abelhas e das condições climáticas, atualmente é uma atividade que vem sendo implementada devido à sua importância como polinizadoras de espécies vegetais e por contribuir na geração de renda para os produtores rurais no médio amazonas, mas ainda é carente de legislação específica no que se refere às características do mel produzido por essas espécies. Com o propósito de buscar novos dados e auxiliar nas pesquisas científicas em relação ao mel de abelhas sem ferrão, este estudo objetivou avaliar as características físico-químicas, química e melissopanilógica de méis de *meliponas* (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta* Latreille) produzidas em períodos sazonais por meliponicultores rurais na mesorregião do Amazonas na safra de 2017. As amostras analisadas demonstraram que, as exigências estabelecidas pela legislação brasileira de *Apis mellifera*, não atendem na totalidade as características físico-químicas dos méis de *meliponas*, destacando a umidade, acidez e os açúcares redutores, sofrendo influência nos períodos sazonais de coleta, principalmente no período chuvoso. A análise melissopalínológica dos méis das abelhas analisadas indicou a presença de 32 famílias botânicas diferentes. As famílias *Fabaceae* e *Myrtaceae* foram os principais tipos polínicos explorados por *M. s. merrillae*, com ocorrência consecutiva nos dois períodos sazonais da região Amazônica. As abelhas *M. interrupta* no período chuvoso, apresentaram preferências pelas famílias *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* e *Poaceae* (Itacoatiara), porém a última família apresentou uma elevada taxa de ocorrência em Uruará, classificada como monofloral. No seco, as espécies analisadas apresentaram comportamento generalista no uso das fontes de pólen, classificadas como heterofloral. Quando avaliados os conteúdos de flavonoides totais (12,42 a 28,99 FT μg Rutina g^{-1} Mel) e a capacidade antioxidante pelo método DPPH (110,43 a 744,23 CE_{50%} mg g^{-1}), podemos destacar que apresentaram variações significativas em relação as espécies de abelhas, sazonalidades e o local de origem, corroborando com trabalhos encontrados na literatura, constatando uma correlação positiva entre os teores de flavonoides totais e capacidade antioxidante. Além disso, foram detectadas por espectrometria de massa acoplada a cromatografia gasosa (CG-MS) 19 compostos voláteis nas amostras analisadas. Os resultados demonstraram semelhanças nas impressões digitais cromatográficas para os méis das espécies estudadas de ambos os meliponários. Os terpenos linalol, seus isômeros *cis* e *trans* óxidos de linalol e o hidrocarboneto *n*-octano estiveram presentes praticamente em todas as amostras. Neste sentido, são necessários novos estudos e que uma legislação específica seja criada para atender os requisitos de qualidade dos méis de *meliponas*, visando fornecer benefícios reais à geração de renda para agricultura familiar dessa região, contribuindo também na manutenção da diversidade vegetal.

Palavras-chave: 1. Meliponicultura-Amazônia; 2. Química; 3. Melissopanilogia; 4. Legislação.

ABSTRACT

Honey from stingless bees is a very complex biological product, with particular physicochemical characteristics, whose composition varies according to the flora visited by the bees and the climatic conditions, is currently an activity that has been implemented due to its importance as pollinators of plant species and for contributing to income generation for farmers in the Amazon region, but it still lacks specific legislation regarding the characteristics of honey produced by these species. The objective of this study was to evaluate the physicochemical, chemical and melissopanilological characteristics of *melipone* honeys (*Melipona seminigra merrillae* and *Melipona interrupta* Latreille) produced in periods in the meso-region of Amazonas in the 2017 harvest. The samples analyzed demonstrated that the requirements established by the Brazilian legislation of *Apis mellifera* do not fully meet the physicochemical characteristics of *melipone* honeys, highlighting the humidity, acidity and reducing influences of the seasonal periods of collection, especially in the rainy season. The melissopalinalogical analysis of the honeys of the bees analyzed indicated the presence of 32 different botanical families. The families *Fabaceae* and *Myrtaceae* were the main sources of nectar explored by *M. s. merrillae*, occurring consecutively in the two seasonal periods of the Amazon region. The bees *M. interrupta* in the rainy season, presented preferences by the families *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* and *Poaceae* (Itacoatiara), but the last family presented a high occurrence rate in Urucará, classified as monofloral. In the dry, the analyzed species presented general behavior in the use of pollen sources, classified as heterofloral. When the content of total flavonoids (12.42 to 28.99 FT μg Rutin g^{-1} Mel) and the antioxidant capacity by the DPPH method (110.43 to 744.23 EC50% mg g^{-1}) were evaluated, significant variations in relation to bee species, seasonality and place of origin, corroborating with works found in the literature, showing a positive correlation between total flavonoid levels and antioxidant capacity. In addition, 19 volatile compounds were detected by mass spectrometry coupled to gas chromatography (GC-MS) in the samples analyzed. The results showed similarities in the chromatographic fingerprints for the honeys of the studied species of both meliponaria. The terpenes linalol, its *cis* and *trans* isoxides of linalool and the *n*-octane hydrocarbon were present in almost all samples. In this sense, new studies are needed and specific legislation is created to meet the quality requirements of *meliponas* honeys, aiming to provide real benefits to income generation for family agriculture in this region, also contributing to the maintenance of plant diversity.

Keywords: 1. Meliponiculture-Amazon; 2. Chemistry; 3. Melissopanilology; 4. Legislation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa do estado do Amazonas com a localização das amostras de abelhas sem ferrão estudadas. Municípios de Uruará (azul) e Itacoatiara (laranja).20
- Figura 2** - Mel de *M. s. merrillae* coletado em Itacoatiara (SJA) na estação chuvosa21
- Figura 3** - Mel de *M. s. merrillae* coletado em Itacoatiara (SJA) na estação seca21
- Figura 4** - Distribuição geral das famílias presente nas amostras de méis de *meliponas* provenientes de Uruará, Amazonas.68
- Figura 5** - Prancha fotomicrografada dos principais tipos de pólen das amostras de méis de *meliponas* coletadas em Uruará, Amazonas, período chuvoso (**a. Myrtaceae** e **b. Poaceae**) e seco (**c. Anacardiaceae**; **d. Burceraceae**; **e. Fabaceae**; **f. Lecythidaceae**; **g. Amaranthaceae** e **h. Meliaceae**).69
- Figura 6** - Distribuição geral das famílias presente nas amostras de méis de *meliponas* provenientes de Itacoatiara (SJA), Amazonas.72
- Figura 7** - Prancha fotomicrografada dos principais tipos de pólen das amostras de méis de *meliponas* coletadas em Itacoatiara, Amazonas, período chuvoso (**a. Amaranthaceae**; **b. Myrtaceae**; **c. Verbenaceae**; **d. Malpighiaceae**; **e. Poaceae**) e seco (**f. Bignoniaceae**; **g. Fabaceae** e **h. Lamiaceae**).73
- Figura 8** - *M. seminigra merrillae*, obtidas por micrografia eletrônica de varredura. A: vista ventral. B: vista dorsal. C: vista lateral91
- Figura 9** - *M. Interrupta*, obtidas por micrografia eletrônica de varredura. A: vista ventral. B: vista lateral. C: vista dorsal.92
- Figura 10** - Cromatogramas dos compostos voláteis das oito amostras de méis analisadas por CG-MS com seus respectivos picos de retenção. Os cromatogramas A, B e C, D representam, respectivamente, as amostras de méis de *M. s. merrillae* de Itacoatiara e Uruará nos meses de agosto e setembro. Os cromatogramas E, F e G, H representam as amostras de méis de *M. interrupta* de Itacoatiara e Uruará nos meses de agosto e setembro94
- Figura 11** - Estruturas químicas majoritárias encontradas nas amostras de méis de *M. s. merrillae* e *M. interrupta* analisadas por CG-MS.....96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre cor, P _{fund} (mm) e absorvância (nm).....	34
Tabela 2 - Médias e desvio padrão das características físico-químicas de méis das espécies <i>M. s. merrillae</i> e <i>M. interrupta</i> (Apidae: <i>Meliponini</i>), coletados nos períodos chuvoso e seco, Itacoatiara (SJA) e Urucará, Amazonas	42
Tabela 3 - Concentrações em % (m m ⁻¹) de açúcares realizadas por métodos diferentes em amostras de méis de <i>Meliponas</i> em Itacoatiara (SJA) e Urucará, mesorregião Amazônica.....	47
Tabela 4 - Médias e resultados das análises qualitativas de Lund e Lugol dos méis coletados nos períodos seco e chuvoso, municípios de Itacoatiara (SJA) e Urucará, Amazonas	49
Tabela 5 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período chuvoso, Urucará, Amazonas, Brasil. .	66
Tabela 6 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas período seco, Urucará, Amazonas, Brasil.....	67
Tabela 7 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período de chuva, Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.	70
Tabela 8 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período seco, Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.	71
Tabela 9 - Conteúdo das análises de flavonoide totais e capacidade antioxidante (DPPH) de méis de <i>meliponas</i>	75
Tabela 10 - Constituintes voláteis dos méis produzidos pelas espécies <i>M. s. merrillae</i> e <i>M. interrupta</i> nos meses de coleta do verão amazônico (período seco) dos meliponicultores rurais nos municípios de Itacoatiara (SJA) e Urucará- AM.....	93

ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa: Atividade de água
Am: Amazonas
AR: Açúcares redutores
CG-EM ou GC-MS: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CL₅₀: Concentração letal mediana
CODEX: Codex Standard For Honey
COVs: Compostos orgânicos voláteis
CuSO₄.5H₂O: Sulfato de cobre
DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EC: Eletroforese capilar
EG: Göthe
ERT: Microgramas equivalente a rutina
ETOH: Etanol
g: Gramas
HCl: Ácido clorídrico
HMF: Hidroximetilfurfural
IAL: Instituto Adolfo Lutz
ICET: Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia
INMET: Instituto Nacional de Meteorologia
KNa (C₄H₄O₆). 4H₂O: Tartarato duplo de sódio e potássio
La.: Latitude
Lo.: Longitude
MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mEq.kg⁻¹: Mil equivalentes por quilograma
MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura
mg.Kg⁻¹: Miligramas por quilograma
mm: Miligramas
NaOH: Hidróxido de sódio
pH: Potencial hidrogeniônico
SJA: São João do Aracá
TROLOX: 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico
UFAM: Universidade Federal do Amazonas
UFOPA: Universidade Federal Oeste do Pará
UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina
UV-Vis: Ultravioleta visível
µL: Micro Litro
µS.cm⁻¹: microSiemens por centímetro
%: Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Coleta e identificação das espécies de Meliponas	19
3.2 Amostras	19
4 REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 1 – ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO DE MÉIS DE <i>MELIPONAS</i> (<i>Melipona seminigra merrillae</i> e <i>Melipona interrupta</i> Latreille), PRODUZIDO POR MELIPONICULTORES RURAIS NOS MUNICÍPIOS DE ITACOATIARA (SJA) E URUCARÁ NOS DOIS PERÍODOS SAZONAIS DO AMAZONAS	25
RESUMO	26
1 INTRODUÇÃO	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1 Amostras	30
2.2 Análises físico-químicas	30
2.2.1 Umidade	31
2.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	31
2.2.3 Acidez (livre, lactônica e total)	31
2.2.4 Cinzas	32
2.2.5 Condutividade elétrica	33
2.2.6 Hidroximetilfurfural (5-HMF)	33
2.2.7 Cor	34
2.2.8 Atividade diastásica	35
2.2.9 Açúcares redutores, açúcares redutores totais e sacarose aparente	36
2.2.10 Teores de frutose, glicose e sacarose	39
2.2.11 Reação de Lund	39
2.2.12 Reação de Lugol	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1 Parâmetros físico-químicos do mel	40
4 CONCLUSÃO	50

5 REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 2 – QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANÁLISE MELISSOPALINOLÓGICA.....	57
RESUMO.....	58
1 INTRODUÇÃO	60
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	61
2.1 Coleta e preparo das amostras	61
2.2 Análise melissopalínológica.....	62
2.2.1 Preparo do material	62
2.2.2 Montagem das lâminas.....	63
2.2.3 Fotomicrografia e identificação dos pólenes dos méis.....	63
2.3 Quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante no mel.....	64
2.3.1 Flavonoides totais	64
2.3.2 Capacidade antioxidante no mel.....	64
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
3.1 Análise Melissopalínológica.....	65
3.2 Quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante no mel.....	74
4 CONCLUSÃO.....	77
5 REFERÊNCIAS.....	78
CAPÍTULO 3 - CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE AROMAS DE MÉIS DE ABELHAS SEM FERRÃO (<i>Melipona seminigra merrillae</i> e <i>Melipona interrupta</i> Latreille) DA MESORREGIÃO AMAZÔNICA BRASILEIRA-AM	83
RESUMO.....	84
1 INTRODUÇÃO	86
2 PARTE EXPERIMENTAL.....	88
2.1 Coleta e identificação das espécies de <i>Meliponas</i>	88
2.2 Coleta das amostras de méis	89
2.3 Extração do aroma do mel	89
2.4 Análise química do aroma por CG-MS.....	89
2.5 Imagens de <i>Meliponas</i> por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	90
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
3.1 <i>Meliponas</i> por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	91
3.2 Compostos voláteis dos méis de <i>Meliponas</i>	92
4 CONCLUSÃO.....	98

5 AGRADECIMENTOS	99
6 REFERÊNCIAS.....	99
APÊNDICE A.....	104
APÊNDICE B.....	105
APÊNDICE C	106
ANEXO A	107

1 INTRODUÇÃO

O ecossistema global se aproxima de uma transição crítica, como resultado da influência humana (BARNOSKY et al, 2012), limitando a capacidade da Terra (ROCKSTROM et al, 2009) e ameaçando sua biodiversidade (MACE, 2014). Aliar a geração de renda à conservação da natureza é um dos grandes desafios para o desenvolvimento humano, particularmente nas regiões tropicais (PINTO et al, 2009). Frente a esta situação, tendo a maior parcela da Amazônia em seu território, o Brasil sofre uma pressão internacional para gerar atividades alternativas às predatórias ligadas à destruição de ambientes naturais e a sua biodiversidade (HOMMA, 2013).

De acordo com Drummond (2011), a criação de abelhas se enquadra perfeitamente dentro dos conceitos de diversificação e uso sustentável, pela sua natureza e conservação das espécies, uma das poucas atividades agropecuárias que preenche todos os requisitos do tripé da sustentabilidade: o econômico porque gera renda para os agricultores; o social, porque ocupa mão de obra familiar no campo, diminuindo o êxodo rural; e o ecológico, porque não se desmata para criar abelhas, muito pelo contrário, as abelhas necessitam das plantas vivas para coletar o pólen e o néctar de suas flores, fonte básica de sua alimentação.

A criação de meliponíneos é uma prática bastante antiga, cujo relato de consumo data desde períodos pré-colombianos no continente americano, ao qual são atribuídas propriedades medicinais (BILUCA et al, 2014; CHUTTONG et al, 2016). Inicialmente desenvolvida pelos índios, a meliponicultura brasileira (COLETTI-SILVA, 2005), é uma atividade praticada por pequenos produtores de forma empírica, oferecendo benefícios ecológicos que incluem a preservação da espécie e das plantas nativas pela polinização (SILVA; PAZ, 2012). Essas abelhas compõem um grupo que não possuem glândulas de veneno e seu ferrão é atrofiado daí o nome de “abelhas sem ferrão” (CARVALHO-ZILSE et al, 2011).

No Brasil foram catalogadas, aproximadamente 192 espécies de abelhas sem ferrão (SILVA et al, 2013; BILUCA et al, 2014; SOUSA et al, 2016; CHUTTONG et al, 2016). A Amazônia é o bioma onde se encontra a maior diversidade (CARVALHO-ZILSE, 2013), destacando-se a *Melipona seminigra merrillae* (jandaíra-da-amazônia ou uruçú-boca-de-renda) e *Melipona interrupta* Latreille (jandaíra-preta-da-Amazônia ou jupará), principais espécies manejadas nos estados do Amazonas e Pará (VILLAS-BÔAS, 2012; CARVALHO-ZILSE, 2013).

Em nível de produção familiar, o mel é o principal produto obtido da meliponicultura (DE JONG et al, 2006; CARVALHO et al, 2013), consumido culturalmente como componente energético e medicinal entre as populações tradicionais da Amazônia. O excedente deste mel é comercializado de maneira informal, sem uma cadeia produtiva estabelecida, em todo o território brasileiro (CARVALHO-ZILSE; NUNES-SILVA, 2012; CARVALHO et al, 2013).

O mel produto natural é proveniente das diversas espécies de abelhas formadoras de colônias, a partir de exsudatos contendo carboidratos e proteínas produzidos pelas plantas. Além desses, outros componentes agregam valor nutricional ao mel, como, as vitaminas, minerais, compostos fenólicos, enzimas, aminoácidos livres e numerosas substâncias voláteis e semivoláteis conforme a espécie de abelha e região (SILVA et al, 2016; KARABAGIAS et al, 2014). Exibem também uma ampla gama de efeitos biológicos, agindo como antioxidantes naturais (DA SILVA et al, 2016).

Os compostos fenólicos presentes no mel estão diretamente relacionados aos recursos botânicos como pólen, néctar, resina e óleo fornecidos para as abelhas, apresentando propriedades bioativas distintas dependendo de suas origens florais (GHELDOLF; WANG; ENGESETH, 2002).

Nesse contexto, é imprescindível a determinação da origem botânica, realizada através de análises baseadas na identificação do pólen pelo exame microscópico (melissopalínologia), avaliando o resultado da visita das abelhas às flores (BIANCHI, 2011; CASTRO-VASQUEZ et al, 2014). Segundo esta avaliação, é possível reconhecer a vegetação apícola-melipónica regional, identificando as principais fontes nectaríferas e poliníferas utilizadas pelas abelhas, bem como os principais períodos de produção de néctar e pólen (BARTH, 2005; LUZ et al, 2007).

Outro fator relevante que tem sido investigado é o estudo dos constituintes voláteis que contribui significativamente para o aroma e sabor do mel, (ALISSANDRAKIS et al, 2005). Está intimamente associada à origem botânica, com os habitats de coleta e a fisiologia das abelhas, além do processamento pós-coleta e condições de armazenamento. A análise dos constituintes voláteis do mel é uma das alternativas para sua tipificação, os quais podem ser utilizados como marcadores químicos específicos (CASTRO-VASQUEZ et al, 2014; KARABAGIAS et al, 2014; VERZERA et al, 2014; SEISONEN et al, 2015), fornecendo informações relevantes

para a promoção desse produto, além de agregar valor que é convertido em renda para os meliponicultores (CARVALHO et al, 2006).

Apesar da grande importância e contribuição, são escassos os estudos que visem à identidade e os parâmetros de qualidade do mel das abelhas sem ferrão (KARABAGIAS et al, 2014), principalmente na Região Norte do país.

As legislações vigentes exigem que o mel esteja de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000 no qual estabelecem padrões de identidade e qualidade do mel, como maturidade, pureza e deterioração. Porém, somente o mel produzido pelas abelhas africanas do gênero *Apis* atende a esses parâmetros. A necessidade de estabelecer técnicas analíticas com a finalidade de conhecer a composição química do mel é de grande importância, principalmente em propor parâmetros físico-químicos para cada grupo de méis.

A região Amazônica possui uma grande diversidade biológica e cultural, fortemente dependente de fatores ambientais (NODA, 2007; CASTRO et al, 2011). Em consequência apresenta méis com características distintas (SOUZA et al, 2006). Em razão desta variação, torna-se imprescindível o conhecimento das características dos méis dos meliponíneos, em especial daquelas espécies utilizadas na meliponicultura para produção de mel. Além disso, a ausência de uma legislação específica para os produtos da meliponicultura (CARVALHO et al, 2013), gera uma série de dificuldades para o desenvolvimento da atividade na região.

Assim esse trabalho visa conhecer as práticas desta atividade fornecendo uma ferramenta para a regularização do mel produzido na região, apontando os benefícios reais à geração de renda para agricultura familiar, contribuindo também na manutenção da diversidade vegetal e da flora. Este trabalho é composto por 3 capítulos, organizados da seguinte forma:

Capítulo 1 - Estudo físico-químico de méis de *Meliponas* (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta* Latreille), produzido por meliponicultores rurais nos municípios de Itacoatiara (SJA) e Uruará nos dois períodos sazonais do Amazonas.

Capítulo 2 – Quantificação de flavonoides totais, capacidade antioxidante e análise melissopalinológica.

Capítulo 3 - Constituintes voláteis de aromas de méis de abelhas sem ferrão (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta* Latreille) da mesorregião Amazônica Brasileira-Am.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar as características físico-químicas, químicas e melissopalínológica de méis sazonais de *Meliponas* (*Melipona seminigra merrillae* Cockerell e *Melipona Interrupta* Latreille, 1811), de meliponicultores rurais da Mesorregião do Centro do Amazonas.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar as características físico-químicas das amostras de méis das abelhas *M. s. merrillae* e *M. Interrupta* Latreille coletadas em Itacoatiara (SJA) e Urucará nos dois períodos sazonais;

- Identificar e quantificar os açúcares nos méis por eletroforese capilar;

- Quantificar os flavonoides totais presente nos méis;

- Determinar a capacidade antioxidante de méis pelo método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH);

- Identificar as famílias vegetais presentes nas amostras de méis *in natura* através da análise melissopalínológica;

- Determinar por CG-MS os constituintes voláteis de aromas de méis de duas espécies, *M. s. merrillae* e *M. Interrupta* Latreille, no período de maior produção da Mesorregião do Centro do Amazonas-Am.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e identificação das espécies de *Meliponas*

As espécies coletadas nos meliponários de Itacoatiara (SJA) e Uruará foram acondicionadas em “frascos mortíferos” contendo solventes do tipo éter etílico, acetato de etila e diclorometano. Em seguida, as amostras foram postas em alfinete entomológico inoxidável, etiquetadas e acondicionadas com naftaleno moído em caixas com fundo de poliestireno.

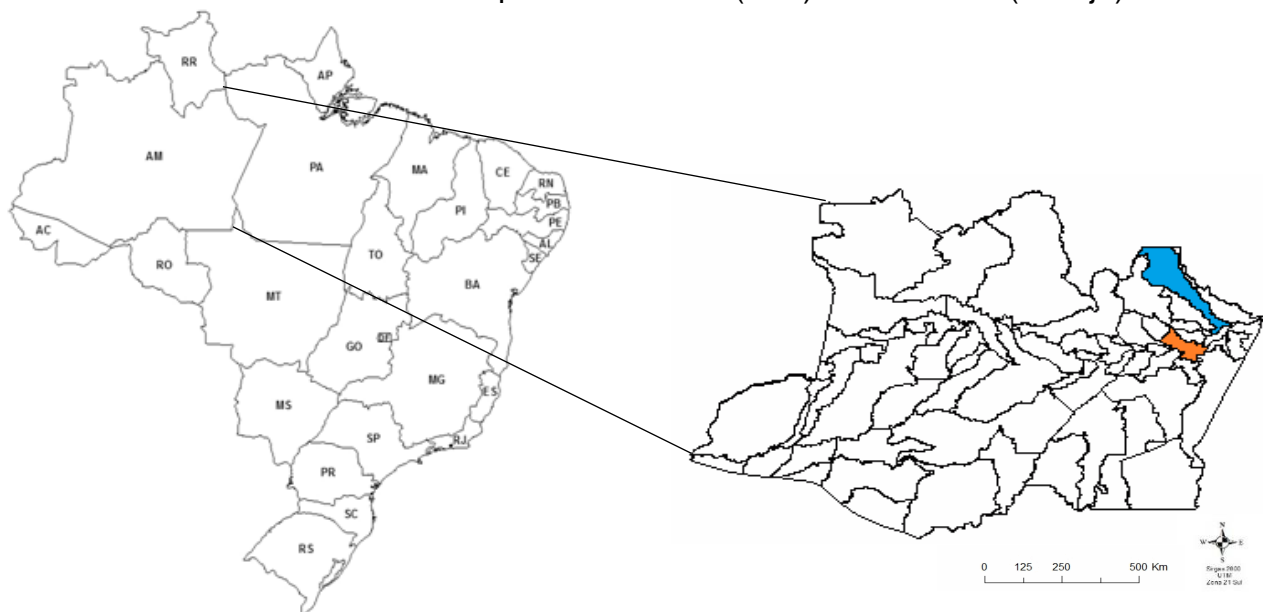
As amostras foram enviadas para o Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos (BIOSIS), Curadoria de Invertebrados Terrestres - Museu de História Natural/Zoologia - MHNBA/MZUFBA, Universidade Federal da Bahia, e identificadas pela Prof^a. Dr^a. Favízia Freitas de Oliveira. As espécies identificadas foram *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 e *Melipona interrupta* Latreille, 1811.

3.2 Amostras

Foram utilizadas 24 amostras naturais de méis de *Meliponas* produzidas pelas espécies jandaíra (*M. s. merrillae*) e jupará (*M. interrupta*) (Apêndice A e B) em meliponários nos municípios de Itacoatiara, mais precisamente em São João do Araçá (La. 03°07'97" S e Lo. 58°17'34" W) e Uruará (La. 02°27'37" S e Lo. 57°43'15" O), região Norte, Brasil (Figura 1). A colheita das amostras em cada meliponário foi realizada durante o período chuvoso (janeiro a março) e no período seco (julho a setembro).

De acordo com Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) o município de Itacoatiara está localizado no centro oeste do estado do Amazonas, apresenta clima tropical, tipo Af (clima tropical chuvoso de floresta) segundo classificação climática de Köppen e Geiger, com temperaturas médias anuais de 26.9 °C e pluviosidade significativa, obtendo médias de 2261 mm. Uruará está situado ao leste da capital Amazonense, clima tropical, Am (clima tropical de monção) na classificação climática de Köppen e Geiger, com temperaturas médias de 27.4 °C e pluviosidade média anual de 2089 mm. Só existe uma curta época seca e não é muito eficaz nessa região.

Figura 1 - Mapa do estado do Amazonas com a localização das amostras de abelhas sem ferrão estudadas. Municípios de Urucará (azul) e Itacoatiara (laranja).



Fonte: adaptado do IBGE (2017).

Ambos os municípios entre os meses de dezembro a maio, apresentam alta precipitação, caracterizando o período de chuvas, conhecido também como o inverno amazônico, sendo março o mês de maior precipitação, ultrapassando os 300 mm. O período de precipitação mais baixa compreende os meses de junho a novembro, o que induz um característico período de seca, conhecido como o verão amazônico. O mês de setembro é o mais seco, apresentando precipitação de 75 mm (Itacoatiara) e 51 mm (Urucará) (FISCH et al, [s.d]).

Os méis coletados foram provenientes de potes operculados de cerumes contido dentro das colônias, por meio de sucção com pipetas estéreis ou seringas descartáveis e individualizadas, com uso de luvas (Figuras 2 e 3). Posteriormente foram armazenadas em tubo falcon de 50 mL previamente esterilizado com tampa de fecho hermético, acondicionadas em uma bolsa térmica com gelo e encaminhadas para os Laboratórios (Alimentos e Química) do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da Universidade Federal do Amazonas, em Itacoatiara, onde procederam as análises físico-químicas, sendo que, a análise do hidrometifurfural e a quantificação de frutose, glicose e sacarose nos méis de *meliponas* pelo método de Eletroforese Capilar foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As análises da quantificação dos flavonoides totais, capacidade antioxidante, melissopalínológica e para os

constituintes voláteis de aroma, as amostras foram encaminhadas para a Unidade de Farmacognosia, Laboratório de Bioprospecção e Laboratório de botânica taxonômica e panilogia da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), respectivamente. Além disso, algumas amostras de pólen e abelhas foram fotografadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (Apêndice C).

