



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



Composição química e atividade antioxidante de cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta* (Apidae:Meliponini) na região do município de Parintins

CARLOS ALEXANDRE GÓES FARIAS

MANAUS-AMAZONAS

Agosto, 2019

CARLOS ALEXANDRE GÓES FARIAS

Composição química e atividade antioxidante de cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta* (Apidae:Meliponini) na região do município de Parintins

Orientador: Carlos Victor Lamarão Pereira, Dr.

Co-orientador: Tiago Viana da Costa, Dr

Roseane Pinto Martins de Oliveira , Dra.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - PPGCAN da Universidade Federal do Amazonas - UFAM como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

MANAUS-AMAZONAS

Agosto, 2019

CARLOS ALEXANDRE GÓES FARIAS

Composição química e atividade antioxidante de cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta* (Apidae:Meliponini) na região do município de Parintins



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No dia 28 de agosto de 2019, às 14:00 horas, na Sala de Aula do PPGCAN, 2º Andar do Bloco da Pós-Graduação FCA/ICB, Setor Sul do Campus Universitário da UFAM, Manaus/AM, Carlos Alexandre Góes Farias, realizou a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Composição química e atividade antioxidante de cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta* (Apidae: Meliponini) na região do município de Parintins-AM".

Banca Examinadora:

Membros	Parecer	Assinatura
Dr. Carlos Victor Lamarão Pereira (UFAM) – Presidente	Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado ()	
Dra. Roseane Pinto Martins de Oliveira (UFAM) – Membro	Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado ()	
Dra. Cláudia Cândida Silva (UEA) – Membro	Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado ()	

Manaus, 28 de agosto de 2019

Resultado Final: Aprovado ()
Reprovado ()

Ficha Catalográfica

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

F224c Farias, Carlos Alexandre Góes
Composição química e atividade antioxidante de cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta* (Apidae : Mliponini) na região do município de Parintins - AM / Carlos Alexandre Góes Farias. 2019
68 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Carlos Victor Lamarão Pereira
Coorientador: Tiago Viana da Costa
Coorientador: Roseane Pinto Martins de Oliveira
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Composição físico química. 2. Composição inorgânica. 3. Palinologia. 4. Meio ambiente. I. Pereira, Carlos Victor Lamarão II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir todos os dias a dádiva da vida, por escutar minhas preces, meus lamentos e nunca me desamparar. Tua sabedoria é justa, e só o teu caminho é a verdade e a vida;

À minha querida esposa e filho, que apoiaram e sempre impulsionaram com palavras de carinho, conforto e incentivo;

Aos meus familiares, meus pais e ao meu irmão que promoveram esse despertar para o estudo desde minha infância e nesta fase por terem sido apoio sempre presente;

Aos meus amigos, que nesta fase da vida foram verdadeiros irmãos, agradeço em especial aos amigos Davi e Vanessa Galúcio (Júlia, Jonathas e Magaly) pelo companheirismo e parceria, aos amigos Fernando Ramírez, Abmael Sicsú e Francisca (tia Kika), Elmer Lessa pela parceria e incentivo ao estudo como ferramenta de verdadeiras mudanças, enfim á todos que tem essa missão de serem irmãos na vida;

Aos parceiros Adilson, Antonio, Adson e esposa, Adeilson (Mundico), Raimundo Nonato, por cederem seus melipnários para a coleta das amostras e pela gentileza com que me receberam e por singelamente mostrarem a simplicidade de suas vidas compartilhando momentos inesquecíveis de aprendizado;

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal que compartilharam estes anos de estudo e a amizade que foi construída;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, pela disponibilização de recurso financeiro para o projeto da dissertação;

Ao orientador, Dr. Carlos Victor Lamarão Pereira, que foi extremamente compreensivo às minhas dificuldades e problemáticas que surgiram durante esse período;

Aos co-orientadores Dra. Roseane Pinto Martins Oliveira e Dr. Tiago Viana da Costa por aceitarem o desafio proposto nesse trabalho e por serem parceiros na mesma;

Às pessoas que conheci nessa trajetória, das quais lembrarei e serei sempre grato: Rodolfo Moura, Rodney, Marcos Ferreira, Aline Rezende, Aline Pontes, Maria Lúcia Absy, Professora Cláudia Cândida Silva, Professor Fábio.

Externo minha gratidão, sabendo que ao que for possível, estarei sempre disponível para agradece-los.

MEUS SINCEROS E ETERNOS AGRADECIMENTOS.

“A coragem é contagiosa. Quando um homem valente permanece firme, os outros também endurecem”.

Billy Graham

“Mudar é complicado, mas acomodar-se é perecer”.