Figura 2 - Mel de *M. s. merrillae* coletado em Itacoatiara (SJA) na estação chuvosa



Fonte: Silva (2017).

Figura 3 - Mel de *M. s. merrillae* coletado em Itacoatiara (SJA) na estação seca



Fonte: Silva (2017).

4 REFERÊNCIAS

- ALISSANDRAKIS, E. et al. Flavour compounds of Greek cotton honey. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, n.9, 1444–1452, 2005a.
- BARNOSKY, A. et al. Approaching a state shift in Earth's biosphere. **Nature**, n. 486, p. 52-58, 2012.
- BARTH, M. O. et al. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 229-233, 2005.
- BIANCHI, F. et al. Characterization of the volatile profile of thistle honey using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**. v. 129, p. 1030– 1036, 2011.
- BILUCA, F. C. et al. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.
- CARVALHO, C.A.L. et al. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In: VIT, P.; ROUBIK, D.W. (Ed.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 2013.
- CARVALHO, M.C. et al. Identification of honey yeast species based on RFLP analyses of the ITS region, **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, 1, 11-17, 2006.
- CARVALHO-ZILSE, G. A. et al. **Meliponicultura: perguntas mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão** – I. Cruz das Almas: Nova civilização, 2011.
- CARVALHO-ZILSE, G.A. Produção de polinizadores para a agricultura na Amazônia. In: NODA, H.; SOUZA, L.A.G.; SILVA FILHO, D.F. **Pesquisas agrônômicas para a agricultura sustentável na Amazônia Central**. Núcleo de Estudos Rurais e Urbanos Amazônico/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. (Ed.). Manaus, Amazonas, 2013
- CARVALHO-ZILSE, G.A.; NUNES-SILVA, C.A. Threats to the stingless bees in the Brazilian Amazon: how to deal with scarce biological data and an increasing rate of destruction. In: FLORIO, R.M. (Org). Bees. **Nova Science Publishers**, Inc. p.147-168, 2012.
- CASTRO, A.P. et al. A agricultura familiar: principal fonte de desenvolvimento socioeconômico e cultural das comunidades da área focal do Projeto Piatam. In: FRAXE, T.J.P.; PEREIRA, H.S.; WITKOSKI, A.C. (Ed.). **Comunidades Ribeirinhas Amazônicas: modos de vida e uso dos recursos 21 naturais**. Manaus: Reggo, 2011. Projeto Piatam, Universidade Federal do Amazonas.

CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavender honey (*Lavandula latifolia*). **Food Control**, v. 37, p. 362-370, 2014.

CHUTTONG, B. et al. Physicochemical Profiles of Stingless Bee (Apidae: Meliponini) Honey from South East Asia (Thailand), **Food Chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016.

COLETTTO-SILVA, A. Captura de Enxames de Abelhas Sem Ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem Destruição de Árvores. **Acta Amazônica**, v. 35, p. 383–388, 2005.

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

DE JONG, D. et al. Honey Bee. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M.; DE JONG, D. **Bees as pollinators in Brazil – assessing the status and suggesting best practices. Conservation International**. (Ed.). Ribeirão Preto: Holos, 2006.

DRUMMOND, P. M. **Abelhas sem ferrão**. [S.l: s.n.], 2011. Disponível em: <[HTTP://www.cpafac.embrapa.br](http://www.cpafac.embrapa.br)>. Acesso em: 05 de ago. 2017.

FISCH, G.; MARENGO, J.A.; NOBRE, C.A. [S.l: s.n., s.d.] **Clima da Amazônia. Centro Técnico Aeroespacial e Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos**. Disponível em:<<http://climanalise.cptec.inpe.br/~rclimanl/boletim/cliesp10a/fish.html>>

GHELDOLF N.; WANG, X.; ENGESETH N. J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. **J. Agric. Food Chemistry**. 50, 5870-5877, 2002.

HOMMA, A.K.O. Amazônia pós-Código Florestal e pós-Rio+20, novos desafios. **Revista de Economia e Agronegócio**. 10(2): 205-240, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Mapas. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat2017>>. Acesso em: out. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Gráficos de chuva**. Brasília, 2018. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/mesTempo>>. Acessado em 13/02/2018.

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

LUZ, C.F.P.; THOMÉ, M.L.; BARTH, O.M. Trophic resources for *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) in the Morro Azul do Tinguá region, Rio de Janeiro state. **Revista Brasileira de Botânica**. 30: 29-36, 2007.

MACE, G. M. Approaches to defining a planetary boundary for biodiversit. **Global Environmental Change**, v. 28, p. 289-297, 2014.

NODA, S.N. 2007. In: NODA, S.N. **Agricultura familiar na Amazônia das águas**. Editora da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2007.

PINTO, M.B. et al. Criação de abelhas nativas sem ferrão: gerando desenvolvimento comunitário e conservação da natureza. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO, 2009, Curitiba, **Anais...** Curitiba, 2009

ROCKSTROM, J., et al. A safe operating space for humanity. **Nature**, v. 461, p. 472-475, 2009.

SEISONEN, S.; KIVINA, E. VENE, K. Characterisation of the aroma profiles of honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. **Food Chemistry**, v. 169, p. 34-40, 2015.

SILVA, Mikail Queiroz da. **Coleção de fotografias das Colméias e das abelhas sem ferrão**. Itacoatiara,AM; Uruará, 2017. 8 fotografias.

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

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. M. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, p. 146-152. 2012.

SILVA, I.A.A. et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **J. Therm Anal Calorim**. 114: 535-358, 2013.

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

SOUZA, B. de A. et al. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, p. 867-875, 2006.

VERZERA, A. et al. Chiral volate compounds for the determination of orange honey authenticity. **Food Control**, v. 39, p. 237-243, 2014.

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

CAPÍTULO 1 – ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO DE MÉIS DE *MELIPONAS* (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta* Latreille), PRODUZIDO POR MELIPONICULTORES RURAIS NOS MUNICÍPIOS DE ITACOATIARA (SJA) E URUCARÁ NOS DOIS PERÍODOS SAZONAIS DO AMAZONAS

RESUMO

O mel das abelhas sem ferrão é um produto biológico muito complexo, com características físicas e químicas particulares, cuja composição varia em função da flora visita pelas abelhas e das condições climáticas, mas ainda é carente de legislação específica. Neste trabalho foram analisadas as características físico-químicas (umidade, cinzas, pH, acidez, açúcares redutores, glicose, frutose, sacarose, atividade diastásica, cor, condutividade elétrica, 5-HMF e os testes de Lund e Lugol) de 24 amostras de méis sazonais das espécies *M. s. merrillae* e *M. interrupta* Latreille provenientes de meliponicultores rurais da mesorregião Amazônica. Quanto a esses parâmetros, os méis apresentaram níveis de umidade que variaram de 24,27 a 44,73%, pH 3,68 a 4,16, acidez 30,60 a 81,30 mEq kg⁻¹, cinzas 0,12 a 0,20%, condutividade elétrica 178,28 a 550,92 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, cor âmbar claro ao âmbar escuro, não foi detectada atividade diastásica, assim como ausência do composto 5-HMF, os valores através dos métodos titulométricos e por eletroforese capilar para açúcares redutores variaram de 44,18 a 69,93% e 28,24 a 71,21%, sacarose 0,86 a 5,09% e 0,23 a 0,27%, respectivamente; para frutose 15,62 a 38,54% e glicose 12,62 a 32,67; já para os testes de Lund 0,4 a 2,6 mL e Lugol todas as amostras apresentaram resultados negativos. Os méis de meliponíneos analisados apresentaram diferenças físico-químicas em alguns parâmetros, destacando a umidade, acidez e os açúcares redutores, sofrendo influência dos períodos sazonais de coleta, principalmente no período chuvoso, onde a maioria das amostras não atenderam aos critérios de qualidade estabelecidos pelas legislações vigentes, mais encontram-se dentro dos limites sugerido para os méis de meliponíneos do Brasil. Os resultados obtidos comprovam que as exigências dos critérios de qualidade estabelecidas pela legislação brasileira vigente, para o mel de abelha *A. mellifera*, não atendem à totalidade das características dos méis de abelhas sem ferrão.

Palavras-chave: 1. Meliponicultura; 2. Mel; 3. Caracterização; 4. Controle de qualidade.

ABSTRACT

Honey from stingless bees is a very complex biological product with particular physical and chemical characteristics whose composition varies according to the flora visited by bees and climatic conditions, but it is still lacking in specific legislation. In this work the physicochemical characteristics (moisture, ash, pH, acidity, reducing sugars, glucose, fructose, sucrose, diastase activity, color, electrical conductivity, 5-HMF and the Lund and Lugol tests) of 24 samples of seasonal honeys of *M. s. merrillae* and *M. interrupta* Latreille from the rural meliponicultores of the Amazonian mesoregion. Regarding these parameters, the honeys had moisture levels that ranged from 24.27 to 44.73%, pH 3.68 to 4.16, acidity of 30.60 to 81.30 mEq kg⁻¹, ash 0.12 a 0.20%, electrical conductivity 178.28 to 550.92 μ S.cm⁻¹, light amber to dark amber, no diastase activity was detected, as well as absence of 5-HMF compound, values by titrimetric methods and by capillary electrophoresis for reducing sugars ranged from 44.18 to 69.93% and 28.24 to 71.21%, sucrose 0.86 to 5.09% and 0.23 to 0.27%, respectively; for fructose 15.62 to 38.54% and glucose 12.62 to 32.67; already for the tests of Lund 0.4 to 2.6 mL and Lugol all the samples presented negative results. The meliponine honeys analyzed showed physicochemical differences in some parameters, highlighting the humidity, acidity and reducing sugars, influenced by the seasonal periods of collection, mainly in the rainy season, where most of the samples did not meet the quality criteria established by the laws, but are within the limits suggested for meliponine honey from Brazil. The results obtained prove that the requirements of the quality criteria established by the Brazilian legislation in force for bee honey *Apis mellifera* do not meet all the characteristics of bee honeys without sting.

Palavras-chave: 1. Meliponiculture; 2. Honey; 3. Characterization; 4. Quality control.

1 INTRODUÇÃO

As abelhas têm sido manejadas pelos homens, desde séculos passados, para extração de mel, pólen, própolis, cera, entre outros produtos utilizados para consumo próprio. Nas últimas décadas, esta atividade tornou-se rentável em muitos lugares do mundo (ANACLETO et al, 2009; NOGUEIRA-NETO, 1997; SOUSA et al, 2013). Duas grandes linhas de produção desses produtos são destaques no Brasil: a apicultura e a meliponicultura. A apicultura com a criação racional de *A. mellifera* é amplamente difundida e estudada, com maior produção e comercialização de mel e outros produtos (VIEIRA, 2012). A meliponicultura, por sua vez, é uma atividade de criação de abelhas sem ferrão (*Meliponinae* spp.) de fácil manejo e necessita de pouco investimento para sua produção (SILVA; PAZ, 2012), onde, os estudos e comercialização ainda são recentes em todo o mundo (SOUSA et al, 2013; VILLAS-BÔAS, 2012).

O principal produto apícola é o mel, surgiu a partir da simbiose abelha-planta (MENDES et al, 2009; SILVA et al, 2016). O mel pode ser classificado quanto à sua origem em mel floral ou mel de melato. O mel floral é obtido dos néctares das flores, e ainda pode ser classificado em: mel unifloral ou monofloral ou mel multifloral ou polifloral. O mel de melato é formado principalmente a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (BRASIL, 2000). Pode ser definido, também, como fluido viscoso, aromático e doce (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2008), e consiste principalmente de açúcares (predominando a glicose e frutose), água e outras substâncias tais como proteínas (enzimas), ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, compostos fenólicos, e uma grande variedade de compostos voláteis e partículas sólidas derivadas da colheita do mel (ALQARNI et al, 2012; PONTES; MARQUES; CÂMARA, 2007).

O consumo desse nutriente tem aumentado de forma significativa no mundo todo, em virtude da busca pelo consumo de produtos naturais (BERTOLDI; GONZAGA; REIS, 2004). Este fator tem impulsionado uma melhoria na qualidade do mel produzido, visando à segurança alimentar através de um produto natural, livre de contaminantes e microrganismos (SCHLABITZ; SILVA; SOUZA, 2010).

Contudo a disponibilidade limitada e o alto preço do mel proporcionaram um interesse em sua adulteração. As formas mais comuns de adulteração do mel são a adição de edulcorantes baratos e abelhas alimentadas com sacarose, além de alterações esperadas que normalmente ocorram devido às químicas, incluindo

fermentação, oxidação e processamento térmico, modificando os constituintes do mel (MOREIRA et al, 2010), por exemplo, 5-Hidroximetilfurfural (5-HMF), que é um produto de reação de *Maillard*, pode ser formada quando o mel é submetido a tratamento térmico ou a um longo período de armazenamento (TORNUK et al, 2013), tornando-se volátil e tóxico, dependendo da sua concentração.

Os parâmetros físico-químicos dos méis são considerados úteis para a detecção dessas possíveis adulterações, bem como na confirmação das condições de higiene na manipulação e armazenamento desse produto (PUSCAS et al, 2013). Porém esses parâmetros são determinados por uma série de fatores, que em conjunto estabelecem a qualidade do mel produzido. Dentre estes, podem ser citados, o tipo de solo, as condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha, estado fisiológico da colônia, processamento, armazenamento, fraudes e principalmente da fonte e da origem floral do néctar recolhido pelas abelhas (PONTES; MARQUES; CAMARA, 2007; SILVA; QUEIROZ; FIGUEIREDO, 2004).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio da Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000 estabeleceu padrões de identidade e qualidade do mel, como maturidade (umidade, açúcares redutores, sacarose aparente), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas, pólen) e deterioração (acidez livre, atividade diastásica e 5-hidroximetilfurfural) (BRASIL, 2000). Contudo, outros parâmetros, não incluídos na legislação brasileira, como a condutividade elétrica, pH e sólidos solúveis (°Brix) podem auxiliar na garantia da qualidade.

Apesar da atual legislação (BRASIL, 2000) não especificar parâmetros de identidade e qualidade para méis provenientes de diferentes espécies de abelhas, sabe-se que tal instrução normativa foi baseada em normatizações internacionais (*Codex alimentarius* e Mercosul) as quais são específicas para mel de *Apis mellífera*. Portanto, esses parâmetros não são totalmente adequados aos méis de abelhas sem ferrão, já que estudos têm demonstrado diferenças nas características físico-químicas para este tipo de mel, principalmente quanto à umidade, açúcares redutores, acidez, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e atividade diastásica. Supõem-se, desta forma, que tais parâmetros estabelecidos pela legislação não sejam aplicados no mel de abelhas sem ferrão. Demonstrando, neste sentido, a necessidade de se estabelecer uma legislação específica para o mel de meliponíneos (DARDÓN-ENRIQUEZ, 2008; GUERRINI et al, 2008; CHAVES et al, 2012).

Diante desse impasse, este trabalho objetivou avaliar as características físico-químicas de méis de *Meliponas* (*M. s. merrillae* e *M. interrupta*), principais espécies manejadas na meliponicultura do estado do Amazonas, de acordo com local de origem e a sazonalidade, contribuindo com informações para o estabelecimento de normas para seu controle de qualidade, além de servir como subsídio para impulsionar seu consumo e incentivar cadeia de produção para a meliponicultura na região Amazônica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Foram utilizadas 24 amostras de méis das abelhas (*M. s. merrillae* e *M. interrupta*) obtidas de meliponários dos municípios de Itacoatiara (SJA) e Urucará, estado do Amazonas, Brasil. As amostras foram coletadas em cada meliponário durante o período chuvoso (janeiro a março) e seco (julho a setembro). Os méis foram coletados por meio de sucção com pipetas estéreis ou seringas descartáveis e armazenadas em frascos de polipropileno do tipo falcon, mantidos ao abrigo da luz, sob refrigeração (gelo) e encaminhadas aos Laboratórios (de alimentos e química) do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da UFAM, Itacoatiara, sendo que, a análise do hidroximetifurfural e a quantificação de frutose, glicose e sacarose pelo método de eletroforese capilar foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

2.2 Análises físico-químicas

Todas as amostras foram preparadas em triplicatas e adotaram-se os procedimentos estabelecidos conforme recomendações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), e as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) que seguem o Codex Alimentarius Commission (1990; 2001), e a Association of Official Analytical Chemists (1998). Além das normas proposta para mel de meliponíneos do Brasil sugerida por Villas-Bôas e Malaspina (2005) e Carvalho e colaboradores (2013) somente para o gênero *Melipona*.

2.2.1 Umidade

Utilizou-se a metodologia descrita segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), que consistiu na transferência de 3 gotas de mel das amostras para o prisma do refratômetro de Abbé e realizou-se a leitura do índice de refração em média a 25 °C. Após foi realizada uma correção da leitura do índice de refração em relação à temperatura padrão de 20 °C, de acordo com a nota de rodapé da Tabela Chataway (Anexo A), e calculou-se a umidade do mel (%).

2.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

Para a determinação do pH por potenciometria, pesou-se 10 g das amostras de mel em um béquer de 250 mL e foi diluído em 75 mL de água destilada. Para a tomada do pH, utilizou-se o aparelho pHmetro digital (modelo PHS-3BW BANTE INSTRUMENT), previamente calibrado com as soluções tampão pH 4,0 e 7,0. Em seguida mergulhou-se o eletrodo na solução e foram obtidos os registros do pH e a temperatura (IAL, 2008).

2.2.3 Acidez (livre, lactônica e total)

Para essa medida utilizou-se as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), sendo que a acidez (livre, lactônica e total) foi obtida pelo método titulométrico.

Esse procedimento partiu-se do sistema montado para a determinação de pH (pesou-se 10 g da amostra de mel em um béquer de 250 mL sendo dissolvido em 75 mL de água). Colocou-se um agitador magnético e mergulhou-se o eletrodo na solução, sendo registrado o pH. Com auxílio de uma bureta de 25 mL titulou-se gota a gota a solução de hidróxido de sódio 0,05 N até pH 8,5 e anotou-se o volume (V) gasto. Nesta mesma solução, imediatamente adicionou-se 10 mL de NaOH 0,05 N e, sem demora, titulou-se com solução de ácido clorídrico 0,05 N até o pH 8,30 (V_a). Em seguida utilizando um béquer de 150 mL adicionou-se 75 mL de água destilada e titulou-se com hidróxido de sódio 0,05 N (V_b) até pH 8,5. Os resultados da acidez livre, lactônica e total, foram obtidos a partir dos seguintes cálculos:

Acidez livre

$$\frac{(V - V_b) \times 50 \times f}{P} = \text{acidez livre, em milequivalente por kg (mEq Kg}^{-1}\text{)}$$

V = nº de mL de solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação

V_b = nº de mL de solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação para o branco

f = fator da solução de NaOH 0,05 N

P = massa da amostra em gramas (g)

Acidez lactônica

$$\frac{(10 - V_a) \times 50 \times f'}{P} = \text{acidez lactônica, em milequivalente por kg (mEq Kg}^{-1}\text{)}$$

V = nº de mL de solução de HCl 0,05 N gasto na titulação

f' = fator da solução de HCl 0,05 N

P = massa da amostra em gramas (g)

A acidez total em milequivalentes por quilograma (mEq Kg⁻¹) foi calculada através da soma da acidez livre com a lactônica.

2.2.4 Cinzas

O conteúdo de cinzas foi determinado por meio de incineração em mufla a 550°C (IAL, 2008).

Em cápsulas de porcelana previamente calcinadas e taradas pesou-se 5 g de mel. Foram adicionados cerca de 5 a 10 gotas de ácido sulfúrico a 10% v v⁻¹ em cada cápsula e aqueceram-se as amostras em chapa elétrica até as mesmas ficarem carbonizadas para eliminar os gases e dessa maneira evitar que incendiassem no interior do forno da mufla. Em seguida submeteram-se as amostras à incineração por mufla a 550 °C por 5 horas. Quando as amostras tornaram-se brancas, foram retiradas do forno mufla e colocadas para resfriamento em dessecador.

Após as cápsulas foram pesadas (peso constante) e o teor de cinzas foi quantificado através da equação abaixo:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{cinzas \% m m}^{-1}, \text{ onde}$$

N (massa em gramas de cinzas) = massa do cadinho com resíduo menos massa do cadinho seco.

P = massa em gramas da amostra

2.2.5 Condutividade elétrica

Foi determinada em uma solução de 20 % de mel a 20 °C, utilizando o Condutímetro (HANNA INSTRUMENTS, modelo HI 8820N). A análise foi realizada de acordo com o método International Honey Commission (IHC, 2002). Calibrou-se o equipamento e pesou-se 10 g de mel em um béquer de 100 mL, adicionou-se 50 mL de água destilada e agitou-se para ocorrer à homogeneização. Logo após, colocou-se a solução de mel na célula do condutímetro, mantida a 20 °C, em repouso durante alguns minutos até o aparelho estabilizar-se. Em seguida foi feita a leitura e registrado os valores expressos em microSiemens por centímetro ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

2.2.6 Hidroximetilfurfural (5-HMF)

Para a análise de 5-HMF, as amostras foram preparadas seguindo o método proposto por Rizelio et al, (2012a) com algumas modificações, nas quais as amostras de mel *in natura* termicamente tratadas foram pesadas (0,5 g) e dissolvidas em 0,5 g de água deionizada. Foi adicionada cafeína (padrão interno, I.S.) e o volume registrado até obter uma concentração final de 200 mg L⁻¹. As soluções foram filtradas através de filtros de membrana de 0,45 μm (Millipore, Bedford, MA, EUA) e diretamente injetadas em equipamentos EC para análise.

Os ensaios EC foram realizados em um sistema de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com um detector de matriz de diodos e um dispositivo de controle de temperatura mantido a 25 °C. O software de aquisição e tratamento de dados foi fornecido pelo fabricante (HP ChemStation®). No início de cada dia, o capilar foi condicionado por lavagem com NaOH 1 mol L⁻¹ (10 min) seguido de 10 minutos de descarga com água deionizada e solução de BGE (15 min). Entre as corridas, o capilar foi recondicionado com a solução de fundo

(2 min de descarga). No final de cada dia útil, o capilar foi enxaguado com 1 mol L⁻¹ de NaOH (5 min) e água (10 min) e depois seco com ar (2 min). Nas análises, foram introduzidas soluções padrão e amostras na extremidade do capilar mais próximo do detector e injetadas hidrodinamicamente a 50 mbar por 3 s (1 mbar = 100 Pa) com pressão negativa (RIZELIO et al, 2012a).

A determinação de 5-HMF das amostras de mel foi realizada em um capilar de sílica fundida e revestida de poliimida (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, EUA), de 32,0 cm de comprimento total (8,5 cm de comprimento efetivo × 50 µm de diâmetro interno × 375 µm diâmetro externo). A voltagem aplicada à separação foi de 30 kV com polaridade positiva na extremidade da injeção, e a aquisição dos dados no comprimento de onda de 284 nm (RIZELIO et al, 2012a).

2.2.7 Cor

A classificação de cor dos méis consistiu na medida da absorvância de uma solução aquosa 50% (m v⁻¹) em espectrofotômetro a 560 nm. Após a diluição, a solução foi deixada em repouso utilizando-se cubetas de vidro, usando-se como branco, a água ultrapura. Em seguida determinou-se a absorvância em espectrofotômetro UV-Vis (modelo LGS 53 BEL Photonics). Os dados obtidos no espectrofotômetro (em nm) foram transformados em cor usando a escala de cores de Pfund (BRASIL, 2000) (Tabela 1).

Tabela 1 - Comparação entre cor, Pfund (mm) e absorvância (nm)

Cor do Mel	Pfund (mm)	Absorvância (nm)
Branco d'água	1 – 8	Até 0,030
Extra branco	8 – 17	0,030 – 0,060
Branco	17 – 34	0,060 – 0,120
Extra âmbar claro	34 – 50	0,120 – 0,188
Âmbar claro	50 – 85	0,188 – 0,440
Âmbar	85 – 114	0,440 – 0,945
Âmbar escuro	> 114	> 0,945

Fonte: Classificação da cor do mel pela Escala de Pfund, elaborada pela Companhia Manufatora Koehler nos E.U.A.

2.2.8 Atividade diastásica

A atividade da enzima foi determinada usando uma solução tamponada de mel e uma solução de amido, que foram incubadas em banho termostático e o ponto final determinou-se por medidas de absorvância a 660 nm. Este método fundamenta-se na hidrólise do amido pela enzima presente no mel. Esse procedimento foi realizado de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

As soluções usadas para se executar o método são:

- a) *Solução de amido*: Em um frasco Erlenmeyer de 250 mL foram dissolvidos 2 g de amido solúvel anidro em 90 mL de água. Rapidamente, foi levado à ebulição utilizando uma placa aquecedora, agitando a solução tanto quanto possível. Reduziu-se o aquecimento e manteve em ebulição moderada por 3 minutos, cobriu-se, e deixou-se resfriar até a temperatura ambiente. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água).
- b) *Solução-estoque de iodo*: Foram dissolvidos 4,4 g de iodo ressublimado em 20 mL de água contendo 11 g de iodeto de potássio e diluído em um balão volumétrico de 500 mL com água).
- c) *Solução de iodo a 0,00035 M*: Foram dissolvidos 20 g de iodeto de potássio e 5 mL da solução-estoque de iodo em água e diluído em um balão volumétrico de 500 mL, sendo preparada uma nova solução a cada dois dias).
- d) *Solução-tampão de acetato pH 5,3*: Foram dissolvidos 87 g de acetato de sódio em 400 mL de água, dentro da capela de exaustão pipetou-se cerca de 10,5 mL de ácido acético e transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água. Em seguida, usando o aparelho pHmetro digital, ajustou-se o pH da solução para 5,3 com ácido acético.
- e) *Solução de cloreto de sódio 0,5 M*: Foram dissolvidos 14,5 g de cloreto de sódio em água, transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água).

Após, foi realizada a padronização da solução de amido, pipetando 5 mL da solução de amido em um béquer contendo 10 mL de água. Pipetou-se 1 mL desta solução para várias provetas de 50 mL, contendo 10 mL da solução de iodo 0,00035 M. Em seguida misturou-se bem e determinou-se o volume de água

necessário para a diluição da solução de amido, para se obter uma leitura de absorbância de $0,760 \pm 0,02$, a 660 nm, utilizando como branco a água. Repetiu-se a padronização a cada nova preparação da solução de amido.

Ligado e ajustado o espectrofotômetro UV-Vis (modelo LGS 53 BEL Photonics), para leituras da absorbância a 660 nm, foi pesado cerca de 10 g da amostra de mel em um béquer de 50 mL e dissolvido em 15 mL de água. Em seguida adicionou-se 5 mL da solução-tampão e transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL, contendo 3 mL da solução de cloreto de sódio 0,5 M e completou-se com água. Foi colocada a solução de mel em um tubo de ensaio e a solução de amido em outro tubo, levando-os ao banho-maria a 40°C. Após 15 minutos, pipetou-se a solução de amido e foi depositado no tubo com a solução de mel. Cronometrou-se e em intervalos de 5 min (dependendo da atividade da amostra) pipetou-se alíquotas de 1 mL da solução de mel com amido para uma proveta de 50 mL, adicionando rapidamente 10 mL da solução de iodo diluída 0,00035 M e a quantidade de água destilada conforme descrito na padronização do amido.

Por último, a absorbância da solução foi medida imediatamente a 660 nm, sendo utilizada água destilada como branco. O procedimento foi repetido tomando alíquotas de 1 mL da solução em intervalos de 5 minutos, até obter um valor de absorbância menor que 0,235.