Mário Sérgio Cortella

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização química e inorgânica por Fluorescência de Raios-x por Dispersão de Ondas (FRXDO), caracterização físico-química e atividade antioxidante do cerume, mel e pólen de *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille, 1811, coletados nos períodos da estação chuvosa e seca na região do município de Parintins, e identificar os grupos polínicos das amostras de pólen coletados em ambos os períodos. Na composição química inorgânica do cerume foram identificados 12 elementos no período chuvoso (**Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn e Ag**) e 11 no período seco (**Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn e Ag**), nas amostras de mel, foram detectados 12 elementos em ambos os períodos (**Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn e Ag**) e nas amostras de pólen foram detectados 11 elementos no período chuvoso (**Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe e Zn**) e nove no outro período (**Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca e Fe**). A composição físico-química teve variação para ambos os períodos, entretanto não em todos os parâmetros, sendo no cerume o teor de cinzas, no mel o percentual de proteína, lipídeos e cinzas e no pólen o teor umidade. A atividade antioxidante, ainda que os valores encontrados não sejam tão expressivos do ponto de vista biológico, foi detectada a influência pela sazonalidade, sendo que o cerume apresentou diferença em todos os métodos utilizados, o mel apenas no DPPH⁺ e o pólen nos métodos ABTS* e no teor de fenóis. Na análise palinológica foram identificados seis famílias polínicas nas amostras do período da estação da seca, sendo elas: Asteraceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae/Caesalpinioideae, Fabaceae/Faboideae, Fabaceae/Mimosoideae, Melastomataceae e Sapindaceae; e no período da estação chuvosa foram identificados nove famílias polínicas sendo: Apocynaceae, Arecaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae/Faboideae, Fabaceae/Mimosoideae, Melastomataceae, Myrtaceae, Sapindaceae e Sapotaceae.

Palavras-chave: composição físico química, composição inorgânica, palinologia e meio ambiente.

ABSTRACT

The present work aimed at the inorganic chemical characterization by X-ray Fluorescence by Wave Dispersion (WD-XRF), chemical physical characterization, antioxidant activity of the stingless beeswax, honey and pollen of *Melipona* (*Melikerria*) *interrupta* Latreille, 1811, collected during the rainy and dry season in the municipality of Parintins, and to identify the pollen groups of the pollen samples collected in both periods. In the inorganic chemical composition of the stingless beeswax were identified 12 elements in the rainy season (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn and Ag) and 11 in the dry period (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn and Ag), in honey samples, 12 elements were detected in both periods (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn and Ag) and in the pollen samples were detected 11 elements (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe and Zn) in the rainy season and nine in the other period (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca and Fe). The chemical physical composition had variation for both periods, however not in all parameters, being in the stingless beeswax: ashes; in honey: protein, lipids and ashes and in pollen: moisture. The antioxidant activity, although the values found were not as significant from a biological aspect, it has also detected the influence by seasonality, and the stingless beeswax present difference in all the methods, the honey only DPPH⁺ and pollen in the methods of ABTS* and the phenol content. In the palynological analysis, five pollen families were identified in the samples of the dry season: Asteraceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae / Caesalpinioideae, Fabaceae / Faboideae, Fabaceae / Mimosoideae, Melastomataceae and Sapindaceae; Nine pollen families were identified during the rainy season: Apocynaceae, Arecaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae / Faboideae, Fabaceae / Mimosoideae, Melastomataceae, Myrtaceae, Sapindaceae and Sapotaceae.

Keywords: chemical physical composition, inorganic composition, palynology and environment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Visão interna da colônia racional com ênfase no disco de cria de uma colônia de abelha sem ferrão <i>Melipona interrupta</i>	17
Figura 2. Colonia de abelhas sem ferrão dispostas em prateleiras em meliponário característico da região	19
Figura 3. Coleta do néctar na flor por abelha <i>M. interrupta</i> e mel produzido na prática da melipnicultura.	20
Figura 4. Abelha <i>Melipona interrupta</i> em flores de espécies botânicas em área de várzea.	23
Figura 5. Localização geográfica do município de Parintins, das comunidades e meliponários da área de estudo.	24
Figura 6 . Meliponários localizados nas comunidades Paraná de Parintins (a) e Paraná do Espírito Santo (b), em áreas de várzea no município de Parintins-AM.	24
Figura 7. Coleta de amostras de mel, diretamente nos potes desoperculados de <i>Melipona interrupta</i> .	25
Figura 8. Coleta de amostras de pólen nos potes de armazenamento de <i>Melipona interrupta</i> : retirada de toda a massa polínica.	26
Figura 9. Retirada das amostras de cerume de <i>M. interrupta</i> , a partir do envólucro (a) e de cerume dos discos de crias (b).	26
Figura 10. Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das amostras de cerume de <i>Melipona interrupta</i> : período seco (SE) e período Chuvoso (CH).	38
Figura 11 Análise dos componentes principais (PCA) para parâmetros observados nas amostras de cerume de <i>Melipona interrupta</i> , durante o período seco e período chuvoso.	39
Figura 12. Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das amostras de pólen de <i>Melipona interrupta</i> : período seco (SE) e período Chuvoso (CH).	40
Figura 13. Percentual de elementos químicos em amostras de cerume de <i>Melipona interrupta</i> em quatro meliponários: período seco (SE) e chuvoso(CH).	43
Figura 14. Percentual de elementos químicos em amostras de mel de <i>Melipona interrupta</i> em quatro meliponários: período seco(SE) e chuvoso(CH).	46
Figura 15. Percentual de elementos químicos em amostras de pólen de <i>Melipona interrupta</i> em quatro meliponários: período seco(SE) e chuvoso(CH).	47

Figura 16. Grãos de pólen representantes das famílias Asteraceae (A1 e A2), Malvaceae (B1 e B2) e Euphorbiaceae (C1-C4).	51
Figura 17. Grãos de pólen representantes das famílias Fabaceae/Caesalpinioidea (D1 e D2), Fabaceae/Faboidea (E1 e E2) e Fabaceae/Mimoidioidea (F1-G2).	52
Figura 18. Grãos de pólen representantes das famílias Melastomataceae (H1-H4) e Sapindaceae (I1-I4).	53
Figura 19. Grãos de pólen representantes das famílias Apocynaceae (J1 e J2) e Arecaceae (k1-k6).	54
Figura 20. Grãos de pólen representantes das famílias Malpighiaceae (L1 a L4) e Myrtaceae (M1-M4).	55
Figura 21. Grãos de pólen representantes das famílias Myrtaceae (M5 e M6), Sapotaceae (N1-N4) e Solanaceae (O1 e O2).	56
Figura 22. Grãos de pólen representativos da família Polygonaceae (P1 e P2) e da família Burseraceae (Q1 e Q2).	57

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1.</i> Solubilidade das amostras para o preparo de extratos para análise de antioxidantes.	30
<i>Tabela 2</i> Composição físico química de cerume, mel e pólen de <i>M. interrupta</i> coletado durante o período seco (janeiro a junho, 2018) e período chuvoso (julho a dezembro, 2017).	37
<i>Tabela 3.</i> Valores médios dos ensaios de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e Fenóis totais de cerume, mel e pólen de <i>M. interrupta</i> nos períodos de janeiro a junho (P. chuvoso) e julho a dezembro (P. seco).	42
<i>Tabela 4.</i> Famílias botânicas identificadas em amostras de pólen estocado por <i>M. interrupta</i> durante o período seco (julho a dezembro de 2017) e período chuvoso (janeiro a junho de 2018), nas duas áreas de coleta.	48

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Objetivos	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3. Revisão bibliográfica.....	16
3.1 As abelhas sem ferrão (<i>Melipona interrupta</i>)	16
3.2 A meliponicultura.....	18
3.3 Produtos das abelhas sem ferrão	19
3.4. Composição físico química dos produtos da abelhas sem ferrão	20
3.5 Atividade antioxidante de produtos das abelhas sem ferrão	20
3.6 Composição inorgânica dos produtos da abelhas sem ferrão	21
3.7 Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda	21
3.8 Palinologia na meliponicultura	22
4. Materiais e métodos	23
4.1 Local de desenvolvimento do estudo.....	24
4.2 Coleta das amostras de mel.....	25
4.3 Coleta das amostras de pólen.....	26
4.4 Coleta das amostras de cerume.....	26
4.5 Análise físico-química.....	27
4.5.1 Proteína bruta.....	27
4.6.2 Cinzas.....	27
4.6.3 Lipídeos.....	28
4.6.4 Umidade.....	28
4.6.5 Carboidratos totais	29
4.6.6 Valor energético.....	29
4.7 Análise de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda (FRXDO)	29
4.8 Análise palinológica.....	29
4.9 Análise de antioxidantes.....	30
4.9.1 Teste de solubilidade das amostras	30
4.9.2 ABTS*	30
4.9.3 DPPH+	31
4.9.4 Fenóis totais	31

5	Resultados e discussão.....	32
5.1	Composição físico-química.....	32
5.2	Atividade Antioxidante	39
5.3	Composição química inorgânica por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda (FRXDO)	42
5.4	Análise Palinológica.....	46
6.	Conclusões	57
	Referências	58

1. Introdução

As abelhas sem ferrão são insetos sociais que habitam as regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, seus ninhos são encontrados em ocos de árvores onde encontram abrigo e proteção contra inimigos naturais. As abelhas sem ferrão (Apidae : Meliponini), com mais de 500 espécies, principalmente em áreas tropicais (MICHENER, 2000, 2013), onde Nogueira-Neto (1997), relata a existência destas abelhas em países como a Austrália, na sua parte ao norte, no Sul da Índia, no sopé do Himalaia, no Norte Índia, o Sudeste da Ásia e o Sul da China, sendo a Amazônia o local mais rico do mundo em termos de números de espécies de abelhas nativas sem ferrão, com mais de 200 espécies segundo Alonso (1998).

O uso dessas abelhas de forma racional é conhecido como “Meliponicultura”, termo este proposto por Paulo Nogueira Neto em 1953, e que nos últimos anos tem despertado interesse devido ao seu fácil manejo e produção de mel com características sensoriais e organolépticas próprias, conferindo-lhe preços comerciais atrativos. As abelhas sem ferrão são também as polinizadoras primárias de 30-90% das árvores existentes na região amazônica (KERR *et al.*, 2001), sendo imprescindíveis para a reprodução das plantas e conseqüentemente para uma produção sustentável. Na maioria das espécies de abelhas, os recursos alimentares finais são pólen e néctar que respectivamente fornecem proteínas para o desenvolvimento dos indivíduos, principalmente das larvas, e carboidratos como fonte de energia, principalmente para os adultos (MICHENER, 1974).

Muitas tecnologias estão sendo desenvolvidas para o fortalecimento da meliponicultura na agricultura como uma real fonte de renda. Apesar disso, é uma atividade praticada secularmente pelas populações locais de maneira tradicional e nem sempre visando a obtenção de lucro (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006, Carvalho-Zilse e Nunes-Silva 2012).