O resultado é calculado e expresso em unidades de Gothe por grama de mel.

$$\frac{300}{t_x} = \text{atividade diastásica}$$

t_x = o tempo da reação em minutos

2.2.9 Açúcares redutores, açúcares redutores totais e sacarose aparente

Para a determinação dos açúcares redutores, açúcares redutores totais e sacarose aparente do mel seguiram-se o método modificado de Lane & Eynon (1934), conforme recomendações do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000) e do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Antes do procedimento das análises foram preparados os reagentes:

- a) *Solução de azul de metileno a 0,2% m v⁻¹*: Foram dissolvidos 2 g de azul de metileno em 1000 mL de água.

- b) *Solução de hidróxido de sódio 1 M*: Pesou-se 20 g de hidróxido de sódio e diluído em 500 mL de água destilada e fez-se a padronização).
- c) *Solução-padrão de açúcar invertido - 10 g L⁻¹*: Pesou-se 9,5 g de sacarose e transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL. Utilizando uma capela de exaustão pipetou-se 5 mL de HCl e dilui-se em 100 mL de água. Manteve esta solução acidificada por aproximadamente 3 dias a uma temperatura de 20 a 25 °C. Completou-se o volume com água, onde a solução ácida de açúcar invertido a 1% permaneceu estável por vários meses. Logo após, pipetou-se 50 mL da solução ácida para um béquer de 200 mL e registrou-se o pH. Imediatamente antes de usar e diluir, foi neutralizado com solução de hidróxido de sódio 1 M e transferido para um balão volumétrico de 250 mL completando o volume com água, obtendo a concentração de 2 g L⁻¹.
- d) *Soluções de Fehling modificadas por Soxhlet*: solução A, foram dissolvidos 69,28 g de sulfato de cobre (CuSO₄.5H₂O) com água em um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume, para a solução B foram dissolvidos 346 g de tartarato duplo de sódio e potássio (KNa(C₄H₄O₆).4H₂O) e 100 g de hidróxido de sódio em um balão volumétrico de 1000 mL. Completou-se o volume e filtrou-se utilizando o papel de filtro qualitativo.

Para a determinação dos açúcares redutores, pesou-se cerca de 2 g da amostra homogeneizada de mel em um béquer de 25 mL, diluiu-se com água e transferiu-se para um balão volumétrico de 200 mL completando o volume com água. Após pipetou-se 50 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume. Em seguida pipetou-se 5 mL da solução A e B, e 7 mL de água em um balão de fundo chato de 250 mL. Utilizando-se uma bureta de 25 mL presa a um suporte de ferro com garras metálicas, colocou-se a solução de mel diluída e adicionou-se 15 mL no balão de fundo chato. Colocou-se a solução em chapa aquecedora e foi mantida em ebulição moderada por 2 minutos. Adicionou-se 1 mL de solução de azul de metileno enquanto ainda em ebulição e completou-se a titulação, dentro de um tempo total de ebulição de 3 minutos, adicionando-se gota a gota a solução diluída de mel até a descoloração do indicador. Logo após registrou-se o volume gasto da solução de mel (V mL) e realizaram-se os cálculos dos valores de açúcares redutores (AR) utilizando a fórmula:

$$\frac{2 \times 1000}{P \times V} = \text{açúcares redutores, em açúcar invertido, g } 100\text{g}^{-1}$$

P = massa de amostra em g

V = n.º de mL da solução diluída da amostra gasto na titulação

Para determinação da sacarose aparente foram utilizados alguns reagentes da quantificação dos açúcares redutores e outros foram preparados como:

- a) *Solução de ácido clorídrico 5 M*: Pipetou-se 207,12 mL de ácido clorídrico e diluiu-se em um balão volumétrico de 500 mL.
- b) *E solução de hidróxido de sódio 5 M*: Foram pesadas 50 g de hidróxido de sódio e diluído em 250 mL de água destilada e fez-se a padronização.

Pipetou-se 50 mL da solução de mel obtida na determinação de açúcares redutores (solução de 2,0 g de mel em 200 mL de solução) para um béquer de 100 mL. Adicionou-se 25 mL de água e aqueceu-se, em banho-maria, a solução resultante a 65 °C. Após, adicionou-se 10 mL de solução de ácido clorídrico 5 M e resfriou-se a solução até a temperatura ambiente. Posteriormente, neutralizou-se a solução com solução de hidróxido de sódio 5 M. Transferiu-se a solução resultante para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se com água. Pipetou-se 5 mL da solução de Fehling A e B para um balão de fundo chato de 250 mL e adicionou-se 7 mL de água. Na bureta de 50 mL, colocou-se a solução de mel diluída e adicionou-se, de uma vez, 10 mL no balão de fundo chato. A solução foi aquecida e mantida em ebulição moderada por 2 minutos. Por último foi adicionado 1 mL de solução de azul de metileno 0,2% (m v⁻¹) enquanto ainda em ebulição e completou-se a titulação, adicionando-se gota a gota a solução diluída de mel até a descoloração do indicador. Anotou-se o volume gasto da solução de mel (V mL) e realizou-se os cálculos do valor de sacarose aparente (SA) utilizando-se a fórmula:

$$\left[\frac{(2 \times 1000)}{P \times V_1} - C \right] \times 0,95 = \text{sacarose aparente, em g } 100\text{g}^{-1}$$

P = massa de amostra em g (gramas)

V₁ = n.º de mL da solução diluída da amostra gasto na titulação

C = n.º de grama de açúcar invertido por cento, obtido antes da inversão, açúcares redutores.

A quantificação dos açúcares redutores totais, em $\text{g } 100\text{g}^{-1}$, foi obtida através da soma dos valores dos açúcares redutores com a sacarose aparente.

2.2.10 Teores de frutose, glicose e sacarose

Para as análises de açúcares (frutose, glicose e sacarose) as amostras de mel foram preparadas de acordo com Rizelio et al, (2012b), onde massas de cerca de 2,5 g das amostras foram dissolvidas em água deionizada em um balão volumétrico de 50 mL, o volume foi devidamente aferido, e a solução de amostra de mel foram diluídas na proporção 1:10 (v v^{-1}) em água deionizada. Após as soluções foram filtradas através de filtros de membrana de $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore, Bedford, MA, E.U.A) e injetadas diretamente no equipamento para a análise de EC.

Os ensaios EC partiram-se do mesmo procedimento adotado para análise de 5-HMF. As análises dos açúcares foram realizadas em um capilar de sílica fundida de 60,0 cm de comprimento total (8,5 cm de comprimento efetivo \times $50 \mu\text{m}$ de diâmetro interno \times $375 \mu\text{m}$ diâmetro externo). A voltagem aplicada para a separação foi de 25 kV com polaridade negativa na extremidade da injeção e o detector ajustado para o comprimento de onda de 254 nm (detecção indireta com uma referência a 360 nm para o pico de inversão) (RIZELIO et al, 2012b), os resultados de concentração de açúcares foram expressos em % (m m^{-1}).

Uma vez que o método de Rizelio et al, (2012a, b) foram validados para amostras de mel de *Apis mellifera*, seus parâmetros de linearidade, efeitos de matriz, precisão e exatidão foram investigadas para o mel de abelhas sem ferrão. A adequação do método ao seu propósito foi feita a partir dos resultados obtidos para as características de desempenho estabelecidas por protocolos de validação (BRASIL, 2011; COMUNIDADE EUROPEIA, 2002; EURACHEM, 1998; THOMPSON, ELLISON & WOOD, 2002).

2.2.11 Reação de Lund

O teste foi realizado pesando, com precisão, 2 g da amostra diluída em 20 mL de água, sendo transferida para uma proveta de 50 mL com tampa. Após, adicionou-se 5 mL de solução de ácido tânico 0,5 % (0,5 g de ácido tânico em 100 mL de água) e completou-se o volume com água até 40 mL. Agitou-se para homogeneizar a

solução e deixou-se em repouso por 24 horas. Após esse período, observou-se a formação ou não de precipitado na proveta no intervalo de 0,6 a 3,0 mL (IAL, 2008).

2.2.12 Reação de Lugol

O teste consistiu em pesar cerca de 10 g de amostra diluído com 20 mL de água em um béquer de 50 mL. Em banho-maria fervente foi aquecido por uma hora e, posteriormente, resfriou-se a temperatura ambiente. Após, adicionou-se 0,5 mL da solução de Lugol (foi dissolvido 1 g de iodo ressublimado em 10 mL de água contendo 3 g de iodeto de potássio e diluído para 50 mL com água e armazenado a solução em frasco âmbar) e observou-se o desenvolvimento da cor. Os resultados foram expressos de acordo com a intensidade de cor das amostras (IAL, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Parâmetros físico-químicos do mel

Os resultados obtidos para as análises físico-químicas das 24 amostras de mel de abelhas sem ferrão, *M. s. merrillae* e *M. interrupta*, dos municípios de Itacoatiara (SJA) e Uruará nos dois períodos sazonais são apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4. Os resultados são apresentados com a média \pm desvio padrão.

Os valores de umidade encontrado nas amostras analisadas variaram entre 26,47 a 44,73% (*M. s. merrillae*) e 24,57 a 35,23% (*M. interrupta*) (Tabela 2). Embora figure acima do permitido pela legislação (20%), satisfaz uma característica básica dos méis de abelhas sem ferrão, que é a elevada higroscopicidade. Alves et al (2005) sustentam que o excesso de água encontrado é devido à baixa taxa de desidratação do néctar durante o processo de transformação em mel. Por outro lado, méis com elevados teores de umidade estão mais propensos à fermentação por ação das leveduras osmofílicas devido a elevada atividade de água (Aa). O que poderá causar, conseqüentemente, alterações sensoriais e físico-químicas no mel (GUERRINI et al, 2009).

Os altos teores de umidade encontrados em mel de abelhas sem ferrão perfazem uma característica intrínseca a esse produto, e geralmente oscilam entre 25 e 35%,

podendo ultrapassar esses limites (CARVALHO et al, 2005; VILLAS-BÔAS, 2012). Assim podemos afirmar que há uma correlação entre a umidade e a sazonalidade, pois quanto mais intensos os níveis de chuva, maiores os valores de umidade em méis de *M. seminigra*, independente do local de coleta (VILLAS-BÔAS, 2012), como constatado nesse trabalho. Souza et al (2004) registram média de 27% de umidade em méis da mesma espécie coletados em Itacoatiara, Amazonas, no período chuvoso (entre novembro e dezembro).

Os valores encontrados nesse trabalho estão compatíveis aos sugeridos por Almeida-Muradian et al (2007), de 30,4% para méis de *M. seminigra* e 26,7% para *M. interrupta*, em período seco no Amazonas. Chaves et al (2012) e Villas-Bôas e Malaspina (2004), obtiveram média de 24,6% em méis de *M. compressipes manaosensis*, próximos aos valores de 23,4% obtidos por Vit et al (2006), no Amazonas. Holanda et al (2012) analisando mel de *M. fasciculata* do estado do Maranhão encontraram valores aproximados de umidade entre 21,5 a 27,5%. Em Santa Catarina, Serigheli et al (2014) observaram umidade de 22%, 33% e 30,5% para méis de *M. marginata*, e de 22%, 30,2% e 31,6% para méis de *M. bicolor*.

De Sousa e colaboradores (2016) e Silva e colaboradores (2013) ao analisarem méis brasileiros de uruçú (*M. scutellaris*) e jandaíra (*M. subnitida*) encontraram valores entre 23,9 e 28,9% e 22,2 e 24,4% (m m^{-1}), respectivamente. Assim como Veras (2012) e Nascimento (2014) apresentaram respectivamente, médias de 28,8% para mel de *M. scutellaris* na Bahia e 27,8% em mel de *M. seminigra* no litoral do Paraná. Os pesquisadores ainda relatam que, mesmo em climas secos e com todos os cuidados necessários em relação ao manejo, o mel de abelhas sem ferrão permanece com umidade elevada, apresentando-se diferente do mel de *A. mellifera* (ALVES et al, 2005; VILLAS-BÔAS, 2012).

Dessa forma, todas as amostras apresentaram valores superiores aos preconizados pela legislação brasileira (20%) que visa para o mel de abelha *A. mellifera*. Porém, 83% das amostras encontram-se dentro do limite máximo (35%) sugerido para os méis de meliponíneos do Brasil (VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005), e 58% são compatíveis aos valores sugeridos para *Melipona* (CARVALHO et al, 2013).

Tabela 2 - Médias e desvio padrão das características físico-químicas de méis das espécies *M. s. merrillae* e *M. interrupta* (Apidae: *Meliponini*), coletados nos períodos chuvoso e seco, Itacoatiara (SJA) e Urucará, Amazonas

Municípios	Período sazonal	Espécies	Características físico-químicas*					Cor
			Umi	pH	Aci	Cin	Cond	
Itacoatiara (SJA)	Chuvoso	<i>M. s.</i>	30,40 ± 1,25	3,77 ± 0,046	64,50 ± 11,90	0,15 ± 0,03	471,00 ± 33,87	Âmbar
	Seco	<i>merrillae</i>	26,47 ± 1,50	3,88 ± 0,037	43,00 ± 12,60	0,20 ± 0,06	207,00 ± 59,64	Âmbar e âmbar escuro
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	35,23 ± 3,82	3,76 ± 0,020	74,60 ± 25,80	0,17 ± 0,03	496,83 ± 30,60	Âmbar e âmbar claro
	Seco		25,47 ± 1,70	3,95 ± 0,015	40,90 ± 16,30	0,12 ± 0,02	208,80 ± 22,11	Âmbar, âmbar claro e escuro
Urucará	Chuvoso	<i>M. s.</i>	44,73 ± 21,62	3,68 ± 0,031	81,30 ± 48,10	0,13 ± 0,11	550,92 ± 231,6	Âmbar
	Seco	<i>merrillae</i>	28,47 ± 3,00	4,16 ± 0,020	31,80 ± 13,0	0,18 ± 0,08	274,05 ± 105,0	Âmbar, âmbar claro e escuro
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	25,27 ± 0,76	3,87 ± 0,078	59,80 ± 6,15	0,12 ± 0,02	295,33 ± 22,32	Âmbar claro
	Seco		24,57 ± 2,46	4,01 ± 0,025	30,60 ± 14,80	0,15 ± 0,04	178,28 ± 69,12	Âmbar, âmbar claro e escuro
Valores de referência								
Brasil (2000)			máx 20,0	-	máx 50,0	máx 0,60	-	incolor a pardo-escuro
Codex (2001)			máx 20,0	-	máx 50,0	-	máx 800	incolor castanho-escuro
Villas-Bôas e Malaspina (2005)			máx 35,0	-	máx 85,0	máx 0,60	-	-
Carvalho et al., (2013)			máx 30,0	-	máx 50,0	máx 0,60	-	-

* Valores expressos como média (n = 3) ± desvio padrão de análise (exceção a análise de cor). Valores médios. Umi: Umidade (%); pH: Potencial hidrogeniônico; Aci: Acidez livre (meq kg⁻¹); Cin: cinzas (%) e Cond: Condutividade elétrica (µS cm⁻¹).
Fonte: Silva (2017).

Todas as amostras analisadas apresentaram caráter ácido, típico do mel, com valores de pH variando entre 3,68 a 4,16. Enquanto a acidez livre determinada, obtiveram valores entre 30,60 e 81,30 mEq kg⁻¹ (Tabela 2). De uma forma geral todas amostras apresentaram similaridades entre os valores médios de pH. Já em relação aos valores de acidez apontaram uma grande variação, apresentando médias mais altas no período chuvoso e mais baixas no período seco, independente da localidade. Também foi possível observar que as amostras de mesma espécie de abelha, mas de origens e floradas distintas, não apresentaram diferença significativa, sugerindo uma expressiva influência da espécie de abelha neste parâmetro. Esta diferença de acidez do mel deve-se provavelmente à possível variação dos tipos de ácidos orgânicos

presentes nas diferentes fontes de néctar, pela ação das enzimas mandibulares das abelhas, como a enzima glicose-oxidase que origina o ácido glucônico (OLIVEIRA-SANTOS, 2011).

Na literatura grandes variações são comumente registradas. Souza et al (2006) relatam valores de pH variando entre 3,15 e 4,66, e de acidez entre 5,9 e 109,0 mEq kg⁻¹ em méis de diversas espécies de meliponíneos. Em méis da região amazônica, analisados por Almeida-Muradian et al (2007) esses valores ficaram entre 3,41 e 4,06, e 20,6 e 25,3 mEq kg⁻¹. Também em méis de meliponíneos no Paraná e em Santa Catarina, respectivamente, apresentaram variações de acidez de 33,96 e 180,82 mEq kg⁻¹ e entre 26,30 e 103,20 mEq kg⁻¹ (BORSATO, 2013; SERIGHELI et al, 2014). Para méis de *M. interrupta*, Oliveira et al (2006) encontraram valores médios de 3,3 para pH e de 91,1 mEq kg⁻¹ para acidez. Deve-se ressaltar que estudos como o de Silva e colaboradores (2013), Fuenmayor e colaboradores (2013) e Dardón e colaboradores (2013) que também avaliaram amostras de mel de abelhas sem ferrão, encontraram acidez máxima de 59,66, 57,83 e 85,53 mEq kg⁻¹, respectivamente, o que sugere ser esta uma característica própria deste tipo de mel.

A legislação brasileira não apresenta valores de referência para pH, apenas para a acidez. Considerando o definido pela legislação brasileira e internacional para o mel de *A. mellífera* (BRASIL, 2000; CODEX, 2001) como valor máximo de acidez livre igual ou menor que 50 mEq kg⁻¹, aproximadamente 83%, das amostras, verão amazônico, em localidades distintas, obtiveram valores de acidez dentro dos limites estabelecidos para méis de abelhas do gênero *Apis*, enquanto que apenas 17% das amostras do período de inverno, e 34% delas não se enquadram na proposta para o limite de acidez de méis de abelhas sem ferrão no Brasil de 85 mEq kg⁻¹ (VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005).

De acordo com a literatura, os níveis de cinzas em méis de abelhas sem ferrão variam de 0,01 a 1,18% para as diferentes espécies de meliponídeos (ALMEIDA-ANACLETO et al, 2009; SOUZA et al, 2006), tendo influência do local de origem e do período de coleta dos méis, sendo também afetadas pela sazonalidade (CARVALHO et al, 2005). De uma forma geral os valores de cinzas encontrado variaram entre 0,12 a 0,20% (Tabela 2).

Valores próximos aos registrados nesse trabalho são apresentados em outras pesquisas: 0,33% para *N. perilampoides*, 0,29% para *M. quadrifasciata*, 0,21% para *M. seminigra* (DARDÓN-ENRIQUEZ, 2008; BORSATO, 2013; NASCIMENTO, 2014).

Valores inferiores são também comumente encontrados, como os de 0,09% para mel de *G. acapulcornis*, 0,02% e 0,07% para *M. subnitida* (DARDÓN-ENRIQUEZ, 2008; STRAMM, 2011; SILVA et al, 2012).

A norma brasileira vigente para mel de *Apis* determina o valor máximo de 0,6%, o mesmo sugerido para méis de meliponíneos brasileiros (VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005). Assim, os valores médios de todas as amostras do presente trabalho encontram-se dentro destes padrões.

A análise da condutividade elétrica não é exigida pela legislação brasileira, enquanto que a legislação internacional para méis de *A. mellífera* determina máximo de 800,0 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (CODEX, 2001). Os valores de condutividade elétrica encontrados nas amostras de mel de abelhas sem ferrão em sazonalidades e origens diferentes variaram de 207,00 a 550,92 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (*M. s. merrillae*) e 178,28 a 496,83 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (*M. interrupta*) (Tabela 2).

Desta forma, todos os méis analisados estão de acordo com o que preconiza a legislação internacional. Porém, considerando as espécies e as localidades, os valores de condutividade tiveram médias bem mais altas no período chuvoso e mais baixo no período seco, e os meses de fevereiro e março, Uruará, obtiveram os maiores valores, 760,0 e 590 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para espécies *M. s. merrillae*. Observando que há uma correlação entre a umidade, a sazonalidade e a condutividade elétrica, pois quanto mais intensos os níveis de chuva, maiores foram os valores de condutividade encontrados em méis de *M. s. merrillae*, independente do local de origem.

Alguns trabalhos realizados registram variações próximas aos valores encontrado, Carvalho et al (2006b) com méis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão registrando a variação de 384,8 a 954,9 $\mu\text{S cm}^{-1}$; Cavalcante et al (2006), trabalhando com méis de *M. scutellaris* obtiveram valor médio de 264,2 $\mu\text{S cm}^{-1}$; e o de Oliveira et al (2006), que apontaram para condutividade elétrica valor médio de 294 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para méis de *M. mandacaia*. No entanto, alguns autores têm observado valores de condutividade elétrica, para méis de abelhas sem ferrão, de diversas regiões, acima do máximo estipulado por tal regulamentação, com variações entre 0,30 a 2,8 mS cm^{-1} (FUENMAYOR et al, 2013; CHUTTONG et al, 2016; DE SOUSA et al, 2016). Esse parâmetro tem muita variação, tanto em méis de *Apis* quanto nos de abelhas sem ferrão (CARVALHO et al, 2006; CAVALCANTE et al, 2006; SOUZA et al, 2006).

Em relação à cor dos méis analisados variaram do âmbar claro (50 - 85 mm) ao âmbar escuro (>114 mm). No período chuvoso (*M. s. merrillae*) a predominância total da tonalidade foi âmbar, enquanto que para *M. interrupta* a tonalidade foi âmbar claro. Em contrapartida, o período seco apresentou uma maior variância na tonalidade das amostras em relação aos meses (julho a setembro), o mês de julho a tonalidade predominante foi âmbar claro, agosto o âmbar e em setembro o âmbar escuro, independente do local de origem e da espécie (Tabela 2).

Na literatura são encontradas referências à ocorrência de praticamente todas as cores previstas na legislação para mel, como registrado por Iwama (1977), variando de praticamente incolor a castanho escuro. Segundo outros relatos da literatura, os méis de meliponíneos são mais claros que os méis de *A. mellifera* (IWAMA, 1997; CAVALCANTE et al, 2006; ANACLETO et al, 2009). Sabe-se que a coloração do mel depende de vários fatores, tais como o conteúdo de mineral, teor em flavonoides e produtos de reação de *Maillard* (SANT'ANA et al, 2012).

Dessa forma os resultados da tonalidade dos méis deste trabalho estão em conformidade com a legislação, que considera aceitáveis variações de branca d'água a âmbar escuro (BRASIL, 2000).

Outros parâmetros importantes e exigidos pela legislação vigente são os teores de 5-HMF e atividade diastásica. Não foi detectada atividade diastásica nas amostras de méis de *M. s. merrillae* quanto para *M. interrupta*. Tal resultado pode ser justificado pelo fato desta enzima ser considerada como de baixa atividade para méis de abelhas sem ferrão, principalmente as espécies de *Melipona*. Essas enzimas presentes nos méis, como diastases, são provenientes de fluidos do néctar e secreções das glândulas salivares e da faringe de abelhas (ESCUREDO et al, 2013; SAK-BOSNAR; SAKAC, 2012), bem como do pólen, indicando que os valores de atividade diastásica presente nas amostras de mel dependem da fonte floral e geográfica.

Tais resultados estão próximos aos observados por diversos autores para méis de abelhas sem ferrão, os quais relatam índice diastásico entre 1,6 e 21,3 Göthe (GUERRINI et al, 2009; DARDÓN et al, 2013; FUENMAYOR et al, 2013; VIT, 2013; CHUTTONG et al, 2016).

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000) e internacional (CODEX, 2001), o mínimo aceito de atividade diastásica é de 8 na escala Göthe, no caso de méis com baixo conteúdo enzimático devem obter no mínimo 3 nessa escala (VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005), se o teor de HMF não exceder a 15 mg Kg⁻¹. Esse

resultado é corroborado com os dados obtidos pelos testes de 5-HMF realizados por eletroforese capilar que indicaram ausência desse composto nos méis analisados.

Em geral, estudos com méis de abelhas sem ferrão, de diversas regiões (Equador, Brasil, Venezuela, Colômbia, Guatemala e Tailândia) tem demonstrado quantidades de 5-HMF inferiores a 15 mg kg^{-1} , muitas vezes esse parâmetro não são detectados nas amostras analisadas (GUERRINI et al, 2009; SILVA et al, 2013; VIT; PEDRO; ROUBIK, 2013; CHUTTONG et al, 2016). Autores como Silva et al (2013) investigaram o conteúdo de 5-HMF em nove amostras de méis de abelha sem ferrão na região nordeste da Paraíba, onde as concentrações encontradas foram baixas variando de 10,80 a $15,76 \text{ mg kg}^{-1}$.

Considerando os parâmetros de atividade diastásica e 5-HMF como indicadores de frescor do mel e de possível aquecimento ou armazenamento prolongado ou inadequado, é possível destacar as amostras analisadas como de excelente procedência, por atenderem as exigências da legislação nacional para mel de *Apis*, apresentando níveis de HMF inferiores a 15 mg kg^{-1} (BRASIL, 2000; BARONI et al, 2009).

Os açúcares representam a maior parte da composição do mel, destes 75% monossacarídeos (glicose e frutose), 10-15% de dissacarídeos (sacarose, maltose, furanose, isomaltose, matulose, trealose, nigerose e kojibiose), além de pequenas quantidades de outros açúcares (maltotriose e melezitose). São os açúcares que conferem ao mel viscosidade, higroscopicidade, granulação e também valor energético (OUCHEMOUKH et al, 2010; DA SILVA et al, 2016). Sua composição é variável, dependendo principalmente da origem botânica visitada pelas abelhas e origem geográfica (ESCUREDO et al, 2014).

Em relação aos resultados obtidos dos açúcares através de métodos diferentes, titulométricos (açúcar redutor e sacarose) e por eletroforese capilar (frutose, glicose e sacarose) fortalecem quando eles apresentam proximidades de valores, principalmente dos açúcares redutores. Os teores médios para açúcares redutores e sacarose obtidos pelo método titulométricos nas amostras analisadas variaram entre 44,18 a 69,93% e 0,86 a 3,98% (*M. s. merrillae*) e 52,23 a 68,75% e 1,07 a 5,09% (*M. interrupta*), períodos e localidades distintas, respectivamente (Tabela 3).

As concentrações dos açúcares redutores (frutose + glicose) e sacarose obtidos por eletroforese capilar variaram entre 28,24 a 71,21% e 0,20 a 0,27% (*M. s. merrillae*) e entre 55,84 a 63,70% e 0,20 a 0,27% (*M. interrupta*), respectivamente. Todavia, no

período seco, os valores de sacarose por este método apresentaram valores menores que 0,20% em todas amostras, ou seja, menor que o limite de quantificação (Tabela 3). A menor e maior concentração de açúcares redutores e frutose + glicose, por ambos métodos, estão presentes nas amostras da espécie *M. s. merrillae* do município de Urucará, período chuvoso e seco, respectivamente.