Segundo o Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas – IDAM no seu Relatório de Acompanhamento do Período de janeiro a setembro do ano de 2017, a meliponicultura movimentou cerca de R\$ 22.684,05 com 704 criadores que somam mais de 13 mil colônias, tendo na região do Baixo Amazonas, o município Parintins como terceiro em número de colônias com aproximadamente 900 colônias.

Estas abelhas se destacam na Amazônia Central por terem grande importância ecológica como polinizadoras e dispersoras de sementes (BACELAR-LIMA *et al.*, 2006), bem como terem seus produtos utilizados na alimentação, na medicina popular e complementação da renda familiar. Pouco se sabe a respeito das propriedades funcionais, terapêuticas e nutracêuticas dos produtos destas abelhas, onde tem-se o mel, a geoprópolis, o cerume e o pólen como seus

principais produtos de mercado. Macedo (2007), destaca que os méis de abelhas sem ferrão e muitas de suas atribuições carecem de comprovação científica.

Por tanto, o presente trabalho objetivou caracterizar a composição físico química, química inorgânica e a atividade antioxidante dos produtos da abelha *Melipona interrupta* na região do município de Parintins Amazonas.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Caracterizar a composição físico química, inorgânica e atividade antioxidante do cerume, mel e pólen de *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille, 1811

2.2 Objetivos específicos

Determinar a capacidade antioxidante, composição físico química e inorgânico do cerume, mel e pólen em períodos distintos caracterizados pelos ciclos climáticos: período seco (julho a dezembro) e período chuvoso (janeiro a julho);

Descrever a flora palinológica de ambos períodos do estudo quanto a sua origem botânica, bem como suas implicações para sua caracterização

Analisar as correlações e interações dos dados das composições físico química, inorgânica e atividade antioxidante.

3. Revisão bibliográfica

3.1 As abelhas sem ferrão (*Melipona interrupta*)

Distribuídos em toda região tropical do globo, incluindo a bacia Amazônica, os meliponíneos são considerados importantes polinizadores em variados ecossistemas, visto que visitam uma ampla diversidade de espécies de plantas, sendo, por isso, chamados de generalistas (SOUSA, *et al.*, 2007; IMPERATRIZ-FONSECA & NUNES-SILVA,2010;FREITAS & NOVAIS, 2014).

As abelhas nativas sem ferrão são conhecidas como meliponíneos, insetos da Ordem Hymenoptera, e existem aproximadamente 500 espécies desses animais nas regiões

neotropicais (CAMARGO E PEDRO 2013). As abelhas sem ferrão ocorrem nos trópicos e subtropicais do mundo (MICHENER, 1974), tendo no Brasil 242 espécies descritas em 29 gêneros com possibilidade deste número estar subestimado (MICHENER, 2000; MICHENER, 2013; CAMARGO e PEDRO, 2013; PEDRO, 2014), são abelhas sociais, ou seja, vivem em colônias organizadas em castas (rainha, fêmeas operárias e machos reprodutores – zangões) (NOGUEIRA-NETO 1997; PRONÍ 2000). Villas Boas (2012) notificou que são descritos aproximadamente 400 tipos de abelhas sem ferrão nas Américas, que por sua vez, é a região de maior diversidade de espécie no planeta, não sendo, portanto, exclusivas dessa região, estas ocupam outros lugares de clima tropical e temperado subtropical em menor diversidade, como África, Sudeste Asiático e Norte da Austrália. Segundo Silveira *et al.* (2002), existe uma pequena diversidade de meliponíneos em ambientes campestres mais frios, e este autor atribui este fato, em parte, à escassez das árvores com ocos das quais a maioria das espécies desse grupo nidificam. No Brasil, as Abelhas sem ferrão - ASF são nativas, tendo ocorrência em todo o território nacional (Witter & Nunes-Silva, 2014). Na natureza as colônias de ASF são encontradas em troncos de árvores vivas ou mortas. São consideradas eussociais por viverem em sociedade como muitos outros insetos, onde as colônias são bem estruturadas, com divisão de trabalho em castas (COLLETO-SILVA, 2005).

Estes insetos possuem uma das funções mais importantes para a manutenção da vida no planeta: a polinização. Estima-se que cerca de 90% das espécies botânicas da floresta nativa dependam deste serviço (CarvalhoZilse 2013; Oliveira *et al.* 2013), e no Brasil cerca 40 a 90% da polinização das árvores nativas, sejam as abelhas sem ferrão responsáveis, sendo o restante, 60 a 10%, é polinizada por outros animais como as abelhas solitárias, abelhas africanizadas, borboletas, coleópteros, morcegos entre outros pequenos mamíferos e aves, além de outros mecanismos como a água, vento, e o homem (KERR *et al.*, 1996). Na Amazônia, as abelhas sem ferrão são polinizadoras primárias de 30-90% das árvores existentes na região e, nos ambientes tropicais, esse valor giraem torno de 40 a 90% da polinização das espécies silvestres, o que ressalta a importância da diversificação da polinização das abelhas sem ferrão (MARQUES-SOUZA, 2010; KERR *et al.*, 1996).

A abelha *Melipona* (*Melikerria*) *interrupta* Latreille, 1811, é nativa da Amazônia brasileira, de ocorrência em todo o território, sendo a bacia Amazônica a área de maior diversidade. *Melipona interrupta* é comumente conhecida como “Jupará” ou “Jandaíra-preta-da-Amazônia” (KERR *et al.* 2001; MICHENER, 2007).



Figura 1. Visão interna da colônia racional com ênfase no disco de cria de uma colônia de abelha sem ferrão *Melipona interrupta*

3.2 A meliponicultura

A meliponicultura é uma prática antiga desenvolvida pelo povo indígena antes mesmo da colonização do Brasil. Ao longo do tempo o conhecimento se difundiu, e passou a ser praticado de forma tradicional por pequenos e médios produtores como uma atividade econômica complementar (COLLETO-SILVA,2005). O termo meliponicultura foi utilizado pela primeira vez pelo pesquisador Paulo Nogueira Neto em 1953, o qual refere-se à criação de abelhas que possuem seu ferrão atrofiado, o que o impossibilita de usá-lo como defensivo, motivo pelo qual ficou conhecida popularmente como abelha sem ferrão (ASF) (NOGUEIRA NETO, 1997).

Em muitos países tropicais e subtropicais das Américas Central e do Sul, África e Oceania as espécies da subtribo Meliponina que são cultivadas na prática da meliponicultura, são conhecidas como: abelhas sem ferrão, abelhas indígenas, abelhas nativas, ou ainda, simplesmente por “meliponíneos” ou “melíponas” (SOUSA, *et al.*, 2009). Dentre as abelhas presentes no Brasil, as abelhas nativas sem ferrão, merecem destaques pela sua abundância e importância, sendo apreciadas e criadas em todo o país.

Diante dessas informações, ainda são pouco conhecidas e mais recentemente tem sido pesquisadas para fins de entendimento de sua biologia e os seus produtos tanto para fins alimentícios como para fármacos. A baixa produção aliada à falta de conhecimento sobre o manejo e o armazenamento dos produtos das colmeias são os pontos críticos desse comportamento (DUTRA, 2008).

De acordo com Kerr *et al.* (1996), no Brasil, muitas espécies de abelhas nativas, estão ameaçadas de extinção, em decorrência da ação antrópica, que modifica seus ambientes naturais, causado principalmente pelo desmatamento, uso excessivo de agrotóxico e pela ação predatória de extratistas conhecidos por “meleiros”.



Figura 2. Colonia de abelhas sem ferrão dispostas em prateleiras em meliponário característico da região

3.3 Produtos das abelhas sem ferrão

As abelhas são conhecidas principalmente pela produção de mel e pólen, sendo conhecidos popular e cientificamente como alimentos naturais que contribuem ao bem estar da saúde humana, sendo o mel um excelente substituto ao açúcar comum.

Segundo Ballivian *et al.*, (2008), o mel é o produto mais conhecido das abelhas (De Jong *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2013), contudo este não é o único, existem outros produtos oferecidos por estas, como o pólen, geoprópolis e cerume, sendo atrativos para a sua criação. Quanto ao aspecto econômico, os produtos dessas abelhas, o mel, o pólen e a geoprópolis, possuem elevado valor de mercado (BARTH, *et al.*, 1999; SILVA & PAZ, 2012). Além disso, as abelhas sem ferrão apresentam benefícios ecológicos sendo a polinização a de maior importância (BALLIVIAN *et al.*, 2008).

O cerume é uma mistura de cera pura e branca, secretada pelas abelhas, com o própolis que elas retiram dos eventuais ferimentos que algum acidente ou corte causou à uma árvore ou arbusto (Nogueira-Neto, 1997). O uso da cera de abelhas por povos indígenas, é relatado por Sampaio; Castro & Silva (2009), neste caso os referem-se etnia Pankararé, com especial referência ao uso doméstico e artesanal. Os mesmos autores citam o uso da cera da abelha sem ferrão *Frieseomelitta doederleini* Friese, 1900, sendo utilizada no artesanato, na confecção de velas,

instrumentos musicais, massa de calafetar e cola, constituindo prática cultural desta etnia indígena.



Figura 3. Coleta do néctar na flor por abelha *M. interupta* e mel produzido na pratica da melipnicultura.

3.4. Composição físico química dos produtos da abelhas sem ferrão

O mel pode ter sua composição determinada em decorrência de vários fatores, tais como: espécies colhidas (fontes vegetais), espécies de abelhas que produzem o mel, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, natureza do solo e condições meteorológicas (CRANE, 1985; PAMPLONA, 1994).

A composição bioquímica do pólen antes de ser processado no ninho varia de acordo com cada espécie de planta (ZUCOLOTO, 1994) e os fatores como idade e as condições nutricionais do vegetal de onde o pólen é obtido podem influenciar a sua composição (PORTELA & GALLEG0, 1999).

3.5 Atividade antioxidante de produtos das abelhas sem ferrão

O teor de polifenóis totais indica que o valor terapêutico do mel pode ser atribuído à presença dessas substâncias (OLIVEIRA, 2010; BIESAGA & PYRZYNKA, 2009) podendo ser encontrados flavonóis, flavonas, flavononas, ácidos benzóicos e cinâmicos. Os tipos de fenóis encontrados nos méis, bem como, sua concentração e suas propriedades antioxidantes estão relacionadas a fatores como a região, ciclos sazonais, origem botânica, clima e fatores ambientais intrínsecos, como umidade, temperatura e composição do solo (AL-MAMARY et al., 2002; SCHRAMM, et al., 2003; KUÇUC et al., 2007; BALTRUSAITYTE et al., 2007; VIURDA-MATOS et al., 2008),.