Tabela 3 - Concentrações em % ($m\ m^{-1}$) de açúcares realizadas por métodos diferentes em amostras de méis de *Meliponas* em Itacoatiara (SJA) e Urucará, mesorregião Amazônica

Municípios	Período sazonal	Espécies	Métodos						
			Titulométricos			Eletroforese Capilar			
			AR	Sacarose	ART	Frutose	Glicose	F + G	Sacarose
Itacoatiara (SJA)	Chuvoso	<i>M. s. merrillae</i>	61,04 ± 0,38	0,86 ± 0,20	61,87 ± 0,57	27,28 ± 0,46	22,26 ± 0,71	49,54 ± 0,82	0,27 ± 0,02
	Seco		64,48 ± 1,75	2,00 ± 0,85	66,48 ± 2,60	32,75 ± 3,00	27,50 ± 2,95	60,25 ± 5,92	< 0,20
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	52,23 ± 7,83	5,09 ± 3,08	57,31 ± 6,12	29,71 ± 2,00	26,13 ± 0,96	55,84 ± 2,96	0,27 ± 0,01
	Seco		63,14 ± 7,18	2,00 ± 0,12	65,14 ± 7,07	31,98 ± 4,16	28,48 ± 3,28	60,46 ± 7,41	< 0,20
Urucará	Chuvoso	<i>M. s. merrillae</i>	44,18 ± 19,8	3,98 ± 3,45	48,16 ± 16,45	15,62 ± 7,06	12,62 ± 5,21	28,24 ± 12,2	0,26 ± 0,03
	Seco		69,93 ± 6,42	1,05 ± 0,48	67,98 ± 6,00	38,54 ± 4,17	32,67 ± 2,77	71,21 ± 6,76	< 0,20
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	64,88 ± 1,22	1,07 ± 1,14	65,95 ± 0,23	33,34 ± 8,22	27,84 ± 6,95	61,28 ± 14,9	0,23 ± 0,03
	Seco		68,75 ± 3,19	2,29 ± 1,27	71,04 ± 2,83	35,01 ± 3,08	28,69 ± 2,02	63,70 ± 5,05	< 0,20
Valores de referência									
Brasil (2000)			min 65,0	máx 6,0	-	-	-	-	máx 6,0
Codex (2001)			min 60,0	máx 5,0	-	-	-	-	máx 5,0
Villas-Bôas e Malaspina (2005)			min 50,0	máx 6,0	-	-	-	-	máx 6,0
Carvalho et al., (2013)			min 60,0	máx 6,0	-	-	-	-	máx 6,0

* Valores expressos como média ($n = 3$) ± desvio padrão de análise.
AR (Açúcares redutores). ART (Açúcares redutores totais).
F+G (soma dos conteúdos de frutose e glicose).
Fonte: Silva (2017).

Quanto aos resultados das concentrações de frutose e glicose nas amostras estudadas variaram entre 15,62 a 38,54% e 12,62 a 32,67 (*M. s. merrillae*), 29,71 a

35,01% e 26,13 a 28,69% (*M. interrupta*), respectivamente (Tabela 3), mostrando que o conteúdo de frutose é maior de que o de glicose em méis de abelhas sem ferrão mesmo em períodos e localidades distintas. Segundo dados da literatura, méis de melíponas possuem menor teor em açúcares (70%) e gosto mais doce (HOLANDA et al, 2012), sendo a frutose o açúcar predominante no mel de abelhas sem ferrão (DE SOUSA et al, 2016).

Na literatura, pesquisadores verificaram uma ampla variação dos níveis de açúcares, onde médias parecidas às registradas nesse trabalho, de 61,49% e 62,83% foram encontradas em méis de *M. seminigra* no Amazonas, e Souza et al (2009) observaram grande variação de açúcares redutores (50,6 a 93,1%) em méis de abelhas do gênero *Melipona*, como também Oliveira, Ribeiro e Oliveira (2013) perceberam uma variação de 53 a 70,7% em méis de meliponíneos. Enquanto para Almeida-Muradian et al (2007), variou próximas de 60,2 a 61,5% para espécies de abelhas sem ferrão da região Amazônica. Assim como valores similares de sacarose foram encontrados por Sousa et al (2013) e Aroucha (2012) variando de 1,5 a 10,2% e de 4,2 a 7,8% em méis de meliponíneos do Rio Grande do Norte. Enquanto Souza et al (2009) observaram uma variação da sacarose de 0,2 a 9% em méis de meliponíneos da Bahia, e o mais baixo, 0,18%, para *M. seminigra* (ALMEIDA-MURADIAN et al, 2007; BORSATO, 2013).

Dessa forma os resultados dos açúcares redutores apresentados mostram uma relação com a sazonalidade e não com o local de coleta. Amostras com maior teor de umidade do período chuvoso, possivelmente apresentam valores de açúcares redutores mais baixos, de forma que os resultados deste trabalho assemelham-se aos divulgados pelos autores supracitados. Portanto, a maioria das amostras do período chuvoso, não parecem aplicáveis ao valor mínimo de 65% estabelecido para mel de *Apis*, enquanto que no período seco a maioria se apresentam dentro do limite estabelecido (BRASIL, 2000; CARVALHO et al, 2013) e mais de 75% (métodos distintos de análises) se enquadram na proposta de meliponíneos (VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005). Para sacarose, todas as amostras acompanham a legislação brasileira, tanto para *Apis* quanto para as abelhas sem ferrão, que estabelece um máximo de 6% para méis (BRASIL, 2000; VILLAS-BÔAS e MALASPINA, 2005; CARVALHO et al, 2013).

Tais resultados também auxiliam na avaliação da vida de prateleira do produto, uma vez que a cristalização da glicose no mel proporciona uma diminuição dos sólidos

solúveis, diluindo a solução amorfa e conseqüentemente aumentando a atividade d'água (Aa) nos méis. Desta forma, o alto conteúdo de Aa pode ocasionar fermentação com formação de álcool etílico e dióxido de carbono, o que prejudica a qualidade do mel (VENIR; SPAZIANI; MALTINI, 2010; ESCUREDO et al, 2013; TORNUK et al, 2013). Além do mais, do ponto de vista do consumidor, o estado de cristalização é a característica com maior impacto sobre a qualidade do mel, o que pode refletir negativamente na comercialização do produto (AL et al, 2009).

Em relação aos testes qualitativos, na obtenção dos dados de adulteração ou para constatação que se tratava de um produto *in natura* foram realizados os testes de Lund e Lugol nas amostras de mel das espécies *M. s. merrillae* e *M. interrupta*, nas localidades analisadas. A Tabela 4, expressa os resultados obtidos nas análises qualitativas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) de mel puro da *Apis*.

Tabela 4 - Médias e resultados das análises qualitativas de Lund e Lugol dos méis coletados nos períodos seco e chuvoso, municípios de Itacoatiara (SJA) e Urucará, Amazonas

Municípios	Período sazonal	Espécies	Lund*	Lugol
Itacoatiara (SJA)	Chuvoso	<i>M. s. merrillae</i>	1,70 ± 0,52	Negativo
	Seco		1,42 ± 0,22	Negativo
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	1,43 ± 0,77	Negativo
	Seco		1,95 ± 0,30	Negativo
Urucará	Chuvoso	<i>M. s. merrillae</i>	0,89 ± 0,43	Negativo
	Seco		1,43 ± 0,23	Negativo
	Chuvoso	<i>M. interrupta</i>	1,38 ± 0,18	Negativo
	Seco		1,52 ± 0,15	Negativo
Valores de referência				
Instituto Adolfo Lutz (2008)			0,6 – 3,0 mL	Negativo

* Valores expressos como média (n = 3) ± desvio padrão de análise.

Fonte: Silva (2017).

Os méis de ambas espécies de abelhas sem ferrão analisadas demonstraram características e valores esperados para mel puro, apresentando resultados negativos para os testes de lugol, indicando que não houve a adição de amido ou dextrina. O

teste de lund revelou a presença de albuminoides em todas as amostras, obtendo um precipitado que variou de 0,4 a 2,6 mL. Dentre as amostras avaliadas, a espécie *M. s. merrillae*, Uruará, período chuvoso apresentaram os menores valores, sendo que essa amostra já obteve valores altíssimo de umidade e condutividade elétrica, além de baixos valores de pH e açúcares redutores.

Apesar da Legislação brasileira não mencionar estes testes como obrigatório, estes se mostram de grande valia para o controle de qualidade do mel. Dessa forma, os resultados mostram que não houve possível adulteração e não ocorreu superaquecimento nas amostras de méis.

4 CONCLUSÃO

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de méis das espécies mostraram que a maioria encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira e internacional para *Apis mellifera*, porém sofrem influência no período sazonal de coleta (chuvoso e seco) apresentando diferenças em alguns parâmetros analisados, principalmente no período chuvoso, destacando-se a umidade, acidez e os açúcares redutores, onde a maioria das amostras dessas análises não atendem aos critérios de qualidade estabelecidos pelas legislações vigentes, mais encontram-se dentro dos limites sugerido para os méis de meliponíneos do Brasil.

Dessa forma, entende-se que os estudos com abelhas sem ferrão estão relativamente no início, sendo necessários ainda vários testes que vise e assegure um produto de qualidade, são exemplos de outros fatores a ser considerados em estudos futuros, a influência das diferentes floradas no decorrer do ano, do manejo aplicado pelos meliponicultores, da composição do solo e da temperatura de cada região. No entanto precisa-se urgentemente de uma fiscalização mais rigorosa dos méis e uma legislação específica seja criada para atender os requisitos de qualidade destes produtos, onde busque conhecer a prática desta atividade visando o desenvolvimento da meliponicultura no Amazonas.

5 REFERÊNCIAS

- AL, M. L. et al. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, p. 863– 867, 2009.
- ALMEIDA-ANACLETO, D. et al. 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, 2009.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. et al. Physico-chemical parameters of Amazon *Melipona* honey. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 707-708, 2007.
- ALQARNI, A. S., OWAYSS, A. A., & MAHMOUD, A. A. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, 5, 618 – 625, 2012.
- ALVES, R. M. O. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *M. mandacaiá* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.644-650, 2005.
- ANACLETO D.A. et al. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811). **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 29: 535-541, 2009.
- AROUCHA, E. M. M. **Mel de abelha do Rio grande do Norte: qualidade física - química – sensorial – potencial antioxidante**. Mossoró, p. 80, 2012.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 16a ed, Maryland, 1998.
- BARONI, M. V. et al. Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 727-733, 2009.
- BERTOLDI, F. C.; GONZAGA, LUCIANO; REIS, V. D. A. **Características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata*), com florada predominante de hortelã-do-campo (*Hyptis crenata*), produzido no Pantanal**. IV Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal, Corumbá-MS, 23-26 nov, 2004.
- BORSATO, D. M. et al. Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil). **B. CEPPA**, Curitiba, v. 31, n. 1, p. 57-66, jan./jun. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 11, de 20/10/2000. Padrão de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 jan. Seção 1, p. 18-23.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários**. Brasília, DF, 2011.

CARVALHO, C.A.L. et al. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In: VIT, P.; ROUBIK, D.W. (Ed.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 2013.

CARVALHO, C.A.L. et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Série Meliponicultura. 1ª edição, Insecta – Núcleo de Estudos dos Insetos, Cruz das Almas, Bahia, 2005.

CARVALHO, M.C. et al. Identification of honey yeast species based on RFLP analyses of the ITS region, **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, 1, 11-17, 2006.

CAVALCANTE, S. M. P. **Características físico-químicas de méis de *Melipona scutellaris* de diferentes municípios do Estado da Bahia**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16, 2006. Anais... Aracajú: Confederação Brasileira de Apicultura, 2006.

CHAVES, A.F.A.; GOMES, J.E.H.; COSTA, A.J.S. 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, Amapá, 2(1): 1-9, 2012.

CHUTTONG, B. et al. Physicochemical Profiles of Stingless Bee (Apidae: Meliponini) Honey from South East Asia (Thailand), **Food Chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION - C.A.C. **Official methods of analysis**. v. 3, Supl 2, Ed 1990.

CODEX ALIMENTARIUS COMMITTEE ON SUGARS. Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey. **Standards and Standard Methods**, 11, 1-7 p, 2001.

COMUNIDADE EUROPEIA. Comissão das Comunidades Europeias. Conselho. Directiva 657, de 2002. Da execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. Bruxelas, 17 ago. 2002. L221. p. 8-36.

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

DARDÓN, M. J.; MALDONADO-AGUILERA, C.; ENRÍQUEZ, E. The pot-honey of Guatemala bees. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. Pot-honey: a legacy of stingless bees. **New York: Springer**, p. 395–408, 2013.

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

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

ESCUREDO, O. et al. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, 138, 851–856, 2013.

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

EURACHEM. **The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics**. (1st ed.), Teddington, UK. (1998).

FUENMAYOR, C. A. et al. Honey of Colombian Stingless Bees: Nutritional Characteristics and Physicochemical Quality Indicators. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. Pot-honey: a legacy of stingless bees. **New York: Springer**, p. 383–394, 2013.

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

GUERRINI, A. et al. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. **Food Chemistry**. 114: 1413-1420, 2008.

HOLANDA C.A., OLIVEIRA A.R. & COSTA M.C.P. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, 35:55-58, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Açúcares e Produtos correlatos. In: _____ **Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos**. 1 ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IWAMA S. **A influência de fatores climáticos na atividade externa de Tetragnosta angustula**. Estado de São Paulo, 1977. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Brasil.

MENDES, C. G. et al. As análises do mel: revisão. **Revista Caatinga**, v.22, n.2, p.07-14, 2009.

MOREIRA, R. F. A., MARIA, C. A. B., PIETROLUONGO, M., & TRUGO, L. C. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, 121, 697–704, 2010.

NASCIMENTO, A.S. **Parâmetros físico-químicos, polínicos e determinação de elementos-traço do mel de Meliponinae (Hymenoptera: Apidae)**. São Paulo, 2014, 114 p. Tese (doutorado), Universidade de São Paulo.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445 p.

OLIVEIRA E.G. et al. Avaliação de parâmetros físico-químicos do mel de tíuba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith), produzido no Estado do Maranhão. **Hig. Aliment.** 20:74-81, 2006.

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

OLIVEIRA, E. N. A de.; SANTOS, D. da C. **Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa**. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 70, n. 2, p.132-8, 2011

OUCHEMOUKH, S. et al. HPLC sugar profiles of Algerian honeys. **Food Chemistry**. v. 121, p. 561–568, 2010.

PONTES, M.; MARQUES, J.; CAMARA, J. Screening of volatile composition from Portuguese multifloral honeys using headspace solidphase microextraction-gas chromatography–quadrupole mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, p. 91-103, 2007.

PUSCAS, A., HOSU, A., & CIMPOIU, C. Application of a newly developed and validated high-performance thin-layer chromatographic method to control honey adulteration. **Journal of Chromatography A**, 1272, 132–135, 2013.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples Original Research Article. **Talanta**, v. 93, p. 62-66, 2012a.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, v, 133, p. 1640-1645, 2012b.

SAK-BOSNAR, M.; SAKAC, N. Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. **Food Chemistry**. v. 135 p. 827–831, 2012.

SANT'ANA, L.D.O. et al. Characterization of Monofloral Honeys with Multivariate Analysis of Their Chemical Profile and Antioxidant Activity. **J. Food Sci.** 71:135-140, 2012.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S.A.F.; SOUZA, C.F.V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. **Revista brasileira de tecnologia agroindustrial**, 4, 80-90, 2010.

SERIGHELI, L.F. et al. Caracterização físico-química do mel de diferentes espécies de abelhas nativas criadas na CETREVI-EPAGRI-VIDEIRA. **Anais... Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar**. Instituto Federal Catarinense, 2014.

SILVA, C.L.; QUEIROZ, A.J.M.; FIGUEIRÊDO, R.M.F. Caracterização físico-química de méis produzidos no estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 8, 260-265, 2004.

SILVA, I.A.A. et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **J. Therm Anal Calorim.** 114: 535-358, 2013.

SILVA, Mikail Queiroz da. **Produção de Tabelas (2-4) dos resultados físico-químicos dos méis coletados nos períodos seco e chuvoso.** Itacoatiara,AM; Urucará, 2017. 3 tabelas.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. M. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, p. 146-152. 2012.

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

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

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

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

SOUZA, B. de A. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.

SOUZA, B. de A. et al. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, p. 867-875, 2006.

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

STRAMM, K.M. **Composição e qualidade de méis de abelha jandaira (*Melipona subnitida*), efeitos de estocagem e comparação com méis de *Apis mellifera*.** São Paulo, 2011, 106p. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo.

THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. **Pure Applied Chemistry**, v.74, 2002.

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

VENTURINI, K.S.; SARCINELLI, M.F; SILVA, L.C. **Características do mel**. 2008. Disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01107_caracteristicas_mel.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2017.

VENIR, E.; SPAZIANI, M.; MALTINI, E. Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. **Food Chemistry**. v. 122, p. 410–415, 2010.

VÉRAS, S.O. **Parâmetros de diferenciação dos méis dos principais grupos de abelhas criadas na produção de mel na Bahia**. Cruz das Almas, Bahia, 2012, 67p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

VIEIRA, L. R. **Estudo da descristalização térmica do mel sob influência da agitação**. Campinas, 2012, 188p. Dissertação (Mestrado), Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

VILLAS-BOAS, J.K.; MALASPINA, O. Physico-chemical analysis of *Melipona compressipes* and *Melipona seminigra* honey of Boa Vista do Ramos, Amazonas, Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON TROPICAL BEES; ENCONTRO SOBRE ABELHAS 8;6, 2004, Ribeirão Preto. SP. **Proceedings**, Ribeirão Preto, 8;6, 2004.

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**, v. 82, p. 6-16, 2005.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 95p, 2012.

VIT, P. et al. A scientific event to promote knowledge regarding honey from stingless bees: Physicalchemical composition. **Magistra**, Cruz das Almas/BA, v.18, n.4, p. 270 – 276. 2006.

VIT, P. *Melipona favosa* Pot-Honey from Venezuela. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. Pot-honey: a legacy of stingless bees. **New York: Springer**, 2013. p. 363-373.

**CAPÍTULO 2 – QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS, CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE E ANÁLISE MELISSOPALINOLÓGICA**

RESUMO

Os méis de abelhas indígenas sem ferrão têm sido bastante consumidos em virtude de suas propriedades, dentre estas, a capacidade antioxidante tem merecido atenção, principalmente devido à presença de ácidos fenólicos e flavonoides. No entanto, esses compostos estão diretamente relacionados as fontes florais utilizadas pelas abelhas para coletar o néctar, além de fatores ambientais e sazonais. Assim, este capítulo teve como objetivo realizar a quantificação de flavonoides totais, capacidade antioxidante e análise melissopalínológica de méis de abelha sem ferrão produzido por meliponicultores rurais no médio Amazonas, em diferentes localidades e períodos sazonais (chuvoso e seco). A diversidade polilética nas lâminas indicou a presença de 32 famílias botânicas diferentes. As famílias *Fabaceae* e *Myrtaceae* foram as principais fontes políferas exploradas por *M. s. merrillae*, com ocorrência consecutiva nos dois períodos sazonais. Além dessas, no período chuvoso, sobressaíram as famílias *Verbenaceae* e *Amaranthaceae* (Itacoatiara) e *Verbenaceae* e *Poaceae* (Urucará). As *M. interrupta* no período chuvoso, registraram preferências pelas famílias *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* e *Poaceae* (Itacoatiara), porém a última família apresentou uma elevada taxa relativa de ocorrência em Urucará, classificada como monofloral. No período seco, as espécies analisadas apresentaram comportamento generalista no uso das fontes de pólen, com abundantes números de pólenes contados, classificadas como heteroflorais. A família *Fabaceae* mais uma vez se destacou como a mais abundante em números de pólenes contados. Todas as amostras apresentaram teor de flavonoides totais e capacidade antioxidante, variando significativamente em relação as espécies de abelhas, sazonalidade e local de origem. De modo geral, as amostras do período chuvoso apresentaram os maiores teores de flavonoides e consequente atividade antioxidante superior às outras amostras, demonstrando uma importante correlação, indicando que estes compostos podem contribuir nas propriedades funcionais do mel, sendo uma importante fonte dietética de compostos antioxidantes. Os resultados comprovam a qualidade do mel, e pode vim agregar valor ao mel de abelhas sem ferrão produzido por meliponicultores da região Amazônica.

Palavras-chave: 1. Abelhas sem ferrão; 2. *Meliponas*; 3. Flavonoides; 4. Antioxidante.

ABSTRACT

The honey of indigenous stingless bees has been widely consumed due to its properties, among them, the antioxidant capacity has deserved attention, mainly due to the presence of phenolic acids and flavonoids. However, these compounds are directly related floral sources used by bees to collect nectar, in addition to environmental and seasonal factors. Thus, the objective of this chapter was to quantify total flavonoids, antioxidant capacity and melissopalynological analysis of stingless bee honeys produced by rural meliponicultores in the middle Amazon, in different locations and seasonal periods (rainy and dry). The polylectic diversity on the slides indicated the presence of 32 different botanical families. The families *Fabaceae* and *Myrtaceae* were the main sources explored by *M. s. merrillae*, occurring consecutively in the two seasonal periods. In addition, during the rainy season, the families *Verbenaceae* and *Amaranthaceae* (Itacoatiara) and *Verbenaceae* and *Poaceae* (Urucará) stood out. The *M. interrupta* in the rainy season registered preferences for the families *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* and *Poaceae* (Itacoatiara), but the latter family had a high relative rate of occurrence in Urucará, classified as monofloral. In the dry period, the analyzed species presented general behavior in the use of pollen sources, with abundant numbers of pollen counted, classified as heteroflorais. The *Fabaceae* family once again stood out as the most abundant in numbers of counted pollens. All samples showed total flavonoid content and antioxidant capacity varying significantly from the bee species, seasonality and the source location. In general, the samples from the rainy season had the highest levels of flavonoids and consequent antioxidant activity superior to the other samples, demonstrating an important correlation, indicating that these compounds may contribute to the functional properties of honey, being an important dietary source of antioxidant compounds. The results confirm the quality of the honey and aggregate rating can come to honey bees without sting produced by beekeepers the Amazon region.

Palavras-chave: 1. Stingless bees; 2. *Meliponas*; 3. Flavonoids; 4. Antioxidant.

1 INTRODUÇÃO

O mel é caracterizado por sua composição complexa, que varia com a origem da matéria-prima como néctar ou melada, as espécies de abelhas, as condições climáticas, a fonte floral disponível e as condições de armazenamento (GHELDOLF; WANG; ENGESETH, 2002). É um alimento natural que contém cerca de 200 substâncias (ESCUREDO et al, 2013), que consiste principalmente de açúcares, água e outros constituintes minoritários tais como ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, compostos fenólicos e uma grande variedade de compostos voláteis (ALQARNI et al, 2012; CIULU et al, 2011; PONTES; MARQUES; CÂMARA, 2007).

Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, existem várias espécies de abelhas sem ferrão que produzem mel e são conhecidas como abelhas indígenas, abelhas nativas, sem ferrão ou *meliponini* (SILVA et al, 2013). No estado do Amazonas, entre as várias espécies já identificadas, destacam-se a *M. s. merrillae* e *M. interrupta* Latreille (VILLAS-BÔAS, 2012; CARVALHO-ZILSE, 2013), que são endêmicas da Amazônia Central e são importantes polinizadores da Floresta Amazônica.

O crescente interesse no mel produzido por abelhas sem ferrão provém de sua composição, que tem sido associada a propriedades antissépticas, antimicrobianas, anticancerígenas, anti-inflamatórias e cicatrizantes (DA SILVA et al, 2013). Dentre essas propriedades, a capacidade antioxidante tem merecido atenção especial associada principalmente à presença de ácidos fenólicos, flavonoides e das enzimas glicose oxidase e catalase (ALQARNI et al, 2012).

Nos últimos anos percebe-se uma crescente demanda por produtos naturais com atividade funcionais na dieta, devido provavelmente aos possíveis efeitos negativos dos aditivos artificiais na saúde humana (BALTRUŠAITYTĖ; VENSKUTONIS; ČEKSTERYTĖ, 2007). A atividade antioxidante é uma das mais importantes funções fisiológicas dos alimentos, prevenindo a ocorrência de diversas doenças cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas (GRANATO; ALEZANDRO; NAZZARO, 2015).

Das substâncias antioxidantes de ocorrência natural, o mel apresenta expressiva atividade, o qual é atribuída pela presença dos compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, visto que conseguem inibir a peroxidação lipídica e a lipo-oxigenase *in vitro*. Isto se deve ao fato de que as abelhas ao coletarem o néctar produzido pelas

plantas transferem os compostos bioativos produzidos pelas plantas para o mel (DA SILVA et al, 2016).

No entanto, os compostos fenólicos presentes no mel e, logo, a capacidade antioxidante estão diretamente relacionadas as fontes florais utilizadas pelas abelhas para coletar o néctar, além de fatores ambientais e sazonais (ESCRICHE et al, 2011; BIESAGA; PYRZYNSKA, 2013; ESCRICHE et al, 2014), méis de diferentes origens florais possuem propriedades bioativas distintas (ALJADI; KAMARUDDIN, 2004). A origem botânica e geográfica do mel pode ser avaliada através da melissopalínologia, que é baseada na identificação do pólen pelo exame microscópico, avaliando o resultado da visita das abelhas às flores (BIANCHI, 2011; CASTRO-VASQUEZ et al, 2014). Na Amazônia brasileira, poucos estudos melissopalológicos foram realizados desde a década de 1980. O forrageio de pólen tem sido estudado, especialmente no gênero *Melipona*; no entanto, o pólen encontrado no mel de *Melipona* tem sido pouco estudado nessa região (RECH; ABSY, 2011).

Apesar de existirem muitos estudos na literatura sobre mel, são escassos sobre o mel de *meliponas*, principalmente na região Norte do Amazonas. Assim, este capítulo teve como objetivo realizar a quantificação de flavonoides totais, capacidade antioxidante e análise melissopalínológica de mel de *melíponas* produzido por meliponicultores rurais da mesorregião do norte do Brasil, em diferentes locais de origem e períodos sazonais (chuvoso e seco).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e preparo das amostras

Para quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante foram analisadas 08 amostras nos meses de maior incidência de chuva (março) e de seca (setembro) de méis de *meliponas* (*M. s. merrillae* e *M. interrupta*) obtidas por meliponicultores rurais da mesorregião Amazônica. Enquanto que, para análise melissopalínológica foram utilizadas 24 amostras das mesmas espécies de abelhas e locais de origem. As amostras coletadas foram armazenadas em frascos do tipo falcon, mantidas ao abrigo de luz, sob refrigeração até a realização das análises. Para análises da quantificação dos flavonoides totais, capacidade antioxidante e melissopalínológica, as amostras foram encaminhadas, respectivamente para o

Laboratório de Bioprospecção, Unidade de Farmacognosia e para o Laboratório de Botânica Taxonômica e Panilogia da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Santarém, Estado do Pará, Brasil.

2.2 Análise melissopalínológica

2.2.1 Preparo do material

Foi adotado o protocolo proposto por Iwama e Melhem (1979) que incluiu o uso de acetólise (ERDTMAN, 1952), procedimento amplamente adotado nas análises melissopalínológicas. Sendo seguido as recomendações de Jones e Bryant (2004) e Novais, Absy e Santos (2013) utilizando etanol a 95% (ETOH) para a diluição inicial do mel em um esforço para reduzir a perda de grãos de pólen durante a eliminação do líquido sobrenadante.

Para extrair e montar os grãos de pólen presentes no sedimento de mel, foi utilizada a técnica de acetólise descrita por Louveaux et al (1970). Para execução da técnica de acetólise utilizou-se o seguinte método:

- a) Pesou-se 5 g das amostras de mel em um béquer de 50 mL diluído em 5 mL de água destilada morna agitando-o com um bastão de vidro.
- b) Acrescentou-se 5 mL de álcool etílico P.A (ETOH), agitando a solução e transferindo-os para tubos de ensaio.
- c) Centrifugou-se (Centrífuga 80-2B-15mL) por 15 min a uma velocidade média de 1500 rpm, descartando-se o líquido sobrenadante.
- d) Pipetou-se 3 - 5 mL de ácido acético glacial a cada tubo para desidratação antes da acetólise e colocou-se para descansar, no mínimo, 03 h. Após nova centrifugação desprezou-se o sobrenadante.
- e) Adicionou-se a cada tubo cerca de 3 mL de mistura acetolítica (anidrido acético + ácido sulfúrico, 9:1) e colocou-se em ebulição em Banho Maria (modelo CENTAURO) durante 2'30" agitando-o constantemente com um bastão de vidro. Centrifugou-se ainda quente e descartou-se o sobrenadante.
- f) Em seguida, adicionou-se 5 mL de água glicerinada 50% permanecendo os tubos em repouso entre 1 - 24 h.