3.6 Composição inorgânica dos produtos da abelhas sem ferrão

Pouco se sabe a respeito da composição inorgânica dos produtos das abelhas sem ferrão, e as informações que mais se tem são a respeito do mel e do pólen. Biluca (2016), descreve a presença dos elementos Potássio (K), Sódio (Na), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), em amostras de mel de seis espécies abelhas do gênero *Melipona*. Araújo (2013), utilizando análise por ativação neutrônica instrumental, verificou os níveis, baseado no valores estabelecidos pela ANVISA, dos elementos Bromo (Br), Cálcio (Ca), Cobalto (Co), Césio (Cs), Ferro (Fe), Lantânio (La), Sódio (Na), Rubídio (Rb), Escândio (Sc) e Zinco (Zn) em méis de abelhas sem ferrão e em amostras de pólen os elementos , Bromo (Br), Cálcio (Ca), Cobalto (Co), Césio (Cs), Ferro (Fe), Potássio (K), Lantânio (La), Sódio (Na), Rubídio (Rb), Escândio (Sc), Selênio (Se) e Zinco (Zn) e nas próprias abelhas o Arsênio (As), Bromo (Br), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Césio (Cs), Ferro (Fe), Potássio (K), Lantânio (La), Sódio (Na), Rubídio (Rb), Antimônio (Sb), Escândio (Sc), Selênio (Se) e Zinco (Zn), este estudo demonstra o potencial nutracêutico do mel e pólen meliponícola e o potencial das abelhas nativas como ferramentas de avaliação da qualidade ambiental.

3.7 Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda

Esta técnica consiste numa excitação dos átomos de um material a ser analisado, na qual é preciso uma fonte de radiação de alta energia que promova tal fenômeno, onde o átomo tende absorver essa energia tornando-o mais energético. O átomo excitado retorna a seu estado fundamental naturalmente ocorrendo uma emissão da energia absorvida, sendo uma propriedade específica de cada elemento químico que foi identificado e quantificado (BECKHOFF et al., 2006).

Na fluorescência de raios-X, a detecção de cada fóton de energia liberado pela amostra, ocorre no ângulo de giro do detector, que gira em uma velocidade de $0,01^\circ$ por segundo com varredura total de 80° , onde a intensidade de cada radiação característica, é associada à quantidade do elemento químico no material (BECKHOFF et al., 2006).

Várias tem sido as aplicações de técnicas de fluorescência de raios-x, onde relata-se o seu uso na determinação desde moedas de tempos remotos da humanidade como por exemplo as moedas chinesas do imperador Ch'ien Lung e moedas Anamésicas do Imperador Thanh Thai (GAINES et al., 2002), espécies geoquímicas (GIAUQUE et al., 1977), na determinação de

paládio, ouro e enxofre em sistemas catalíticos (FIEDLER *et al.*, 2013) e até mesmo na área alimentícia onde de acordo com Garshott *et al.*, (2011), suplementos alimentares foram analisados para a presença dos metais pesados chumbo Pb, mercúrio Hg e arsênio As, sendo este último encontrado em algumas das amostras em níveis maiores que os indicados aos seres humanos.

No que tange aos objetivos do presente trabalho, Goldstein *et al.*, (1996), utilizando também uma técnica de Fluorescência de Raios-X, neste caso a por energia dispersiva, analisou solos em Los Alamos no Novo México, afirma que a técnica satisfaz os requisitos analíticos para o rastreamento de campo, e que esta técnica simples e rápida pode produzir análises elementares totalmente quantitativas para solos em estudos ambientais.

3.8 Palinologia na meliponicultura

Através da análise polínica é possível identificar as plantas utilizadas pelas abelhas, sendo de relevante importância o conhecimento da origem floral dos méis para a caracterização do produto. A identificação das plantas visitadas pelas abelhas também pode indicar as fontes adequadas de néctar e pólen, maximizando o seu aproveitamento em áreas de vegetação natural (MORETI *et al.*, 2000, ABSY *et al.*, 2013; FERREIRA & ABSY, 2017)

Essa grande diversidade morfológica é o objeto de estudo da palinologia (SILVEIRA, 1996). Por meio da identificação do pólen, pode-se, então, conhecer as fontes alimentares preferenciais, alternativas e casuais das espécies de abelhas. Isso é importante porque aponta todo o seu raio de atuação e possibilita reconhecer e catalogar a flora utilizada pelas abelhas em um determinado local. Por outro lado, oferece alternativas de utilização de recursos da flora silvestre pouco conhecida, permite o controle da origem floral e geográfica do mel, além de ser utilizada nos estudos de preferências florais, estratégias de comportamento de coleta e competição entre espécies de abelhas (IMPERATRIZ-FONSECA & KLEINERT-GIOVANNINI, 1993; OLIVEIRA & CASTRO, 1998)

Para a meliponicultura a palinologia oferece ainda o recurso de determinação da origem botânica do mel e geográfica, para tanto tem-se a melissopalínologia, e se baseia na presença de grãos de pólen da flora visitada pelas abelhas, na busca de recursos para a sua colônia (LOUVEAUX *et al.*, 1978; BARTH, 1989; ABSY *et al.*, 2018)

A identificação das fontes de pólen utilizadas pelas abelhas é feita diretamente por meio da análise das cargas contidas nas corbículas das operárias ou nos favos e potes onde esse

material é armazenado dentro do ninho, e a identificação das fontes de néctar é feita pela análise do pólen encontrado em amostras de mel (BARTH, 1989).

O estudo dos grãos de pólen de amostras de méis é de grande importância no controle de qualidade desse alimento, pois torna possível mapear sua procedência (botânica e geográfica), detectar adulterações, obter informações sobre a composição físico-química do mel e realizar sua classificação, como monofloral ou heterofloral, de acordo com os tipos de grãos de pólen presentes no mel (SANTOS JÚNIOR & SANTOS, 2002).

Para a região Amazônica, alguns estudos se destacaram, (SANTOS, 1991; ABSY & KERR, 1977; ABSY *et al.*, 1980/1984; MARQUES-SOUZA, 1993/1996/1999/2010; MARQUES-SOUZA *et al.*, 1995/1996/2002/2007; OLIVEIRA *et al.*, 2009; RECH & ABSY, 2011/2011; FERREIRA & ABSY, 2013, FERREIRA, 2014), por estudarem duas das principais espécies de abelhas sem ferrão exploradas na meliponicultura da região, uma delas a *Melipona interrupta*, mostrando, dessa maneira, um enorme potencial para domesticação e criação racional dessa abelha. O crescimento da Meliponicultura como atividade sustentável é iminente na Amazônia Central, com isso o estudo sobre hábito de coleta de recursos por Meliponini vem se tornando cada vez mais importante (ABSY *et al.*, 2013; Rezende *et al.*, 2018). Estudos palinológicos recentes, a partir de uma abordagem ecológica, tem revelado a importância de algumas famílias botânicas para a manutenção de abelhas sem ferrão em diversos ambientes na Amazônia, sobretudo na aplicação desse conhecimento da pastagem meliponícola da abelha *Melipona interrupta* (FERREIRA, 2014, FERREIRA & ABSY, 2013, 2015, 2017), destacando grupos de plantas com maior atratividade, como: Malastomataceae, Fabaceae, Anacardiaceae, Arecaceae, Solanaceae, Araliaceae, Euphorbiaceae, Myrtaceae, que atuam como plantas chaves na manutenção dessas abelhas, tanto em ambientes naturais como em locais de criação (ABSY *et al.*, 2018).



Figura 4. Abelha *Melipona interrupta* em flores de espécies botânicas em área de várzea.

4. Materiais e métodos

4.1 Local de desenvolvimento do estudo

O estudo foi realizado nas comunidades rurais do “Paraná de Parintins” latitude 02°32’38,2”S, longitude 56°31’22,6”W e “Paraná do Espírito Santo” latitude 02°37’42”S e longitude: 56°44’09”W, distantes entre si aproximadamente 29,04 km, ambas localizadas no município de Parintins no Estado do Amazonas, as quais são conhecidas pela produção de mel de abelhas sem ferrão, com a predominância da espécie *Melipona interrupta* (COSTA; FARIAS & BRANDÃO, 2012), popularmente conhecida como “Jupará”, espécie endêmica nas áreas de várzeas da região amazônica (PERALTA, 1999; FERREIRA, 2014, FERREIRA & ABSY, 2015).

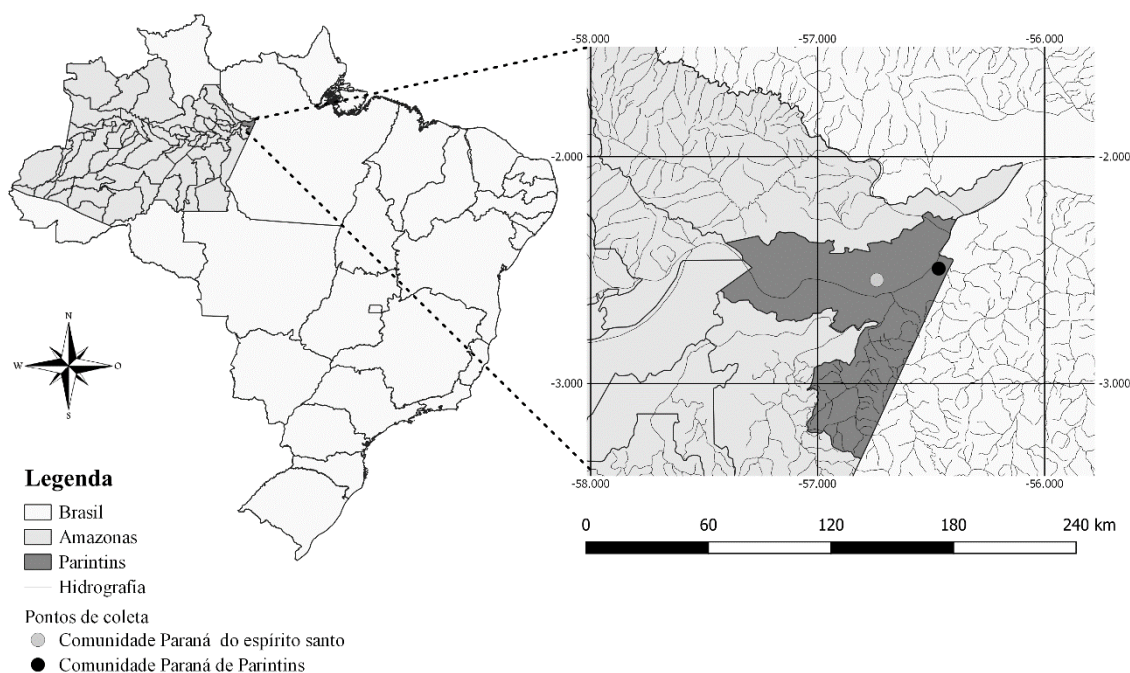


Figura 5. Localização geográfica do município de Parintins, das comunidades e meliponários da área de estudo.