- g) Por fim, após nova centrifugação, desprezou-se o sobrenadante, deixando os tubos com as aberturas voltadas para baixo sobre papel absorvente para melhor drenagem do sedimento.

2.2.2 Montagem das lâminas

Após o processo de acetólise, foram preparadas três lâminas a partir de cada amostra utilizando gelatina glicerinada (SALGADO & LABOURIAU, 1973). Com auxílio de um estilete contendo um pequeno pedaço de gelatina glicerinada na ponta foram retirados dos tubos sedimentos (pólen), sendo este depositado sobre a lâmina de microscopia levemente aquecida por uma chapa aquecedora (modelo NOVA), sendo a lutagem feita com parafina e depositadas para análise microscópica.

2.2.3 Fotomicrografia e identificação dos pólen dos méis

Os grãos de pólen das amostras de méis foram fotomicrografados e realizada a contagem de no mínimo 500 grãos de pólen por lâmina de uma mesma espécie, utilizando microscópio modelo Optcam 0400S, o resultado da contagem foi expresso em percentagem (%). Além disso, algumas amostras de pólen foram fotografadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) modelo JEOL JSM-6390LV no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (Apêndice C).

A identificação dos tipos polínicos (devido à heterogeneidade das amostras de mel, optou-se por identificar todos os pólen apenas ao nível de família) baseou-se nos trabalhos de Louveaux et al (1978), sendo classificados como pólen dominante (mais de 45% do total de grãos de pólen contados); pólen acessório (de 15 a 45%) e pólen isolado importante (3 a 15%) e pólen isolado ocasional (menos de 3%) (LOUVEAUX et al, 1978). O material de referência para identificação polínica das famílias consistiu na comparação com as lâminas de referência da área de estudo, com a coleção de pólen da Palinoteca do link LEPAFE (www.fecilcam.br/lepafe/palinoteca), bem como na consulta de bibliografias especializadas.

2.3 Quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante no mel

2.3.1 Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais nas amostras de mel foi determinado por espectrofotometria UV-VIS. 2 mL dos extratos do mel na concentração 800 mg g⁻¹ foram transferidos para tubos de vidro, adicionou-se 1 mL de solução cloreto de alumínio 5 % e em seguida 2 mL de metanol em cada tubo e a mistura reacional permaneceu em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz. O branco usando água destilada foi preparada nas mesmas condições. O cálculo dos resultados foi baseado em uma curva analítica de sete pontos construída com soluções de padrão de referência de rutina em concentrações de 5 µg mL⁻¹ a 80 µg mL⁻¹ (R² = 0,99) e o resultado expresso em microgramas equivalente a rutina (ERT) por grama de mel. As análises foram feitas em triplicata e as absorbâncias foram medidas em 415 nm (LAMAISON e CARNAT, 1990).

2.3.2 Capacidade antioxidante no mel

A capacidade antioxidante, referente às substâncias presente no mel foi avaliada através do ensaio do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) de acordo com método de Rufino et al (2007) com modificações. Pesou-se aproximadamente 10 g de mel em tubos falcon de 15 mL, em 25 °C, e homogeneizou com água purificada, atingindo concentrações apropriadas para o ensaio. Centrifugou-se (Centrífuga Refrigerada 3–8 K) por 10 min a uma velocidade média de 3000 rpm. Em seguida foi preparada uma solução metanólica de DPPH (pesou-se 3 mg de DPPH em um béquer de 250 mL e homogeneizou-se com 100 mL de metanol) de forma a apresentar absorbância entre 0,6 e 0,7 a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (Modelo NOVA 3300 UV).

Para o preparo do meio racional, transferiu-se para tubos de ensaio concentrações diferentes da solução das amostras e do metanol (variando de 30 a 990 mg g⁻¹) e misturou-se em vortex por 5 segundos. Após, foram realizadas a adição de 2400 µL da solução de DPPH nas amostras de diferentes concentrações na mistura reacional e centrifugou-se por 10 min a uma velocidade média de 2000 rpm.

Na comparação dos resultados foram utilizados trolox (Sigma) como padrão antioxidante. A mistura reacional foi agitada, protegida da luz e do oxigênio, e a leitura da absorbância foi monitorada até a estabilização de cada reação. A atividade de sequestro do radical foi calculada pela porcentagem de inibição do DPPH (% I), onde A_c é a absorbância do controle e A_{am} a absorbância da amostra, segundo a equação:

$$\%I: (A_c - A_{am}) / A_c \times 100$$

O valor de IC_{50} , ou seja, a concentração da amostra que inibiu 50 % do radical DPPH foi determinada por regressão linear pela curva de porcentagem de inibição x concentração da amostra na mistura reacional, para cada uma das amostras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise Melissopalínológica

Nesse estudo, um total de 32 famílias botânicas diferentes, foram identificados a partir das 24 amostras de méis analisadas. Devido a diversidade das fontes de alimentos visitadas pelas abelhas durante a coleta do néctar, podemos classificar a maioria das amostras como mel polifloral, entretanto, uma amostra apresentou elevada frequência relativa específica de uma única família, classificada como monofloral. De acordo com Alencar (2013), essas abelhas são denominadas como poliléticas, pois elas procuram como diferentes fontes de alimento e variadas famílias botânicas.

O resultado da análise qualitativa e quantitativa do pólen para as amostras de méis dos municípios de Uruará e Itacoatiara (SJA), estão resumidas na Tabela 5, 6, 7 e 8. Esses dados demonstram que vários fatores podem contribuir para essa diversidade como as mudanças no nicho trófico ao longo do ano devido a disponibilidade dos recursos florais, as mudanças climáticas, o desmatamento, a distância entre a colônia e as espécies de flores, além da competição exercida por espécies exóticas e outras espécies de abelhas sem ferrão.

Em Uruará no período de chuva as *meliponas* visitaram 12 famílias identificadas e 2 não identificadas, apresentando famílias polínicas similares mais com diferentes valores de frequência relativa (Tabela 5) (Figura 4).

Os vegetais mais visitados pela espécie *M. s. merrillae* quanto ao número de tipos de famílias foram *Myrtaceae* (Figura 5a) e *Poaceae* (Figura 5b), considerados pólen acessórios (Pa). A espécie *M. interrupta* apresentou como pólen dominante (Pd) a família *Poaceae* com taxa de ocorrência de 89,0%, sendo classificada como monofloral. Barth (1989) argumenta que essas famílias polínicas podem ser classificadas como pólen acessório ou dominante nas análises melissopalínológicas. Logo, a família *Poaceae* foi a que mais contribuiu na quantidade de pólen para as abelhas estudadas nessa região no período de chuva (Figura 4).

Tabela 5 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período chuvoso, Urucará, Amazonas, Brasil.

Família	<i>M. s. merrillae</i>					<i>M. interrupta</i>				
	Classes de ocorrência*				FR	Classes de ocorrência*				FR
	Pd	Pa	Pii	Pio		Pd	Pa	Pii	Pio	
<i>Amaranthaceae</i>	-	-	-	Pio	0,37	-	-	-	Pio	0,33
<i>Anacardiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	1,78
<i>Asteraceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,33
<i>Chrysobalanaceae</i>	-	-	-	Pio	1,26	-	-	-	-	-
<i>Fabaceae</i>	-	-	Pii	-	8,83	-	-	-	Pio	2,43
<i>Lacistemataceae</i>	-	-	-	Pio	0,37	-	-	-	-	-
<i>Lamiaceae</i>	-	-	-	Pio	1,86	-	-	-	Pio	0,39
<i>Malpighiaceae</i>	-	-	Pii	-	6,53	-	-	-	Pio	0,72
<i>Malvaceae</i>	-	-	-	Pio	0,89	-	-	-	-	-
<i>Melastomataceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,66
<i>Myrtaceae</i>	-	Pa	-	-	22,57	-	-	-	Pio	2,24
<i>Ochnaceae</i>	--	-	Pii	-	10,17	-	-	-	Pio	0,33
<i>Poaceae</i>	-	Pa	-	-	32,0	Pd	-	-	-	89,0
<i>Rubiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,66
<i>Sapindaceae</i>	-	-	-	Pio	2,30	-	-	-	-	-
<i>Verbenaceae</i>	-	-	Pii	-	12,14	-	-	-	Pio	0,53
Não identificados	-	-	-	-	0,74	-	-	-	-	0,60

*Classes de ocorrência: Pd - pólen dominante (> 45%); Pa - pólen acessório (15 – 45 %); Pii - pólen isolado importante (3 – 15 %); Pio - pólen isolado ocasional (< 3%); FR - Frequência Relativa (%).

Fonte: Silva (2017).

Absy et al (1984) constataram que quatorze espécies de abelhas frequentaram as flores de plantas de *Myrtaceae* para a coleta de pólen e Marques e Souza (1993) verificou que esta família foi a mais procurada para pólen em diversos meses pelas espécies de abelhas da Amazônia, *M. s. merrillae*, *M. rufiventris paraensis*, *M. compressipes manaosensis*, *Trigona williana* e *Frieseomelitta varia*.

A flora visitada na mesma região pelas *meliponas* no período seco amazônico, foi representada por 15 famílias identificadas e 2 não identificadas (Tabela 6). Registramos a presença de quatro tipos de pólen acessórios (Pa) considerados muito frequentes nas amostras da espécie *M. s. merrillae*, ocorrendo em mais de 75% das amostras: *Anacardiaceae* (Figura 5c), *Burseraceae* (Figura 5d), *Fabaceae* (Figura 5e) e *Lecythidaceae* (Figura 5f).

Tabela 6 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas período seco, Uruará, Amazonas, Brasil.

Família	<i>M. s. merrillae</i>				FR	<i>M. interrupta</i>				FR
	Classes de ocorrência*					Classes de ocorrência*				
	Pd	Pa	Pii	Pio		Pd	Pa	Pii	Pio	
<i>Amaranthaceae</i>	-	-	-	-	-	-	Pa	-	-	21,21
<i>Anacardiaceae</i>	-	Pa	-	-	24,52	-	Pa	-	-	18,82
<i>Arecaceae</i>	-	-	-	Pio	0,74	-	-	-	-	-
<i>Bignoniaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,46
<i>Burseraceae</i>	-	Pa	-	-	21,44	-	-	Pii	-	10,28
<i>Fabaceae</i>	-	Pa	-	-	17,38	-	-	Pii	-	10,05
<i>Lamiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	Pii	-	2,31
<i>Lecythidaceae</i>	-	Pa	-	-	15,71	-	-	-	-	-
<i>Lythraceae</i>	-	-	-	Pio	2,59	-	-	-	-	-
<i>Meliaceae</i>	-	-	-	-	-	-	Pa	-	-	15,13
<i>Melastomataceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	Pii	-	10,39
<i>Myrtaceae</i>	-	-	-	Pio	12,75	-	-	-	Pio	0,92
<i>Polygonaceae</i>	-	-	-	Pio	0,92	-	-	Pii	-	9,24
<i>Rubiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,69
<i>Sapindaceae</i>	-	-	Pii	-	3,51	-	-	-	-	-
Não identificados	-	-	-	-	0,44	-	-	-	-	0,50

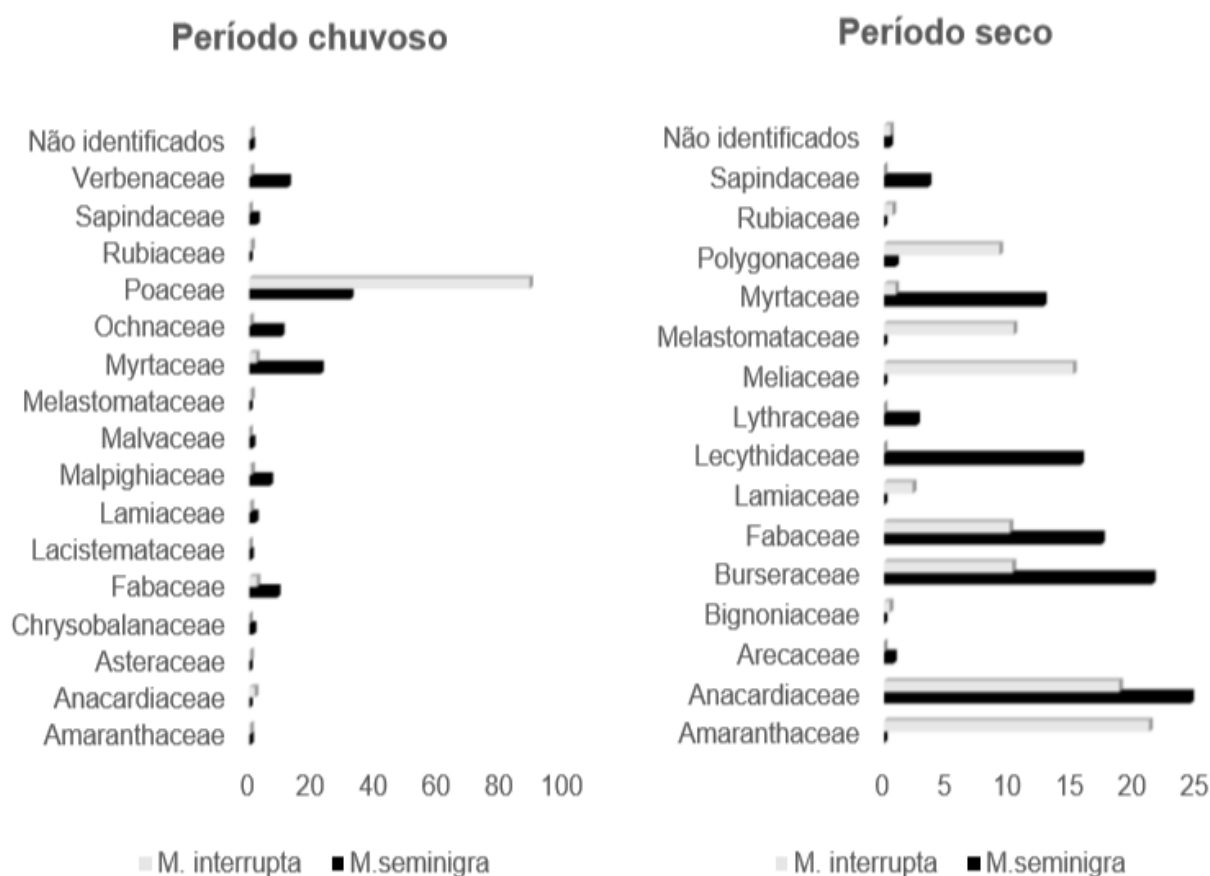
*Classes de ocorrência: Pd - pólen dominante (> 45%); Pa - pólen acessório (15 – 45 %); Pii - pólen isolado importante (3 – 15 %); Pio - pólen isolado ocasional (< 3%); FR - Frequência Relativa (%).

Fonte: Silva (2017).

Por outro lado, aproximadamente 55% das amostras da espécie *M. interrupta* são pólen acessório: *Amaranthaceae* (Figura 5g), *Anacardiaceae* e *Meliaceae* (Figura 5h). Outras famílias também foram importantes na contribuição de pólen para essa espécie como as *Burseraceae*, *Fabaceae*, *Melastomataceae* e *Polygonaceae*, classificadas como pólen isolados importantes (40%). Assim, os dados apontam que *Anacardiaceae*, *Burseraceae* e a *Fabaceae* se destacaram entre esses tipos com ocorrência consecutiva nas espécies analisadas no período seco (Figura 4).

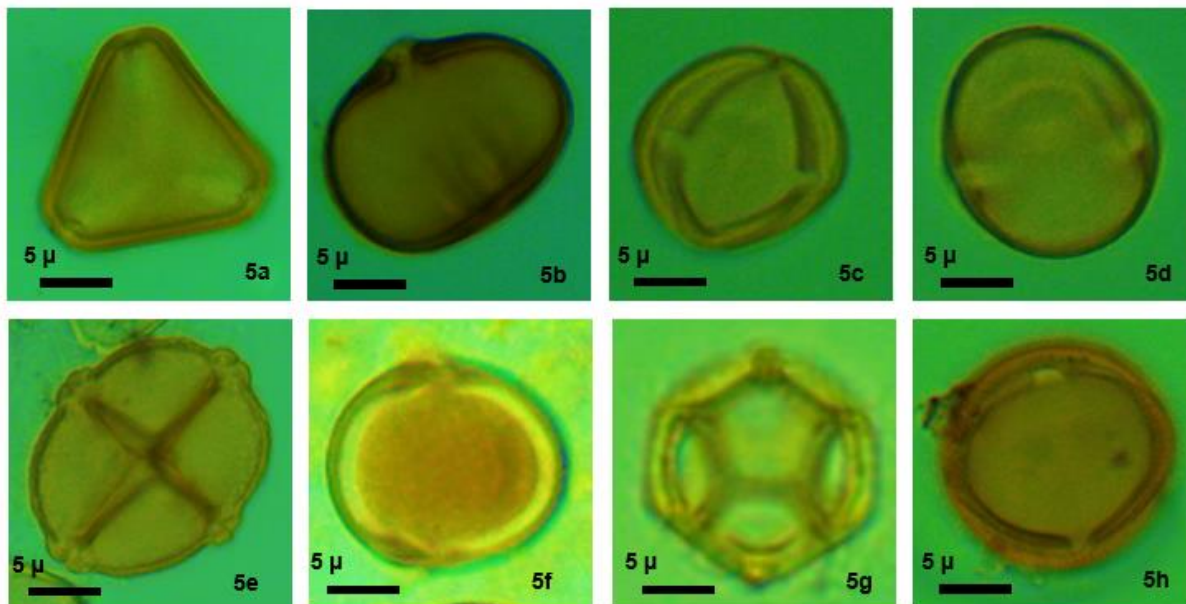
Segundo Marques e Souza (1999), as espécies de *Anacardiaceae* foram visitadas por várias espécies de meliponíneos na região de Manaus (AM) durante os meses de agosto a novembro, e pelo padrão de coleta, apresentam períodos curtos de floração e com a maioria só florescendo no período seco, o que reforça os altos valores de frequência relativa encontrados no presente trabalho quanto aos meses de floração das espécies analisadas.

Figura 4 - Distribuição geral das famílias presente nas amostras de méis de *meliponas* provenientes de Uruará, Amazonas.



Fonte: Silva (2017).

Figura 5 - Prancha fotomicrografada dos principais tipos de pólen das amostras de méis de *meliponas* coletadas em Uruará, Amazonas, período chuvoso (**a.** *Myrtaceae* e **b.** *Poaceae*) e seco (**c.** *Anacardiaceae*; **d.** *Burceraceae*; **e.** *Fabaceae*; **f.** *Lecythidaceae*; **g.** *Amaranthaceae* e **h.** *Meliaceae*).



Fonte: Silva (2017).

Para as amostras do município de Itacoatiara (SJA) no período chuvoso foram encontradas 16 famílias botânicas identificadas e 3 não identificadas, tendo como destaques as famílias *Amaranthaceae* e *Fabaceae* com ocorrência consecutiva nas espécies analisadas (Tabela 7) (Figura 6).

Os grãos de pólen que obtiveram maior representatividade perante a espécie *M. s. merrillae*, que juntas somaram 82,9% dos grãos contados na amostra desse período, estavam presentes nas famílias *Amaranthaceae* (Figura 7a), *Myrtaceae* (Figura 7b) e *Verbenaceae* (Figura 7c) com a classe dos pólenes acessórios (57,3%), além dessas, *Fabaceae*, *Lamiaceae* e *Poaceae* apresentaram-se como pólen isolado importante (25,6%), as demais famílias apresentaram baixa frequência relativa. Para espécie *M. interrupta*, aproximadamente 64% das amostras encontradas são pólen acessório, representadas pelas famílias *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* (Figura 7d) e *Poaceae* (Figura 7e). A *Fabaceae* também foi muito importante para essa espécie, como pólen isolado importante (10%) (Tabela 7).

Tabela 7 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período de chuva, Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.

Família	<i>M. s. merrillae</i>					<i>M. interrupta</i>				
	Classes de ocorrência*				FR	Classes de ocorrência*				FR
	Pd	Pa	Pii	Pio		Pd	Pa	Pii	Pio	
<i>Amaranthaceae</i>	-	Pa	-	-	18,7 2	-	Pa	-	-	28,01
<i>Apocynaceae</i>	-	-	Pii	-	3,04	-	-	Pii	-	3,73
<i>Asteraceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	2,63
<i>Anacardiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	1,56
<i>Chrysobalaceae</i>	-	-	-	Pio	0,29	-	-	-	-	-
<i>Fabaceae</i>	-	-	Pii	-	10,77	-	-	Pii	-	10,05
<i>Lacistemataceae</i>	-	-	-	Pio	2,22	-	-	-	Pio	0,36
<i>Lamiaceae</i>	-	-	Pii	-	8,13	-	-	-	Pio	1,10
<i>Malpighiaceae</i>	-	-	-	Pio	2,05	-	Pa	-	-	17,76
<i>Malvaceae</i>	-	-	Pii	-	4,62	-	-	Pii	-	3,18
<i>Myrtaceae</i>	-	Pa	-	-	20,83	-	-	Pii	-	4,44
<i>Ochnaceae</i>	-	-	-	Pio	2,52	-	-	Pii	-	5,19
<i>Poaceae</i>	-	-	Pii	-	6,73	-	Pa	-	-	17,93
<i>Rubiaceae</i>	--	-	-	Pio	2,22	-	-	Pii	-	3,08
<i>Sapindaceae</i>	-	-	-	Pio	0,88	-	-	-	-	-
<i>Verbenaceae</i>	-	Pa	-	-	16,73	-	-	-	Pio	1,00
Não identificados	-	-	-	Pio	0,23	-	-	-	-	-

*Classes de ocorrência: Pd - pólen dominante (> 45%); Pa - pólen acessório (15 – 45 %); Pii - pólen isolado importante (3 – 15 %); Pio - pólen isolado ocasional (< 3%); FR - Frequência Relativa (%).
Fonte: Silva (2017).

O período seco amazônico nessa região foi relativamente superior ao chuvoso, obtendo 19 tipos polínicos e três tipos indeterminados do total de fontes florais utilizadas pelas abelhas. A família *Fabaceae* mais uma vez se destacou como a mais abundante em números de pólenes contados, embora não possa ser classificada como pólen dominante porque não obteve frequência superior à 45% (Figura 6).

Avaliando a coleta de recursos do período seco por espécie de abelha verificamos que para *M. s. merrillae* os tipos de famílias mais importantes totalizaram 65,5% de frequência do pólen coletado, onde os principais foram *Bignoniaceae* (Figura 7f) e *Fabaceae* (Figura 7g), classificados como pólenes acessórios, além da *Lamiaceae* (Figura 7h), considerada pólen isolado importante. Para espécie *M. interrupta* se destacou como a mais representativa em riqueza de pólenes coletados a

Fabaceae, classificada como pólen acessório (35,9%), as demais famílias presentes em grande quantidade, porém com baixas frequências relativas, foram classificadas em pólenes isolados importantes e pólenes isolados ocasionais (Tabela 8)

Tabela 8 - Espectro de pólen, classes de ocorrência e frequência relativa encontrados nas amostras de méis coletadas no período seco, Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.

Família	<i>M. s. merrillae</i>				FR	<i>M. interrupta</i>				FR
	Classes de ocorrência*					Classes de ocorrência*				
	Pd	Pa	Pii	Pio		Pd	Pa	Pii	Pio	
<i>Acanthaceae</i>	-	-	-	Pio	2,76	-	-	Pii	-	4,14
<i>Amaranthaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	Pii	-	6,1
<i>Bignoniaceae</i>	-	Pa	-	-	30,10	-	-	Pii	-	6,86
<i>Bromeliaceae</i>	-	-	Pii	-	3,29	-	-	-	Pio	1,96
<i>Euphorbiaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,35
<i>Fabaceae</i>	-	Pa	-	-	22,96	-	Pa	-	-	35,88
<i>Lamiaceae</i>	-	-	Pii	-	12,45	-	-	Pii	-	7,97
<i>Lecythidaceae</i>	-	-	-	Pio	1,34	-	-	-	Pio	0,55
<i>Lythraceae</i>	-	-	Pii	-	6,69	-	-	Pii	-	3,95
<i>Loranthaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	1,64
<i>Malpighiaceae</i>	-	-	-	Pio	0,07	-	-	Pii	-	3,79
<i>Melastomataceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	Pii	-	8,04
<i>Meliaceae</i>	-	-	-	Pio	2,30	-	-	-	Pio	2,93
<i>Myrtaceae</i>	-	-	Pii	-	5,02	-	-	Pii	-	3,47
<i>Plumbaginaceae</i>	-	-	-	Pio	0,92	-	-	-	Pio	1,18
<i>Proteaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	Pii	-	3,47
<i>Rubiaceae</i>	-	-	Pii	-	5,73	-	-	Pii	-	3,17
<i>Sapindaceae</i>	-	-	Pii	-	6,37	-	-	-	Pio	2,82
<i>Violaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	1,48
Não identificados	-	-	-	-	-	-	-	-	Pio	0,25

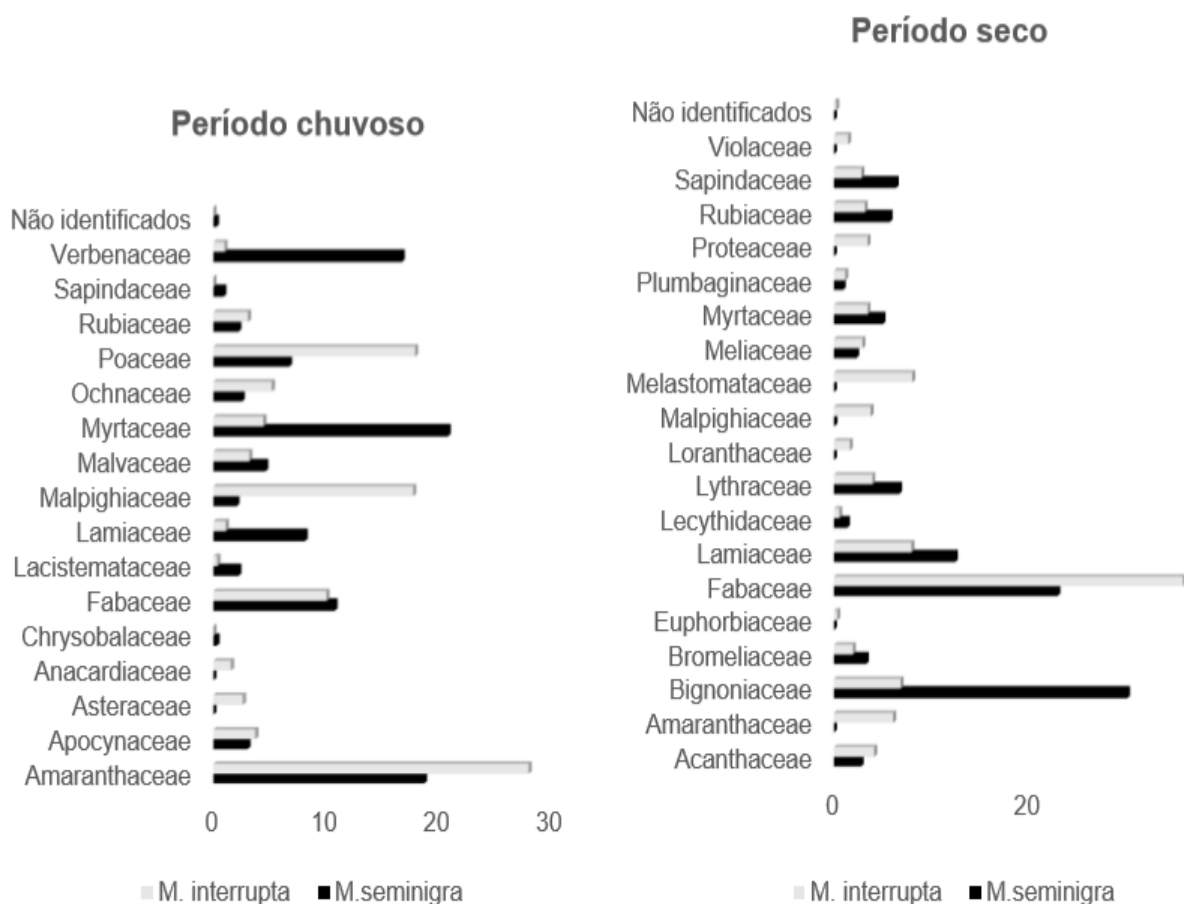
*Classes de ocorrência: Pd - pólen dominante (> 45%); Pa - pólen acessório (15 – 45 %); Pii - pólen isolado importante (3 – 15 %); Pio - pólen isolado ocasional (< 3%); FR - Frequência Relativa (%).
Fonte: Silva (2017).

A análise polínica dessa área demonstrou uma elevada ocorrência dos pólenes isolados ocasionais e isolados importantes em todas as amostras. Muitas das vezes os grãos de pólen com frequência muito baixa podem entrar na composição do mel de forma acidental (MARTINS, 2011). Mas segundo Barth (1970), essa característica de grande quantidade de pólen na categoria isolado ocasional, é comum nos méis brasileiros. Além disso, a presença de maior número de pólen isolado pode estar

relacionada a fatores da própria planta como pequena produção de pólen ou com o comportamento de coleta da própria abelha.

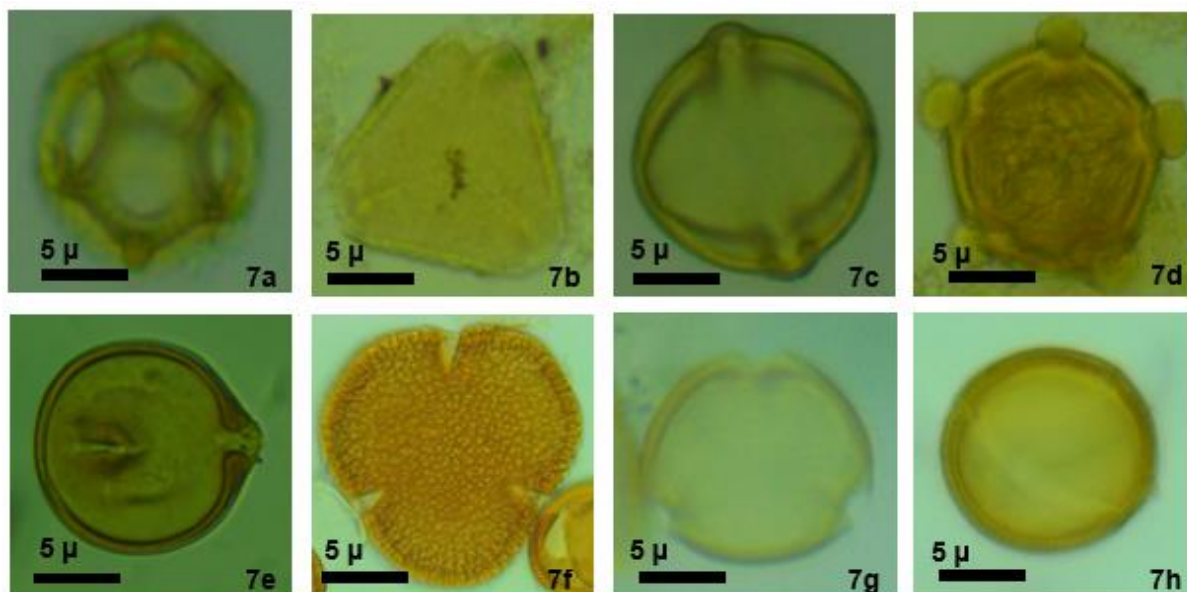
Em relação à presença da família *Fabaceae* nas duas localidades e períodos sazonais (chuvoso e seco) estudadas pode se dar pelo fato desta ser muito abundante na Amazônia Brasileira, pois de acordo com um levantamento de dados realizado por Freitas e Novais (2014) onde analisaram 28 textos publicados entre os anos de 1977 e 2013, citaram 610 tipos de pólen, distribuídos em 94 famílias botânicas, dos quais 129 pertencem à família *Fabaceae* compreendendo o maior número de tipos polínicos encontrados nos trabalhos realizados nessa região. Isto pode explicar o porquê das espécies pertencentes à família *Fabaceae* terem sido exploradas pelos meliponíneos durante os períodos amazônicos (Figura 6).

Figura 6 - Distribuição geral das famílias presente nas amostras de méis de *meliponas* provenientes de Itacoatiara (SJA), Amazonas.



Fonte: Silva (2017).

Figura 7 - Prancha fotomicrografada dos principais tipos de pólen das amostras de méis de *meliponas* coletadas em Itacoatiara, Amazonas, período chuvoso (a. *Amaranthaceae*; b. *Myrtaceae*; c. *Verbenaceae*; d. *Malpighiaceae*; e. *Poaceae*) e seco (f. *Bignoniaceae*; g. *Fabaceae* e h. *Lamiaceae*).



Fonte: Silva (2017).

De modo geral os grãos de pólen de várias famílias estavam presentes em um grande número de amostras de méis de *meliponas* nos municípios estudados, embora em níveis geralmente mais baixos. Isso pode ter relação com os períodos chuvoso e seco, no período chuvoso houve menor número de coleta de tipos polínicos com alta frequência relativa, isso se deve em virtude da baixa floração e alta precipitação nesse período. No seco, observou-se maior floração, conseqüentemente, apresentaram diversificadas famílias polínicas de pólen coletados.

Imperatriz e Fonseca et al (1984) enfatizam que, as abelhas tendem a continuar coletando de espécies que fornecem pequenas quantidades de alimento, pois tais plantas se tornariam fontes alternativas de recursos tróficos para a colônia e são especialmente úteis quando outros provedores de pólen e néctar são saturados ou diminuídos por outros polinizadores. Além disso, a priori, essas fontes secundárias poderiam, com o tempo, ocupar uma posição central no suprimento de alimentos. Dessa maneira, tanto as plantas que fornecem pouco recurso trófico, quanto às plantas que fornecem muito recurso durante um pequeno período de tempo, são importantes para o sustento das abelhas (LOREZON et al, 2013).

O presente trabalho mostra comportamento parecido ao descrito por Marques-Souza et al (2007), que estudaram a abelha amazônica *Scaptotrigona fulvicutis*, onde coletaram os grãos de pólen de 36 famílias distribuídas em 97 espécies, sendo que apenas 6 famílias foram as responsáveis pela parcela significativa da alimentação anual desse meliponíneo. Semelhante ao encontrado por Marques e Souza et al (2010), nas coletas de *Frieseomelitta variaem* numa área de Manaus - AM, obtiveram grãos de pólen de 79 espécies de plantas distribuídas entre 37 famílias, sendo que apenas quatro famílias foram as responsáveis por 71% do fornecimento de alimento para essa espécie.

Outro ponto relevante que legitima esse estudo são as preferências das famílias polínicas encontradas que vão de acordo com Ramalho et al (1990) onde às famílias *Anacardiaceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Melastomataceae*, *Myrtaceae*, *Arecaceae* e *Rubiaceae*, apresentam-se como as principais famílias utilizadas pelos meliponíneos e abelhas africanizadas na região neotropical.

Os dados aqui apresentados são inéditos para a região, necessitando, no entanto, de um maior estudo melissopalínológico comparativo com as espécies vegetais *in loco* próximas aos meliponários de nossa investigação com os pólenes identificados nos méis de ambas as *meliponas*.

3.2 Quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante no mel

Os valores encontrados na quantificação de flavonoides totais e capacidade antioxidante (DPPH) das amostras de méis de *melíponas* analisadas, podem ser observadas na Tabela 9.

No que se refere a quantificação de flavonoides totais as amostras apresentaram variações significativas em relação as espécies de abelhas, sazonalidades e local de origem, obtendo valores médios entre 12,42 a 27,13 FT $\mu\text{g Rutina.g}^{-1}$ mel (*M. s. merrillae*) e 13,57 a 28,99 FT $\mu\text{g Rutina.g}^{-1}$ mel (*M. interrupta*) (Tabela 9). O menor conteúdo foi encontrado no período seco (*M. s. merrillae*) e o maior conteúdo no período chuvoso (*M. interrupta*), ambas amostras pertenciam ao mesmo local de coleta (Itacoatiara). Biluca (2014) ao caracterizar méis de abelhas sem ferrão do estado de Santa Catarina, também encontrou menor e maior conteúdo de compostos fenólicos totais nas mesmas espécies de abelhas, *Melipona scutellaris* e *Tetragonisca angustula*, que por sua vez eram da mesma localidade.

Tabela 9 - Conteúdo das análises de flavonoide totais e capacidade antioxidante (DPPH) de méis de *meliponas*.

Municípios	Espécies	Período sazonal	Análises	
			Flavonoides totais	DPPH
Itacoatiara (SJA)	<i>M. seminigra</i>	Chuvoso	27,13	140,18
		Seco	12,42	744,23
	<i>M. interrupta</i>	Chuvoso	28,99	110,43
		Seco	13,57	742,81
Urucará	<i>M. seminigra</i>	Chuvoso	15,96	276,54
		Seco	22,08	164,09
	<i>M. interrupta</i>	Chuvoso	18,70	247,85
		Seco	14,17	393,41

* Valores expressos como média (n = 3)

Valores médios: Flavonoides totais (FT μg Rutina g^{-1} Mel) e DPPH ($\text{CE}_{50\%}$ mg g^{-1}).

Fonte: Silva (2017).

Vale salientar que esse é um estudo pioneiro, não sendo encontrados na literatura dados relativos à quantificação de flavonoides totais de mel produzida pelas abelhas das espécies *M. s. merrillae* e *M. interrupta* no médio Amazonas. Em relação a outros meliponídeos, cujas informações podem ser comparadas às observações do presente estudo, merece destaque a pesquisa realizada por Aroucha (2012), no estado do Rio Grande do Norte, detectou teores de flavonoides variando de 1,93 a 2,08 mg QE.100 g^{-1} em méis de abelhas do gênero *Melipona*, enquanto que, Mesquita e colaboradores (2012) encontraram valores de 7,78 mg QE.100 g^{-1} para *Melipona subnitida*.

Valores inferiores também foram descritos por Oddo et al (2008) para teor de flavonoides em méis australianos, com valores entre 8,12 e 12,67 mg 100 g^{-1} e média de 10,02 mg 100 g^{-1} de quercetina. Em contrapartida, valores superiores foram encontrados por Ruiz-Navajas et al (2011) ao pesquisarem o teor de flavonoides em méis de abelhas nativas mexicanas, encontraram valores entre 29,58 e 187,08 mg 100 g^{-1} de ácido rutina, com média de 55,74 mg g^{-1} .

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH, baseado no sequestro de radicais livres pelos antioxidantes presentes em uma amostra, e utilizando uma curva padrão construída com *trolox* foi possível calcular a atividade antioxidante da amostra em equivalente ao *trolox*. Os resultados do DPPH variaram

de 140,18 a 744,23 CE_{50%} mg g⁻¹ mel (*M.s. merrillae*) e 110,43 a 742,81 CE_{50%} mg g⁻¹ mel (*M. interrupta*) (Tabela 9). Diferiram significativamente entre amostras de distintas regiões e espécies. Resultados similares foram encontrados em méis da República Tcheca e da Índia (LACHMAN et al, 2010; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010).

Entre os méis analisados as amostras do período chuvoso, ambas localidades, apresentaram maior capacidade antioxidante necessário para reduzir 50% dos radicais livres, exceção, a espécie *M. s. merrillae*, Uruará, porém essa amostra vem apresentando diferenças em outros parâmetros analisados, destacando a umidade, condutividade elétrica, acidez e os açúcares redutores, não atendendo aos critérios de qualidade estabelecidos pelas legislações vigentes.

Os resultados corroboram com trabalhos anteriores, constatando uma correlação positiva entre a capacidade antioxidante e as variáveis de flavonoides totais. Segundo a literatura a capacidade antioxidante está diretamente correlacionada aos teores de fenóis e flavonoides totais (CASTRO et al, 2007; CABRAL et al, 2009; ALVAREZ-SUAREZ et al, 2012; DA SILVA et al, 2013). No entanto, fatores sazonais, ambientais, processamento e principalmente, a fonte floral usada para coletar o néctar, podem interferir na composição e na atividade antioxidante do mel (BERTONCELJ et al, 2007; ESCUREDO et al, 2013; LACHMAN et al, 2010).

Em estudo realizado por Silva e colaboradores (2013), com méis de *Melipona subnitida*, estado da Paraíba, são apresentados resultados de DPPH com valores entre 10,6 a 12,9 mg EAA 100 g⁻¹ necessários para reduzir 50% do radical, assim como Liberato e colaboradores (2013) encontraram valores médios de 13,71 mg EAA 100g⁻¹ para mesma espécie. Tais valores também foram obtidos por CE₅₀ para méis multiflorais de diversas regiões da África do Sul variaram de 1,63 a 29,13 mg mL⁻¹ (SILVA et al, 2005). Enquanto que Oliveira et al (2012) detectou que a atividade antioxidante em méis de *Melipona flavolineata* foi maior do que em méis de *Apis mellifera* L. e *Melipona fasciculata*.

Dessa forma a quantificação da atividade antioxidante pode ser utilizada para assegurar a qualidade e o possível potencial terapêutico dos méis (PEREIRA, 2010). Vale ressaltar a escassez de trabalhos na literatura que avaliaram os conteúdos de flavonoides totais e a capacidade antioxidante em amostras de méis de abelhas sem ferrão no Amazonas, sendo assim necessárias novas pesquisas.

4 CONCLUSÃO

A análise melissopalínológica dos méis das abelhas analisadas indicou a presença de 32 famílias botânicas diferentes, porém números reduzidos de famílias foram responsáveis pela maior parte do pólen coletado.

As famílias *Fabaceae* e *Myrtaceae* foram as principais fontes políferas exploradas por *M. s. merrillae*, com ocorrência consecutiva nos dois períodos sazonais dessa região. Além dessas, no período chuvoso, sobressaíram as famílias *Verbenaceae* e *Amaranthaceae* (Itacoatiara) e *Verbenaceae* e *Poaceae* (Urucará). Enquanto que no período seco, essa espécie apresentou fontes alimentares diversificadas em ambos municípios analisados, com abundantes números de pólenes contados.

Para as abelhas *M. interrupta* no período chuvoso, registraram preferências pelas famílias *Amaranthaceae*, *Malpighiaceae* e *Poaceae* (Itacoatiara), porém a última família apresentou uma elevada taxa relativa de ocorrência em Urucará, classificada como monofloral. No período seco, assim como a *M. interrupta*, essa espécie apresentou comportamento generalista no uso das fontes de pólen, classificadas como heteroflorais. A família *Fabaceae* mais uma vez se destacou como a mais abundante em números de pólenes contados.

De modo geral maior número de tipos de famílias polínicas foram coletadas no período seco (julho a setembro), enquanto que no chuvoso (janeiro a março), foram registrados menores tipos de famílias, porém, com frequências relativas mais significativas.

No que se refere a quantificação de flavonoides totais e a capacidade antioxidante as amostras apresentaram variações significativas em relação as espécies de abelhas, sazonalidades e local de origem.

Os menores teores de flavonoides totais foram encontrados no período seco (*M. s. merrillae*), conseqüentemente apresentando menor capacidade antioxidante, enquanto que os maiores teores de flavonoides totais foram encontrados no período chuvoso (*M. interrupta*), onde ambas amostras pertencem ao mesmo local de coleta (Itacoatiara).

Todas as amostras exibiram capacidade antioxidante, assim, a análise dos flavonoides totais e a capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH, demonstraram uma significativa correlação, indicando que estes compostos podem

contribuir nas propriedades funcionais do mel, sendo uma importante fonte dietética de compostos antioxidantes.

Portanto esse estudo vem contribuir para noticiar e agregar valorização ao mel de *melíponas* produzidas por meliponicultores da região Amazônica, com o intuito de repassar para a população um produto de qualidade e com importantes propriedades antioxidantes.

5 REFERÊNCIAS

ABSY, M.L.; CAMARGO, J.M.F.; KERR, W.E.; MIRANDA, I.P.A. Especies de plantas visitadas por Meliponinae (Hymenoptera: Apidea) para coleta de pólen na região do medio Amazonas. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 44 (2), 227-237, 1984.

ALENCAR, L.C. **Efeitos de abelhas na frutificação e qualidade de melancia (cv. Crimson Sweet) na região central do estado do Piauí**. Jaboticabal, 2013, Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

ALJADI, A.M., KAMARUDDIN, M.Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. **Food Chemistry**, 85(4), 513–518, 2004.

ALQARNI, A. S., OWAYSS, A. A., & MAHMOUD, A. A. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, 5, 618 – 625, 2012.

ALVAREZ-SUAREZ et al. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, 50, 1508–1516, 2012.

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

BALTRUŠAITYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; e CEKSTERYTE, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, 101, 502–514, 2007.

BARTH, O.M. Análise microscópica de algumas amostras de mel do estado do Rio de Janeiro. 1. **Rev. Bras. Biol.**, 30(4):575-582, 1970.

BERTONCELJ et al. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, 105 (2007), 822- 828, 2007.

BIANCHI, F. et al. Characterization of the volatile profile of thistle honey using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**. v. 129, p. 1030– 1036, 2011.

- BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. **Food Chemistry**, v. 136, p. 46–54, 2013.
- BILUCA, F. C. et al. 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.
- CABRAL et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, 32(6):1523-1527, 2009.
- CARVALHO-ZILSE, G.A. Produção de polinizadores para a agricultura na Amazônia. In: NODA, H.; SOUZA, L.A.G.; SILVA FILHO, D.F. **Pesquisas agronômicas para a agricultura sustentável na Amazônia Central. Núcleo de Estudos Rurais e Urbanos Amazônico/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**. (Ed.). Manaus, Amazonas, 2013
- CASTRO et al. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**. 30(7):1512-1516, 2007.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavender honey (*Lavandula latifolia*). **Food Control**, v. 37, p. 362-370, 2014.
- CIULU, M. et al. RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. **Talanta**. v. 83, p. 924–929, 2011.
- DA SILVA E.C.C. et al. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. **Química Nova**, 36(5):628-633, 2013.
- DA SILVA, P. M. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.
- ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy (539 pp.). Stockholm: **Angiosperms**. Almqvist & Wiksell. 1952.
- ESCRICHE, I. et al. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. **Food Chemistry**. v. 142, p. 135–143, 2014.
- ESCRICHE, I. et al. Using flavonoids, phenolic compounds and headspace volatile profile for botanical authentication of lemon and orange honeys. **Food Research International**. v. 44, p. 1504–1513, 2011.
- ESCUREDO, O. et al. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, 138, 851–856, 2013.
- FREITAS, W. A. T. NOVAIS, J. S. Melissopalynology in the Brazilian Amazon: a databank of pollen types cited in the literature. **Boletín de la Asociación Latinoamericana de Paleobotánica y Palinología**, n. 14, p. 103-136. 2014.

GHELDOLF N.; WANG, X.; ENGESETH N. J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J. Agric. Food Chemistry*. 50, 5870-5877, 2002.

GRANATO, D.; ALEZANDRO, M. R.; NAZZARO, F. Food bioactive compounds: Quality control and functional properties. *Food Research International*, v. 77, p. 73-74, 2015.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. et al. Hábitos de coleta de *Tetragona angustula* Latreille (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Bol. Zool. São Paulo* 8: 115-131, 1984.

JONES G. D; BRYANT V. M. Jr. The use of ETOH for dilution of honey. *Grana* 43(3):174–182. DOI:10.1080/00173130410019497. 2004.

LACHMAN, J. et al. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. *LWT - Food Science and Technology*, v. 43, n. 1, p. 52-58, 2010.

LAMAISON, J.L.; CARNAT, A. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la végétation. *Pharm. Acta Helv.* 65 (11) (1990), pp. 315-320

LIBERATO, M. C. T. C. et al. Estudo Comparativo do Teor de Fenóis totais, Flavonoides e Atividade Antioxidante de méis de *Melipona subnitida* D. e *Apis mellifera* L. oriundos da localidade de Açú no Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 53, 2013, Rio de Janeiro. *Anais CBQ*: Rio de Janeiro, 2013.

LORENZON, M. C. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na Serra da Capivara, em Caatinga do Sul do Piauí. *Neotropical Entomology*. v. 32. p. 27-36. 2013.

LOUVEAUX, J., MAURIZIO, A., VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59,139–157, 1978.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. **Methods of melissopalynology. International Commission for Bee Botany of IUBS**, 51(3), 125-138, 1970.

MARQUES-SOUZA, A. C. Ocorrência do pólen de *Podocarpus* sp. (Podocarpaceae) nas coletas de *Frieseomelitta varia* Lepeletier 1836 (Apidae: Meliponinae) em uma área de Manaus, AM, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*. v. 24, p. 558-566. 2010.

MARQUES-SOUZA, A.C. **Características da coleta de pólen de alguns meliponíneos da Amazônia Central**. Manaus, 1999. 250p. Tese (Doutorado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.

MARQUES-SOUZA, A.C. **Espécies de plantas visitadas para a coleta de pólen por cinco tipos de meliponíneos da Amazônia**. Manaus, 1993. Dissertação. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas.

MARQUES-SOUZA, A.C.; ABSY, M.L.; KERR, W.E.; Pollen harvest features of the Central Amazonian bee *Scaptotrigona fulvicutis* Moure 1964 (Apidae: Meliponinae), in Brazil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 21(1), 11-20, 2007.

MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**. v. 29, p. 365–373, 2011.

MESQUITA, W. S.; LIBERATO, M. C. T. C.; BRAGA, D. C. Estudo comparativo do teor de Fenóis totais, Flavonóides e Atividade antioxidante de méis de *Melipona Subnitida* D. e *Apis mellifera* L. produzidos no Ceará. In: 52º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2012, Recife-PE.

NOVAIS, J. N.; ABSY, M. L.; SANTOS, F. A. R. Pollen grains in honeys produced by *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae) in tropical semi-arid areas of north-eastern Brazil. **Arthropod-Plant Interactions**. Brasil v. 7, p. 619–632. DOI 10.1007/s11829-013-9276-x. 2013.

ODDO, L. P. et al. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. **Journal of Medicinal Food**, 11, 789–794, 2008.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e Meliponíneos**. 2010. 84p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

PONTES, M.; MARQUES, J.; CAMARA, J. Screening of volatile composition from Portuguese multifloral honeys using headspace solidphase microextraction-gas chromatography–quadrupole mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, p. 91-103, 2007.

RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A; IMPERATNZ-FONSECA, V.L. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. **Apídologie**, 21:469-488, 1990.

RECH, A. R., & ABSY, M. L. Pollen source used by species of Meliponini (Hymenoptera, Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. **Grana**, 50, 150–161, 2011.

RUFINO, M.S.M. et al. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, 127: 1-4, 2007.

RUIZ-NAVAJAS et al. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. **International Journal of Food Properties**, v. 14, n. 2, p. 459-470, 2011.

SALGADO-LABOURIAU, M.L. Contribui~ao a palinologia dos cerrados. Rio de Janeiro, **Acad. Bras. Ciencias**, 291 p. 1973.

SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. **Food Chemistry**. v. 118, p. 391–397, 2010.

SILVA, I.A.A. et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **J. Therm Anal Calorim.** 114: 535-358, 2013.

SILVA, Mikail Queiroz da. **Tabelas (quantitativa e qualitativa) e fotografias dos pólen presente nos méis das abelhas sem ferrão.** Itacoatiara,AM; Uruará, 2017. Diversas fotografias e 4 tabelas.

SILVA, T. M. S. et al. *Jornal Food Compos. Anal.* **2005**,19,507.

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

**CAPÍTULO 3 - CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE AROMAS DE MÉIS DE ABELHAS
SEM FERRÃO (*Melipona seminigra merrillae* e *Melipona interrupta* Latreille) DA
MESORREGIÃO AMAZÔNICA BRASILEIRA-AM¹**

¹Este Capítulo da Dissertação foi submetido para a Revista Química Nova e está sujeito à aprovação. Os autores: **Mikail Queiroz da Silva^a, Rosa Helena Veras Mourão^b, Adenilson de Sousa Barroso^b, Américo Cruz Júnior^c, Pierre André de Souza^{a,*}.**

RESUMO

Das 400 espécies de abelhas sem ferrão ou meliponíneos catalogadas no mundo, praticamente a metade dessas espécies vivem no Brasil, em específico, na floresta amazônica. No entanto, há poucos estudos químicos e biológicos dos méis de meliponíneos quando comparados aos das abelhas com ferrão do gênero *Apis mellifera*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os perfis de compostos orgânicos voláteis (COVs) das *melíponas* (*M. s. merrillae* e *M. interrupta* Latreille) produzidas por meliponários em duas cidades do estado do Amazonas-Am. Os 19 compostos voláteis detectados nas amostras foram obtidos pelo sistema simultâneo de destilação-extração de Nickerson-Likens e das técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-MS). Os resultados demonstraram uma similaridade de impressões digitais de COVs nos méis das espécies estudadas em ambos os Meliponários. Os terpenos linalol, seus isômeros *cis* e *trans* óxidos de linalol e o hidrocarboneto *n*-octano estiveram presentes praticamente em todas as amostras. Esses compostos orgânicos voláteis apresentaram a maior porcentagem relativa nos méis analisados, seguidos pelo acetaldeído de benzeno e pelo álcool 2-etil-hexanol. Os compostos supracitados indicam ser possíveis marcadores da preferência meliponícola. Os resultados aqui apresentados são inéditos tanto para os méis da região estudada quanto para a espécie *M. s. merrillae*.

Keywords: 1. *Meliponas*; 2. Compostos voláteis; 3. CG-MS; 4. Mel; 5. Amazonas.

ABSTRACT

Of 400 species of stingless bee, or meliponine, catalogued in the world, practically half of this species live in Brazil, specifically in the amazon rainforest. However, when compared to studies of honeybees *Apis mellifera* genus few chemical and biological studies have been done on the honeys of the meliponine species. The goal of this work was to characterize the volatile organic compounds (VOCs) profiles of *meliponines* (*M. s. merrillae* and *M. interrupta* Latreille) produced of Meliponaries were conducted in two different mid-region cities in the state of Amazonas-Am. The 19 volatile compounds detected in the samples were obtained by the simultaneous distillation-extraction system of Nickerson-Likens and Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) techniques. The results showed a similarity of VOCs fingerprints in the honeys of the species studied on both Meliponaries. In almost all samples studied, linalool terpene and their derivatives *cis* and *trans*-linalool oxides, and hydrocarbon *n*-octane were present. These VOCs had the highest relative percentage in the analyzed honeys, followed by benzene acetaldehyde and 2-ethylhexanol alcohol compounds. Through the results obtained suggest the VOCs as potential markers for the botanical sources. This reports provides for the first time, information intended to chemical knowledge both honey stingless bees of the studied region.

Keywords: 1. *Meliponines*; 2. Volatile compounds; 3. GC-MS; 4. Honey; 5. Amazonas.

1 INTRODUÇÃO

O mel como produto natural proveniente das diversas espécies de abelhas formadoras de colônias, a partir de exsudatos contendo carboidratos e proteínas produzidos pelas plantas, é amplamente consumido em todo o mundo. Uma prática que remonta a milênios registrada nas inscrições rupestres pelo homem do paleolítico (BARONI et al, 2006; KARABAGIAS et al, 2014).

Além desses componentes agregarem valor nutricional ao mel há ainda outros imprescindíveis compostos que tornam particulares as características físico-químicas e químicas desse insumo conforme a espécie de abelha e região. Dentre a gama de compostos destacam-se as vitaminas, minerais, enzimas, aminoácidos livres e numerosas substâncias voláteis e semi-voláteis (SILVA; GAUCHE; GONZAGA; COSTA e FETT, 2016; BARONI et al, 2006; KARABAGIAS et al, 2014).

As abelhas do gênero *Apis*, em específico das espécies *A. mellifera*, de origem europeia e asiática, são as principais espécies produtoras de méis, devido à domesticação desse gênero ser remota e com alta produtividade, por isso, muito lucrativo (CARVALHO et al, 2005). No entanto, em regiões tropicais e subtropicais do mundo como as Américas Central e do Sul, Austrália, África, Sudeste Asiático existem outras espécies, mais numerosas da família *Apidae* pertencentes aos gêneros da tribo *Meliponinae*. Essas abelhas, formadoras de colônias, constituem um grupo em torno de 400 espécies catalogadas. Não possuem glândulas de veneno e seu ferrão é atrofiado resultando na sinonímia de “abelhas sem ferrão” ou ainda de “abelhas nativas” (CARVALHO-ZILSE et al, 2011).

Os gêneros neotropicais que maior apresentam número de espécies catalogadas são as *Meliponas* (65 espécies) precedido pelo gênero *Plebeia* (30 espécies) (MICHENER, 2013). Além de produzirem méis com excelente qualidade e altamente apreciadas pelos seus sabores distintos, e comumente aplicados com fins medicinais, estas abelhas também oferecem benefícios ecológicos. Conforme o local onde vive, a abelha sem ferrão é responsável por 40 % a 90 % da polinização das árvores nativas. Por isso, possuem função destacada na formação e manutenção das florestas, contribuindo também para manter a biodiversidade de plantas e animais que vivem na várzea (SILVA et al, 2013; BILUCA et al, 2014; SOUSA et al, 2016; CHUTTONG; CHANBANG; SRINGARM; BURGET, 2016).

No Brasil foram catalogadas, aproximadamente 192 espécies de abelhas sem ferrão (SILVA et al, 2013; BILUCA et al, 2014; SOUSA et al, 2016; CHUTTONG; CHANBANG; SRINGARM; BURGET, 2016). A Amazônia brasileira é o bioma onde se encontra a maior diversidade dessas espécies (CARVALHO-ZILSE, 2013), destacam-se nessa biodiversidade as espécies *Melipona seminigra* e *Melipona interrupta* por serem as principais espécies manejadas pela meliponicultura e, por estarem profundamente arraigadas na cultura local nos estados do Amazonas e Pará. Ambas atendem, respectivamente, pelas sinonímias de jandaíra-da-amazônia ou uruçú-boca-de-renda e de jandaíra-preta-da-Amazônia ou jupará (VILLAS-BÔAS, 2012; CARVALHO-ZILSE, 2013)

Além de estudos envolvendo as propriedades físico-químicas, química, melissopalínológica e as propriedades medicinais do mel como forma de caracterizá-lo relacionando-o a espécie e a região, outro fator relevante é o estudo de seus compostos voláteis. Os compostos voláteis são os principais responsáveis pelo aroma e sabor dos alimentos e podem ser considerados, para o mel, como marcadores químicos de sua origem botânica. Estão presentes no mel em concentrações muito baixas como misturas complexas de diferentes classes químicas (CASTRO-VÁZQUEZ et al, 2007). Dentre essas classes destacam-se os monoterpenos, norisoprenóides, sesquiterpenos, benzenóides, álcoois, ésteres, cetonas e aldeídos (MANYI-LOH; ANIP e CLARKE, 2011; SILVA et al, 2016).

As diferentes classes químicas desses compostos, que proporcionam a característica intrínseca de cada mel em seu aroma, estão intimamente associadas à origem botânica e a área geográfica de produção, pois o solo e o clima determinam a flora apícola/meliponícola (SILVA; LIMA; CAETANO e TORRES, 2017; SILVA et al, 2016).

O grande avanço na identificação dos compostos voláteis das diversas fontes naturais na década de 60 do século XX adveio por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS). Essa poderosa técnica de identificação e quantificação de compostos proporcionou, até o momento, a detecção de aproximadamente seiscentos compostos voláteis. Especialistas da área apontam que dezenas de compostos ainda serão identificados conforme a aplicação e o avanço da técnica (ALISSANDRAKIS et al, 2005, 2007; DE MARIA et al, 1999; JARKOVIC et al, 2009).

São poucos os estudos desenvolvidos sobre a composição química, atividades biológicas, características físico-químicas, melissopalínológica e compostos voláteis de méis de *Meliponas* no Brasil. Paradoxalmente, a região norte, em específico, a floresta amazônica, por apresentar a maior biodiversidade dessas espécies no país e no mundo, seus estudos são ainda mais raros. A análise dos compostos voláteis do mel sendo uma das alternativas para sua tipificação, ao qual podem ser utilizados como marcadores químicos específicos fornece informações relevantes para a promoção desse produto no mercado, agregando valor econômico convertido em renda familiar para os meliponicultores (CARVALHO et al, 2006; CASTRO-VASQUEZ et al, 2014; KARABAGIAS et al, 2014; VERZERA et al, 2014; SEISONEN et al, 2015).

O objetivo dessa pesquisa foi o de contribuir com a ampliação do conhecimento sobre os meliponíneos no norte do Brasil ao determinar por CG-MS os constituintes voláteis de aromas de méis de duas espécies do Amazonas, *M. s. merrillae* e *M. Interrupta*, de produtores rurais da Mesorregião do Centro do Amazonas-Am. Imagens de ambas as espécies foram obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) como contribuição ao acervo de imagens da microanatomia ultra estrutural de suas morfologias.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Coleta e identificação das espécies de *Meliponas*

As espécies coletadas nos meliponários foram acondicionadas em “frascos mortíferos” contendo solventes do tipo éter etílico, acetato de etila e diclorometano. Em seguida, as amostras foram postas em alfinete entomológico inoxidável, etiquetadas e acondicionadas com naftaleno moído em caixas com fundo de poliestireno.

As amostras foram enviadas para o Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos (BIOSIS), Curadoria de Invertebrados Terrestres - Museu de História Natural/Zoologia - MHNBA/MZUFBA, Universidade Federal da Bahia, e identificadas pela Prof^a. Dr^a. Favízia Freitas de Oliveira. As espécies identificadas foram *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 e *Melipona interrupta* Latreille, 1811.

2.2 Coleta das amostras de méis

As amostras de méis foram coletadas no período de maior produção segundo os meliponicultores locais (agosto e setembro de 2017, período de precipitação pluviométrica mais baixa característico do período de seca - conhecido como o verão amazônico). As coletas foram realizadas nos meliponários de dois municípios localizados na Mesorregião do Centro do Amazonas, Itacoatiara (comunidade São João do Araçá, rio Arari) e Urucará, Estado do Amazonas distantes 100 km entre si, em linha reta conforme aponta o Instituto Nacional de Meteorologia-INMET.

Um total de 4 amostras de méis foram coletadas, de cada espécie de abelha, diretamente dos favos das colmeias com maior produção dos meliponários supracitados. Em seguida, armazenados nos frascos coletores na forma de *blending*. As amostras foram obtidas por meio de sucção com seringas descartáveis provenientes de potes operculados de cerumes contidos dentro das colônias e armazenadas em vasilhas de poliestireno hermeticamente fechadas e mantidas sob refrigeração a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises no Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental, Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Santarém, Estado do Pará, Brasil.

2.3 Extração do aroma do mel

Para obtenção do aroma, 10 gramas do mel de cada uma das espécies de *Meliponas* de seus locais de coleta foram destilados utilizando um microsistema de hidrodestilação-extração simultânea por “headspace” não dinâmico (fase gasosa imediatamente acima da fase sólida ou líquida, armazenada em recipiente hermeticamente fechado não acoplado diretamente ao CG-MS). Utilizou-se um extrator tipo Likens-Nickerson (NICKERSON e LIKENS, 1964), *n*-pentano como solvente (4 mL) carreador, acoplado a um sistema de refrigeração para manutenção da água de condensação entre $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 2 horas.

2.4 Análise química do aroma por CG-MS

A análise do aroma do mel foi realizada em um sistema CGMS-QP2010 Ultra (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) equipado por um cromatógrafo gasoso,

espectrômetro de massa, auto injetor AOC-20i, com detector de ionização em chamas (DIC) e *software* GC-MSsolution que inclui um banco de dados das bibliotecas *NIST* e *ADAMS* (ADAMS, 2007; NIST, 2011) Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida Rxi-5ms (Restek Corporation, Bellefonte, PA) de 30 m x 0,25 mm (diâmetro) x 0,25 μm (espessura da película), revestida com 5 % de difenil dimetilpolisiloxano.

As condições de análise foram: temperatura do injetor de 250 °C; programação de temperatura do forno de 60–240 °C (3 °C min^{-1}); hélio (99.995 %) como gás transportador, ajustado a uma velocidade linear de 36,5 cm sec^{-1} (taxa 1,0 mLmin^{-1}); injeção no modo split de 1 μL da amostra; razão split 1:20; ionização por impacto eletrônico (EI) 70 eV; temperatura da fonte de ionização e da linha de transferência de 200 e 250 °C, respectivamente. Os espectros de massa foram obtidos por varredura automática à 0,3 s, com fragmentos de massas na faixa de 35-400 m/z .

O índice de retenção linear (índice de Kovats) foi calculado em relação aos tempos de retenção para todos os componentes voláteis, utilizando uma série homóloga de *n*-alcanos (IK) C₈-C₄₀ (Sigma-Aldrich), de acordo com a equação linear de Van den Dool e Kratz (1963). Os compostos existentes nos cromatogramas foram identificados através da comparação de seus espectros de massas (massa molecular e o padrão de fragmentação) com os espectros existentes na espectroteca do sistema e na literatura.

2.5 Imagens de *Meliponas* por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As espécies de abelhas foram fixadas com cola prata na superfície de fita dupla face aderida em suportes metálicos de 120 mm de diâmetro e deixadas em estufa à vácuo por 24 horas para análise ultra estrutural. As amostras foram metalizadas com ouro por 120 segundos em recobridora da marca LEICA Modelo EM SCD 500. Em seguida, acondicionadas em estufa à vácuo até o momento da análise de imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) modelo JEOL JSM-6390LV. As imagens foram fotografadas com filme Neopan SS 120 Fugi e/ou capturadas digitalmente utilizando-se o programa DIT (*Digital Image Transfer*) para um computador compatível IBM-PC no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina e processadas, posteriormente, com o programa CorelDRAW *Graphics Suite X8*.

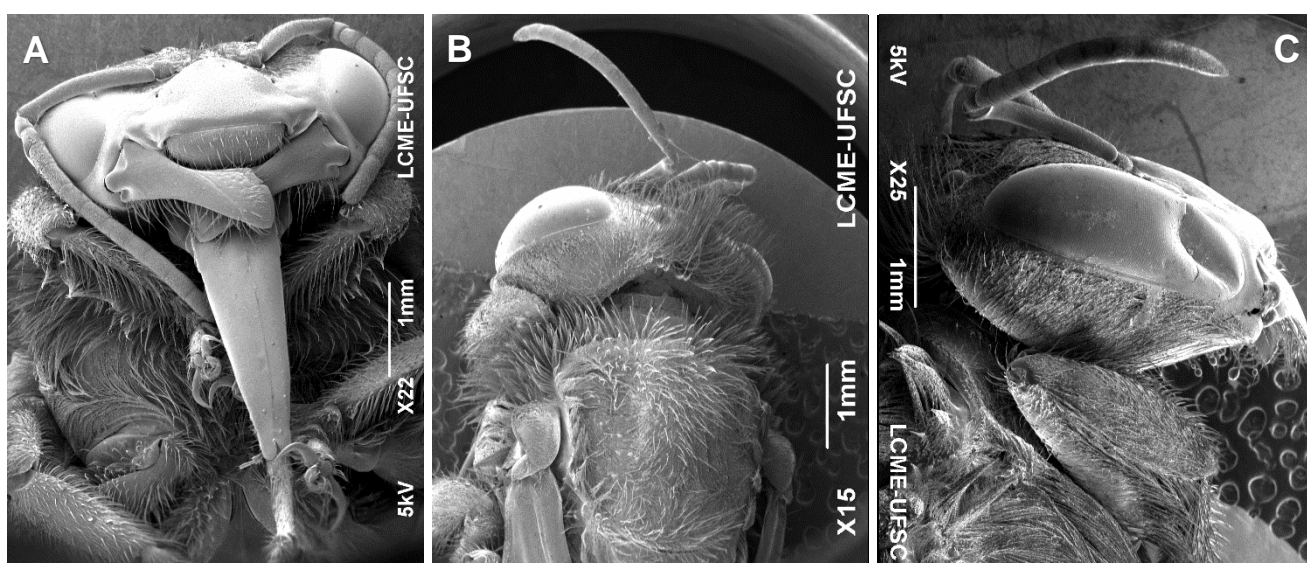
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Meliponas* por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura foram obtidas apenas para as melíponas operárias. As Figuras 8 e 9 mostram a morfologia de ambas as espécies *M. s. merrillae* e *M. Interrupta* padrão análogo de outros insetos himenópteros possuidores de escapo, flagelo e pedicelo. As operárias apresentam um dimorfismo sexual de dez flagelômeros, conforme consta nas abelhas com ferrão *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* (RAVAIANO et al, 2012; ESSLEN e KAISLING, 1976).

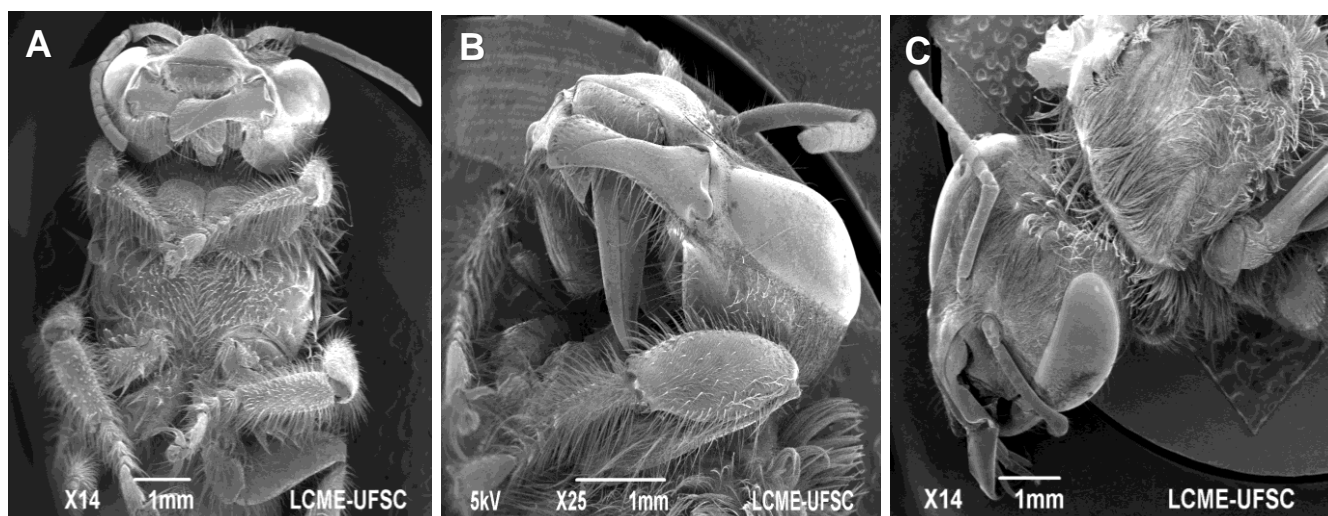
As sensilas céticas, responsáveis pelo estímulo em reconhecer indivíduos invasores do ninho, estão presentes em todos os seguimentos antenais nas duas espécies como importantes unidades sensoriais que se assemelham a pelos. No entanto, o maior número de sensilas em suas antenas parece distinguir a espécie *M. s. merrillae*. Há distintas sensilas distribuídas ao longo do segmento antenal com funções que vão da mecanorreceptora a quimiorreceptora (STORT,1999). Essa última, sensíveis aos compostos hidrocarbonetos cuticulares auxiliares na identificação das companheiras operárias de ninho bem como estimuladoras no desempenho de tarefas específicas na colônia, como desidratação de néctar, defesa do ninho, trabalho com cerume, dentre outras (NOGUEIRA-NETO,1997).

Figura 8 - *M. seminigra merrillae*, obtidas por micrografia eletrônica de varredura. A: vista ventral. B: vista dorsal. C: vista lateral



Fonte: Silva (2017).

Figura 9 - *M. Interrupta*, obtidas por micrografia eletrônica de varredura. A: vista ventral. B: vista lateral. C: vista dorsal.



Fonte: Silva (2017).

3.2 Compostos voláteis dos méis de *Meliponas*

Por meio do processo de extração e destilação simultânea com o solvente *n*-pentano a partir da técnica de Likens-Nickerson obteve-se um total de 19 compostos voláteis conforme expresso na Tabela 10 e Figura 10 com seus respectivos cromatogramas. Esses, foram identificados nas amostras de méis analisadas dos meliponíneos estudados por cromatografia gasosa associado a espectrometria de massas (CG-MS), dos quais os valores de RI_{calc} obtidos neste trabalho estão coerentes com os valores encontrados na literatura (ADAMS, 2007).

A técnica empregada por destilação a quente na extração de compostos voláteis não está isenta em oferecer possíveis riscos na produção de artefatos derivados de furanos e piranos. Compostos como 2-metil-furano e furfural dentre outros produzidos pela desidratação de açúcares ou mesmo por aminoácidos no mel é um risco a ser levado em conta. Entretanto, os compostos isofurano e 4-ceto-furano com relativo baixo rendimento percentual estavam presentes em apenas três das oito amostras analisadas, provavelmente, tenham sido originados diretamente da fonte floral e não como produtos de reações de escurecimento não enzimático. Esse argumento é fortificado por autores que apontam a formação de pequenas quantidades de derivados do furano em mel processado entre 50 °C a 70 °C por 16 h, o que não

corresponde à metodologia da técnica adotada na extração desses compostos voláteis (DE MARIA et al, 2003).

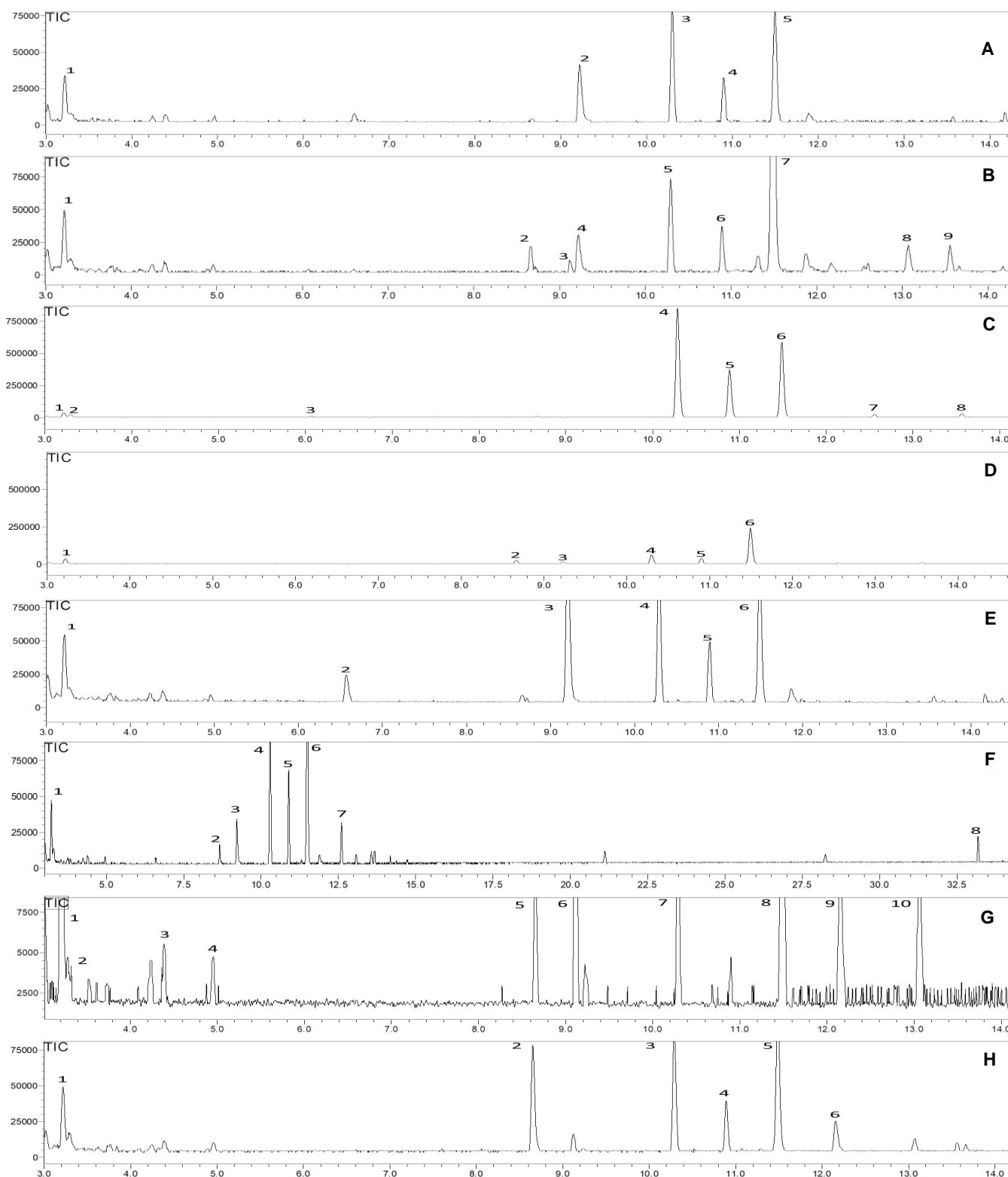
A maioria das amostras de mel, independentemente da espécie e área geográfica, mostrou impressões digitais cromatográficas muito semelhantes para algumas classes de compostos.

Tabela 10 - Constituintes voláteis dos méis produzidos pelas espécies *M. s. merrillae* e *M. interrupta* nos meses de coleta do verão amazônico (período seco) dos meliponicultores rurais nos municípios de Itacoatiara (SJA) e Urucará- AM

Compostos	RI _{calc}	RI _{lit}	Itacoatiara				Urucará			
			<i>M. s. merrillae</i>		<i>M. interrupta</i>		<i>M. s. merrillae</i>		<i>M. interrupta</i>	
			Ag	Set	Ag	Set	Ag	Set	Ag	Set
<i>n</i> -octano	800	800	10,33	5,29	8,17	6,27	1,61	7,19	22,63	10,13
3z-hexenal	805	797	-	-	-	-	1,11	-	-	-
Etil de Piruvato	806	807	-	-	-	-	-	-	2,34	-
Etil de Benzeno	867	857	-	-	-	-	-	-	2,56	-
<i>n</i> -nonano	900	900	-	-	-	-	-	-	1,91	-
Pentanona	941	940	-	-	-	-	0,38	-	-	-
Benzaldeido	959	952	-	-	4,73	-	-	-	-	-
2-etil Hexanol	1026	1030	-	2,18	-	1,77	-	5,41	6,76	21,58
Acetaldeído de Benzeno	1042	1036	16,63	4,17	30,31	6,06	-	2,45	-	-
2-etoxi-3-metil Pirazina	1039	1040	-	0,97	-	-	-	-	13,67	-
<i>cis</i> -óxido de Linalol	1071	1067	29,47	10,06	22,27	27,36	43,8	15,34	10,02	23,37
<i>trans</i> -óxido de Linalol	1088	1084	10,80	4,42	9,08	11,76	19,51	8,40	-	9,26
Linalol	1104	1095	32,77	67,76	25,44	38,97	31,03	61,21	22,55	29,63
Isofurano	1120	1118	-	-	-	-	-	-	9,38	6,03
Formato de octila	1130	1127	-	-	-	4,70	-	-	-	-
2-vinil Anisole	1129	1135	-	-	-	-	1,11	-	-	-
4-ceto Isofurano	1141	1140	-	2,99	-	-	-	-	8,18	-
Óxido de Nerol	1153	1154	-	2,16	-	-	1,45	-	-	-
γ -Eudesmol	1632	1630	-	-	-	3,11	-	-	-	-

Legenda: RI_{calc} = Tempo de Retenção Calculada; RI_{lit} = Tempo de Retenção da Literatura; Ag = agosto; Set = setembro.

Fonte: Silva (2017).



Pico correspondente (TIC) vs. Tempo de retenção (min)

Figura 10 - Cromatogramas dos compostos voláteis das oito amostras de méis analisadas por CG-MS com seus respectivos picos de retenção. Os cromatogramas A, B e C, D representam, respectivamente, as amostras de méis de *M. s. merrillae* de Itacoatiara e Uruará nos meses de agosto e setembro. Os cromatogramas E, F e G, H representam as amostras de méis de *M. interrupta* de Itacoatiara e Uruará nos meses de agosto e setembro. Fonte: Silva (2017).

Os números de compostos voláteis detectados nas oito amostras analisadas variaram entre as espécies e os meses em ambas as regiões de coleta. O que pode indicar, possivelmente, flutuação na variabilidade e abundância de espécies vegetais em florescência no pasto meliponícola. A presença de compostos voláteis aromáticos, terpenos e hidrocarbonetos alifáticos, por exemplo, é uma característica de óleos essenciais nas flores e da diversidade das espécies de uma região (MANYI-LOH et al, 2011).

Os compostos identificados pertencem a diferentes classes químicas incluindo terpenos, hidrocarbonetos lineares, álcoois, ésteres, cetonas não aromáticas, aldeídos, derivados do benzeno e heterocíclicos com anéis furano e pirazina (Tabela 10).

O hidrocarboneto linear *n*-octano e os monoterpênicos linalol e seus isômeros *cis* óxido de linalol (furanóide) e *trans* óxido de linalol (piranóide) foram detectados praticamente em todas as amostras de méis analisadas como pode ser verificado na Tabela 10 e Figura 11. No entanto, a maior porcentagem relativa da presença desses compostos voláteis coube ao linalol no mel de *M. s. merrillae* (67,76 % e 61,21 %) seguido de seu isômero *cis* óxido de linalol (29,47 % e 43,8 %). Para espécie *M. interrupta* foram registrados, respectivamente, (38,97 % e 29,63 %) e (27,36 % e 23,37 %), indicando o estágio de maior floração e preferência meliponícola supostamente cítrica para as espécies vegetais visitadas pelas abelhas (Tabela 10).

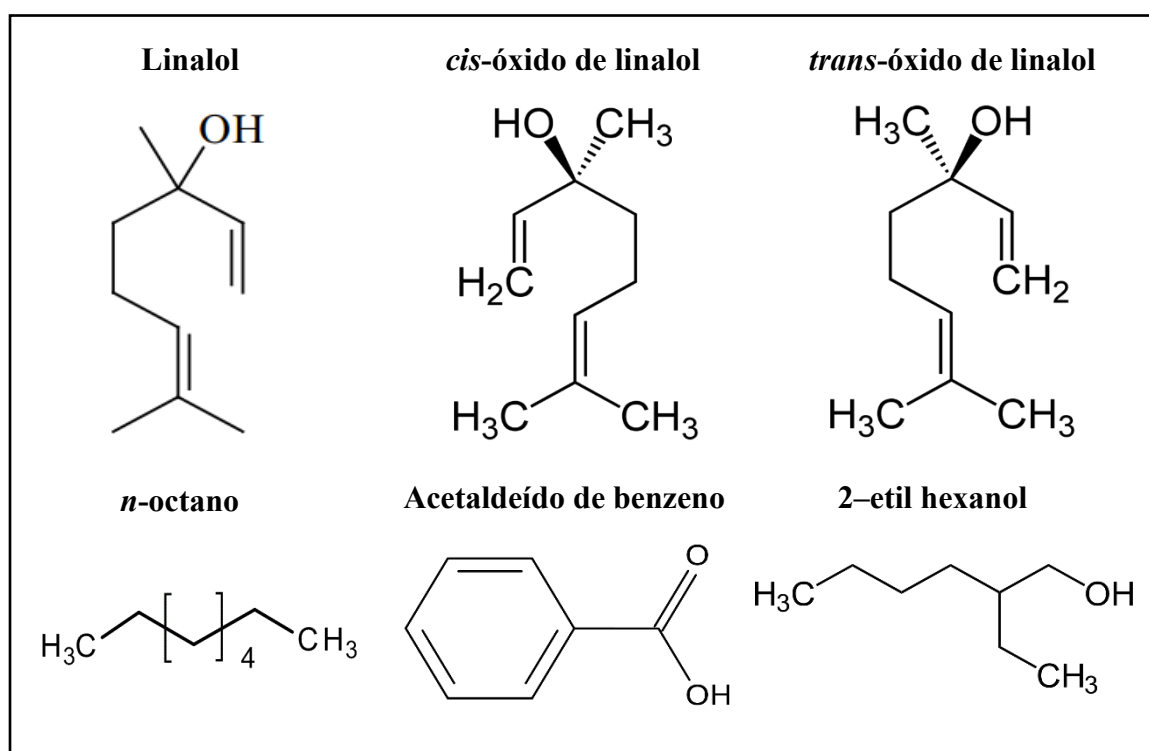
Em trabalhos apresentados por CASTRO-VÁZQUEZ et al (2006 a, b, 2007, 2010) demonstraram a relação direta da elevada concentração de terpenos, proveniente de flores cítricas, como o linalol, principalmente, e seus derivados em 80% dos méis analisados com sabor e aroma cítricos na Espanha. Os autores destacam com isso em suas pesquisas que não há, necessariamente, uma relação direta da importância sensorial dos compostos voláteis minoritários e de suas concentrações baixas no mel. Compostos voláteis majoritários e de elevadas concentrações podem ser igualmente determinantes para as características organolépticas do aroma e sabor do mel de abelhas, associados a suas espécies e características geográficas onde se encontram.

Os compostos, *n*-octano, linalol, óxido de *cis*-linalol, acetaldeído de benzeno e benzaldeído estão entre as substâncias mais amplamente distribuídas no reino vegetal como consta, por exemplo, nas espécies *Hipericum tomentosum*, *Melissa officinalis* L, *Cymbopogon citratus* DC, *Citrus* sp, *Acacia* sp. (acácia), *Anacardium*

occidentale e *Croton* sp. Esses compostos podem estar presentes no nectar das flores ou ainda como resultado de possíveis transformações bioquímicas enzimáticas devido o ambiente oxidante dos favos nas colmeias durante a produção e estocagem do mel pelas abelhas (DE MARIA et al, 2003, 2005).

Os isômeros *cis* e *trans* óxidos de linalol que advêm do 6,7-linalol via epoxilinalol, por exemplo, são óxidos que ocorrem naturalmente no mel em detrimento de certas condições físico-químicas ocasionados pelo habitat onde a colmeia se encontra. Dentre elas, a variação da temperatura, umidade, acidez e ação enzimática secretada pelas abelhas, provavelmente a hidroxilase, o que aumenta significativamente a concentração desses compostos por meio da degradação oxidativa do linalol. A clivagem das ligações glicosídicas dos açúcares no mel pode ser outra alternativa na produção desses compostos (BECK et al, 2016).

Figura 11 - Estruturas químicas majoritárias encontradas nas amostras de méis de *M. s. merrillae* e *M. interrupta* analisadas por CG-MS



Fonte: Silva (2017).

No entanto, a concentração desses óxidos pode artificialmente aumentar conforme as condições de armazenamento e tempo de estocagem do mel (DE MARIA 2003, 2005). Essa última opção, não se remete a nossa pesquisa, visto que os méis

coletados extraídos diretamente dos favos nas colmeias foram em seguida analisados por CG-MS.

Vale ressaltar que os méis, comumente comercializados pelos microprodutores rurais em todo o norte do Brasil como importante fonte de renda familiar, das duas espécies de *Meliponas* estudadas, são apreciados pelos seus distintos sabores e propriedades terapêuticas. A etnomedicina amazonense, utiliza os méis *in natura* no alívio de dores de garganta e inflamações proveniente de infecções como gripes e resfriados, conforme constatamos *in loco*. Curiosamente, muitas espécies de plantas produtoras de linalol e de seus derivados são utilizadas pela aromaterapia e pela medicina tradicional no alívio de diversos sintomas e enfermidades (BATISTA et al, 2010).

O linalol, o composto de maior concentração em todas as amostras de méis analisadas, apresenta na literatura uma variedade de atividades farmacológicas que justificam o uso do mel pela etnomedicina da Mesorregião Amazonense para fins terapêuticos, além do alimentício. Dentre tais atividades a antimicrobiana e antiinflamatória (BEIER et al, 2014; HUO et al, 2013). Esse monoterpene destaca-se ainda por apresentar atividade leishmanicida, indutor de apoptose na citotoxicidade em células de câncer em cólon retal, antioxidante, com efeitos cardiovasculares e neuroprotetor dentre outras propriedades. O efeito neuroprotetor foi atribuído em neuropatologias como mal de Alzheimer com resultados promissores *in vivo* em cobaias de laboratório (ANJOS et al, 2013; BURT, S, 2004; CELIK e OZKAYA, 2002; IWASAKI et al, 2016, SABOGAL-GUÁQUETA et al, 2017; WU et al, 2014).

O hidrocarboneto linear *n*-octano apresentou uma diferença na porcentagem relativa somada em todas as amostras de 16,38 % no mel da espécie *M. interrupta* de Uruará frente aos 7,22 % de Itacoatiara, e de 4,4 % para a espécie *M.s. merrillae*. Já o composto acetaldeído de benzeno, derivado do benzeno, geralmente encontrado no óleo essencial de laranja e lima (CASTRO-VAZQUEZ, 2007), foi detectado em todas as amostras do meliponário do município de Itacoatiara com uma diferença na porcentagem relativa de 21,05 % acima do terpenóide *trans* óxido de linalol. Em relação ao meliponário de Uruará, onde esse composto foi detectado apenas para a espécie *M. s. merrillae* no mês de setembro com 2,45 %, esse composto aromático obteve uma porcentagem relativa total de 57,17 % nas amostras dos méis de ambas as espécies de melíponas em Itacoatiara, o que pode indicar a preferência meliponícola entre as espécies de abelhas (Tabela 10).

O álcool 2-etil hexanol presente nos méis de ambas espécies de *melíponas* foi detectado apenas no mes de setembro nos meliponários, destacando-se em sua porcentagem relativa apenas para a espécie *M. interrupta* (21,58 %) em Urucará. Tanto o álcool supracitado quanto o hidrocarboneto *n*-octano são compostos voláteis atrativos de abelhas que aumentam a interação entre planta e o polinizador. Suas concentrações, no entanto, podem ser expressivamente elevadas conforme a influência do microbioma presente no nectar das flores, como fungos e bactérias, responsáveis diretos pela biossíntese desses compostos e não, necessariamente, advindos do óleo essencial das flores (BECK et al, 2016, 2017; JAKOBSEN et al, 1995, MANYI-LOH et al, 2011; RERING et al, 2017).

Com base nos resultados obtidos e das considerações apresentadas faz-se necessário ampliar esse estudo por meio da multidisciplinaridade entre as ciências afins como química, bioquímica e biologia certificando-se quanto a real fonte da produção via biossíntese desses compostos voláteis presentes no mel dessas abelhas. O néctar das flores, fonte igualmente importante de compostos voláteis para aromas específicos de méis, torna necessária sua análise química para a identificação da origem floral desses compostos.

4 CONCLUSÃO

A determinação de compostos voláteis em méis permite indicar a preferência meliponícola das abelhas de uma dada região auxiliando na padronização e controle de qualidade do produto. Evita possíveis fraudes para a sua comercialização, certifica a credibilidade e valoriza o produto dos meliponicultores rurais, aumentando com isso a renda familiar e fixando o homem no campo.

Os resultados de nossa pesquisa destacaram os monoterpenos linalol e seus derivados *cis* e *trans* óxidos de linalol, assim como o hidrocarboneto linear *n*-octano como produtos voláteis majoritários nos méis de ambos os meliponários estudados. Entretanto, apenas no meliponário de Itacoatiara o composto acetaldeído de benzeno, comumente encontrado no óleo essencial da laranja, fez-se presente em todas as amostras analisadas. O mel da espécie *M. interrupta*, de Urucará, no entanto, foi o mais rico em tipos de compostos voláteis. Os terpenos supracitados presentes majoritariamente e, em concentração porcentual nas amostras analisadas, apontam como sendo méis com aroma e sabor cítricos. Os compostos acima citados são

possíveis candidatos a marcadores químicos de suas origens meliponícolas. No entanto, estudos adicionais são necessários para a caracterização do aroma bem como a identificação da origem floral para os méis da região estudada.

5 AGRADECIMENTOS

Dos inúmeros escândalos de peculato que impunes assolam e solapam covardemente a educação e a ciência da pátria brasileira, os autores agradecem de todo o coração a confiança depositada dos meliponicultores na seriedade do trabalho realizado. Sem o imprescindível apoio logístico de nossa estadia em suas comunidades, repleta de solidariedade, o caminho percorrido teria sido muito mais árduo diante dos poucos recursos que dispunhamos para essa pesquisa. Agradecemos o apoio financeiro cedido pela UFAM- Pró-Reitoria de Extensão - PROEXT - por meio do Projeto de Extensão PACE 171/2016-2 - Decisão nº 569/2018. Agradecemos ainda a Prof^a. Dr^a. Favízia F. de Oliveira da UFBA pelo exemplo inspirador de profissionalismo, dedicação ao ensino e amor à ciência pela pronta identificação das espécies de melíponas, bem como os demais profissionais envolvidos nesse artigo. Por amor a Pátria, seguimos resistindo!

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P.; **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**, Carol Stream: Illinois, 2007.

ALISSANDRAKIS et al. Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 85, 91-97, 2005.

ALISSANDRAKIS et al. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic–mass spectrometric analysis. **Food Chemistry**. 100, 396-404, 2007.

ANJOS P.J. et al. Cardiovascular effects induced by linalool in normotensive and hypertensive rats. **Z Naturforsch C**. 68,181–190, 2013.

BARONI et al. Determination of volatile organic compound patterns characteristic of five unifloral honey by solidphase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry coupled to chemometrics. **Journal Agriculture Food Chemistry**. 54, 7235–41, 2006.

BATISTA et al. Subunit composition of *Rhodothermus marinus* complex I. **Analytical Biochemistry**. 407, 104–110, 2010.

BECK J.J.; VANNETTE R.L. Harnessing insect–microbe chemical communications to control insect pests of agricultural systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 65, 23–28, 2017.

BECK J.J. et al. Differentiation of volatile profiles from stockpiled almonds at varying relative humidity levels using benchtop and portable GC MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 64, 9286–9292, 2016.

BEIER R.C. et al. Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: effects on poultry. **Poult Science**. 93, 267–272, 2014.

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

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. **International Journal of Food Microbiology**. 94, 223-253, 2004.

CARVALHO, C.A.L. et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Série Meliponicultura. 1ª edição, Insecta – Núcleo de Estudos dos Insetos, Cruz das Almas, Bahia, 2005.

CARVALHO, M.C. et al. Identification of honey yeast species based on RFLP analyses of the ITS region, **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, 1, 11-17, 2006.

CARVALHO-ZILSE, G. A. et al. **Meliponicultura: perguntas mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão** – I. Cruz das Almas: Nova civilização, 2011.

CARVALHO-ZILSE, G.A. Produção de polinizadores para a agricultura na Amazônia. In: NODA, H.; SOUZA, L.A.G.; SILVA FILHO, D.F. **Pesquisas agronômicas para a agricultura sustentável na Amazônia Central**. Núcleo de Estudos Rurais e Urbanos Amazônico/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. (Ed.). Manaus, Amazonas, 2013

CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavernder honey (*Lavandula latifolia*). **Food Control**, v. 37, p. 362-370, 2014.

CASTRO-VÁZQUEZ et al. Volatile composition and contribution to the aroma of Spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. **Journal Agriculture Food Chemistry**. 54, 4809-4813, 2006a.

CASTRO-VÁZQUEZ et al. Analysis of volatile compounds of Eucalyptus honey by solid phase extraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. **Eur. Food Res. Technol.** 224, 27-31, 2006b.

CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M.C.; PÉREZ-COELLO, M.S. Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. **Food Chemistry**. 103, 601-606, 2007.

CASTRO-VÁZQUEZ et al. Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. **Food Research International**. 43, 2335-2340, 2010.

CELIK S.; OZKAYA A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. **J Biochem Mol Biol**. 35, 547–552, 2002.

CHUTTONG, B. et al. Physicochemical Profiles of Stingless Bee (Apidae: Meliponini) Honey from South East Asia (Thailand), **Food Chemistry**. v. 192, p. 149-155, 2016.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Compostos voláteis em méis florais. **Química Nova**, v. 26, p. 90-96, 2003.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, 20, 13, 2005.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A.; TRUGO, L.C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química nova**, 22, 209-217, 1999.

ESSEN, J.; KAISLING, K. E. Zahl und Verteilung antennaler Sensillen bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). **Zoomorphology**. 83, 227–251, 1976.

HUO et al. Antiinflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. **Journal of Surgical Research**. 180, 47–54, 2013.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Gráficos de chuva**. Brasília, 2018. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/mesTempo>>. Acessado em 13/02/2018.

IWASAKI D, et al. The MRX Complex Ensures NHEJ Fidelity through Multiple Pathways Including Xrs2-FHA-Dependent Tel1 Activation. **PLoS Genet**.12, 3, 2016. (doi: 10.1371/jp.05942).

JAKOBSEN et al. Can social bees be influenced to choose a specific feeding station by adding the scent of the station to the hive air? **Journal of Chemical Ecology**. 21, 1635-1648, 1995.

JERKOVIC et al. Headspace, volatile and semi-volatile patterns of *Paliurus spina-christ* unifloral honey as markers of botanical origin. **Food Chemistry**. 112, 239-245, 2009.

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

MANYI-LOH E.C, NDIP R.N, CLARKE M.A. Volatile compounds in Honey: A review on their involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. **International Journal of Molecular Sciences**.12, 9514-9532, 2011.

MICHENER, C. The Meliponini. In Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees. **New York: Springer**. 1–18, 2013.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445 p.

RAVAIANO, S. V. **Sensilas antenais de *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae: *Meliponini*): estudo comparado entre machos e fêmeas e entre diferentes castas**. Viçosa. 2012, 52 p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Viçosa.

RERING et al. Nectar-inhabiting microorganisms influence nectar volatile composition and attractiveness to a generalist pollinator. **New Phytol**. 2017. doi: 10.1111/nph.14809.

SABOGAL-GUÁQUETA A.M, E. O, CARDONA-GÓMEZ, G. P. Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. **Neuropharmacology**.102, 111-120, 2017.

SEISONEN et al. Characterisation of the aroma profiles of honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. **Food Chemistry**, v. 169, p. 34-40, 2015.

SILVA et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **J. Therm Anal Calorim**. 114, 535-358, 2013.

SILVA, Mikail Queiroz da. **Produção de Tabelas e figuras dos méis coletados nos períodos seco e chuvoso**. Itacoatiara,AM; Uruará, 2017. 3 tabelas.

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

SILVA et al. Comparative analysis of the volatile composition of honeys from Brazilian stingless bees by static headspace GC-MS. **Food Research International**, in press. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.036>

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

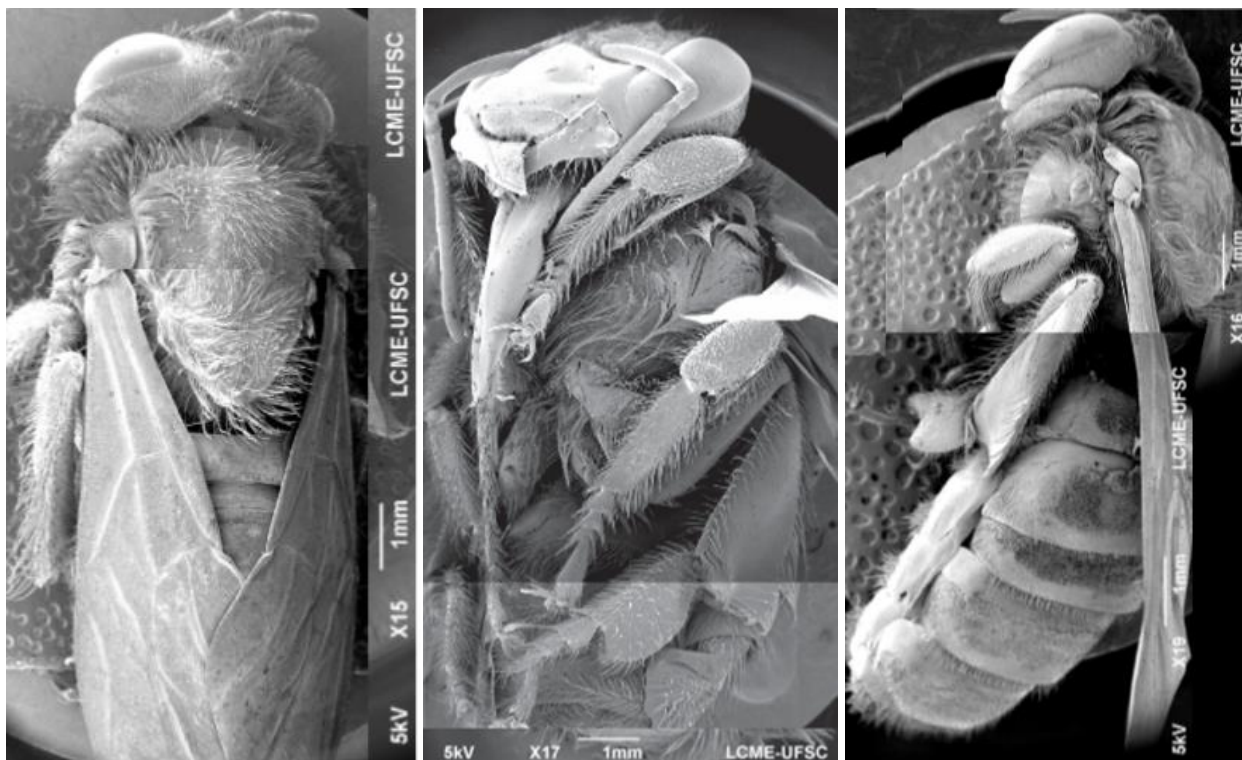
VERZERA, A. et al. Chiral volatile compounds for the determination of orange honey authenticity. **Food Control**. v. 39, p. 237-243, 2014.

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

WU et al. Linalool attenuates lung inflammation induced by *Pasteurella multocida* via activating Nrf-2 signaling pathway. **International Immunopharmacol.** 21,456–463, 2014.

APÊNDICE A

Micrografia eletrônica de varredura da abelha sem ferrão jandaíra (*M. s. merrillae*) de meliponários do município de Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.



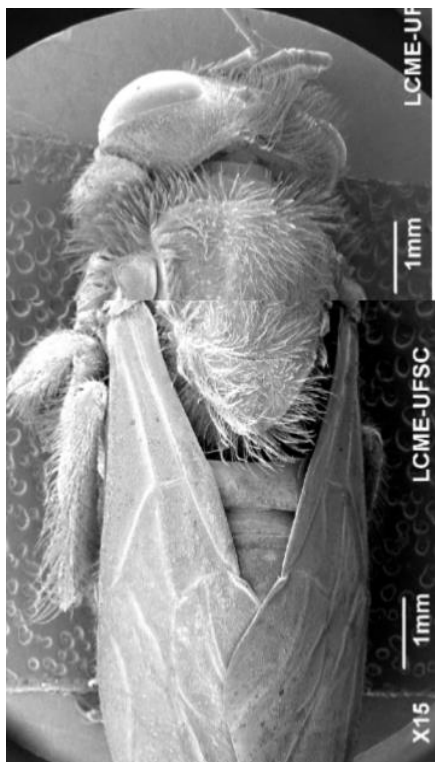
Vista dorsal

Vista ventral

Vista lateral

APÊNDICE B

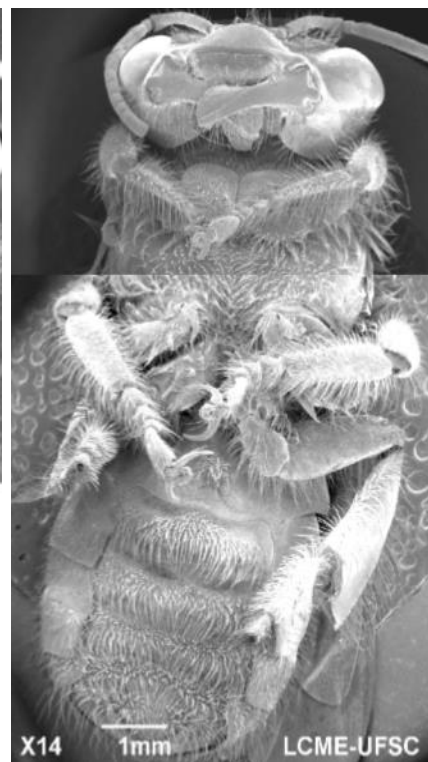
Micrografia eletrônica de varredura da abelha sem ferrão jupará (*M. interrupta* Latreille) de meliponários do município de Itacoatiara (SJA), Amazonas, Brasil.



Vista dorsal



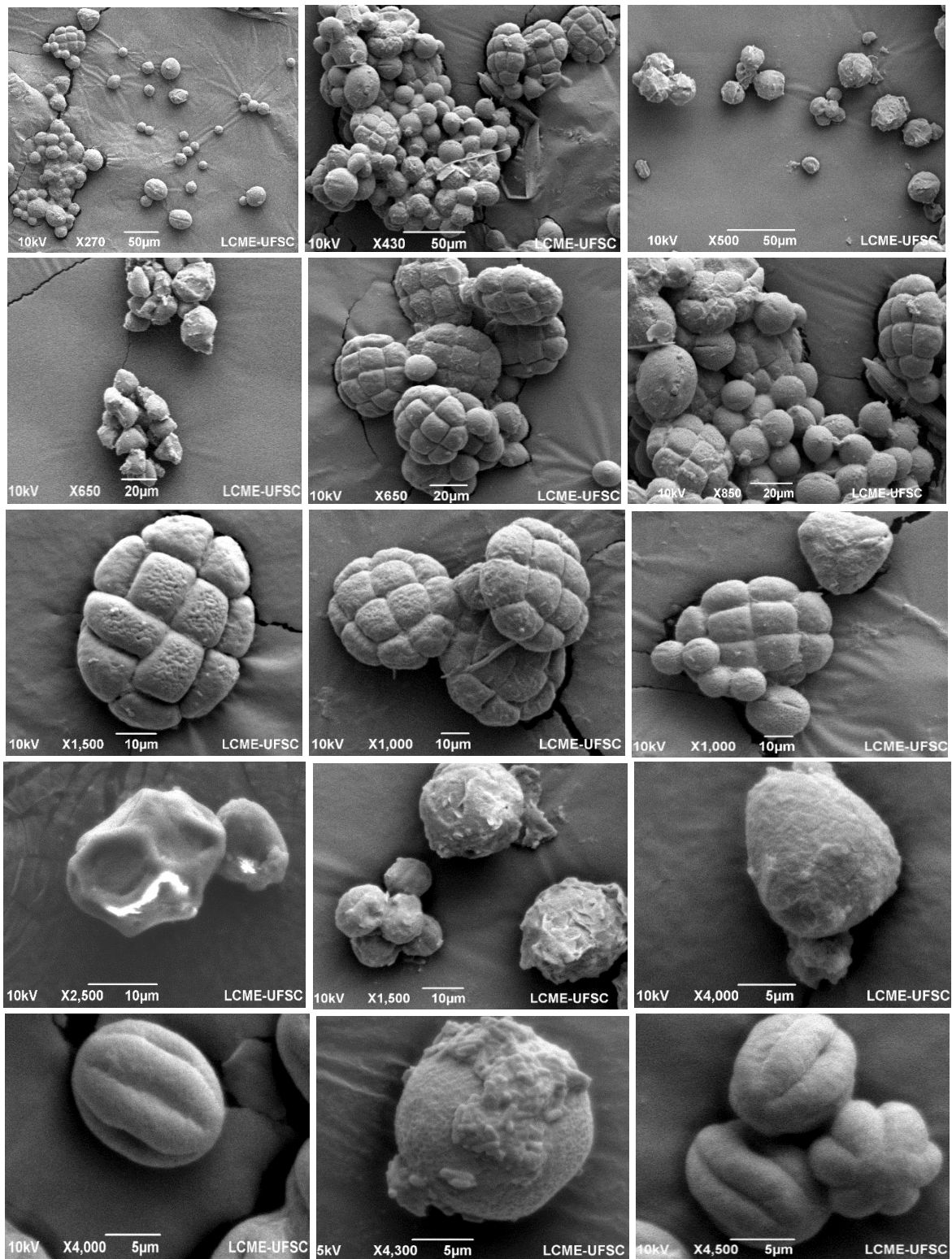
Vista lateral



Vista ventral

APÊNDICE C

Micrografia eletrônica de varredura dos grãos de pólen das amostras de méis analisadas nos meliponários da mesorregião Amazônica-Am, Brasil.



ANEXO A

Índices de umidade conforme equivalência da tabela de Chataway.

Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %
1,5044	13,0	1,4961	16,2	1,4880	19,4	1,4800	22,6
1,5038	13,2	1,4956	16,4	1,4875	19,6	1,4795	22,8
1,5033	13,4	1,4951	16,6	1,4870	19,8	1,4790	23,0
1,5028	13,6	1,4946	16,8	1,4865	20,0	1,4785	23,2
1,5023	13,8	1,4940	17,0	1,4860	20,2	1,4780	23,4
1,5018	14,0	1,4935	17,2	1,4855	20,4	1,4775	23,6
1,5012	14,2	1,4930	17,4	1,4850	20,6	1,4770	23,8
1,5007	14,4	1,4925	17,6	1,4845	20,8	1,4765	24,0
1,5002	14,6	1,4920	17,8	1,4840	21,0	1,4760	24,2
1,4997	14,8	1,4915	18,0	1,4835	21,2	1,4755	24,4
1,4992	15,0	1,4910	18,2	1,4830	21,4	1,4750	24,6
1,4987	15,2	1,4905	18,4	1,4825	21,6	1,4745	24,8
1,4982	15,4	1,4900	18,6	1,4820	21,8	1,4740	25,0
1,4976	15,6	1,4895	18,8	1,4815	22,0	-	-
1,4971	15,8	1,4890	19,0	1,4810	22,2	-	-
1,4966	16,0	1,4885	19,2	1,4805	22,4	-	-

Nota: na correção do índice de refração para temperatura diferente de 20 °C:

- Adicione 0,00023 ao índice de refração para cada grau acima de 20 °C, antes de usar a Tabela Chataway.
- Subtraia 0,00023 do índice de refração para cada grau abaixo de 20 °C antes de usar a Tabela Chataway.