A coleta das amostras procedeu-se nos períodos de Julho a Dezembro de 2017 (período seco) período de seca, conhecido como o verão amazônico (Fisch *et al.* s/ d) e de Janeiro a Junho de 2018 (período chuvoso).



Figura 6. Meliponários localizados nas comunidades Paraná de Parintins (a) e Paraná do Espírito Santo (b), em áreas de várzea no município de Parintins-AM.

4.2 Coleta das amostras de mel

Foram coletadas 10 amostras de mel, em cada comunidade, oriundas de dois meliponários distintos. Para a padronização do mel coletado, observou-se os seguintes critérios : a) coletar somente de potes encontrados fechados, garantindo assim a maturidade do mel; b) retirar preferencialmente de potes que estejam na melgueira das caixas de criação racional.

Para colheita do mel, foram utilizadas seringas estéreis descartáveis e a agulha, que acompanha o material, como ferramentas para perfurar os potes, enquanto a seringa foi usada para a sucção do mel dos potes, sendo armazenado em potes herméticos e identificados de acordo com o local, período de coleta e numeração da caixa de criação da qual foi coletado. Em seguida, o mel foi acondicionado em caixa térmica com gelo e armazenado em refrigerador sob temperatura de aproximadamente 8°C.



Figura 7 .Coleta de amostras de mel, diretamente nos potes desoperculados de *Melipona interrupta*.

4.3 Coleta das amostras de pólen

Foram coletadas 10 amostras de pólen em cada região de coleta, para tanto, retirou-se o pote com pólen e o seu conteúdo foi extravasado e armazenado em sacos plásticos herméticos devidamente identificados quanto ao local e período de coleta bem como a numeração da caixa de criação no meliponário em que foi coletado.



4.4 Coleta das amostras de cerume

Foram coletadas 10 amostras em cada comunidade do estudo. Para tanto, foram utilizados sacos herméticos para acondicionar pedaços de cerume, coletados de diversas partes da colônia, contudo, tomou-se o cuidado de retirar pedaços que não haviam tido contato com qualquer um dos materiais ora estudados (mel e pólen), para evitar impregnação de resíduos senão os de sua composição.



Figura 9. Retirada das amostras de cerume de *M. interupta*, a partir do envólucro (a) e de cerume dos discos de crias (b).

4.5 Análise físico-química

As análises físico químicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Federal do Amazonas, expressando os valores de Cinzas (Cn), Carbohidratos (CHOs), Valor Energético (En), Lipídeos (Lp), Proteína bruta (PB) e umidade (U).

4.5.1 Proteína bruta

A análise do nitrogênio total foi realizada pelo método de Kjeldahl descrito por Silva & Queiroz (2002). Os resultados foram expressos em % de nitrogênio. O teor de proteína bruta foi calculado através da multiplicação do teor de nitrogênio total pelo fator de conversão de 6,25 ($N \times 6,25$).

$$\%PB = \% N \times \text{Fator de conversão (6.25)}$$

$$\% N = \frac{\{(V_a - V_b) \times N \times f \times 0.014 \times 100\}}{PA}$$

%PB = Proteína total em matéria seca em porcentagem

%N = Nitrogênio total determinado em porcentagem

Va = Volume de HCl gasto na titulação com a amostra.

Vb = Volume de HCl gasto na titulação do branco.

N = Normalidade de HCl (0,5N)

f = Fator da solução de HCl (0,1)

PA = Peso da amostra

4.6.2 Cinzas

A matéria mineral foi determinada pelo método de incineração em mufla segundo Silva & Queiroz (2002), com resultados expressos em %. Para tanto foi pesado aproximadamente 3g da amostra em um cadinho de porcelana previamente pesado para obtenção do peso tara, em seguida a amostra foi carbonizada com auxílio de prancha de cerâmica refratária. Após a carbonização das amostras, as mesmas foram colocadas em forno tipo mufla a 550°C e após

quatro horas aproximadamente as mesmas foram resfriadas em dessecador de sílica e pesadas até assumir peso constante.

$$\text{Cinzas \%} = (100 \times N)/P$$

N= nº de gramas de cinzas

P= nº de gramas da amostra

4.6.3 Lipídeos

Para determinar o teor de lipídeos, foi adotada a metodologia descrita por Bligh & Dier (1959). Na qual foi usado 3,00g da amostra seca em tubos de ensaio com tampa hermética de 70 mL, adicionou-se 10mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada (1:2:0,8), posteriormente em um homogeneizador rotativo por 30 min.

Em seguida adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL da solução de sulfato de sódio a (1,5%), e homogeneizou-se por dois minutos.

Após realizar a fase de extração, com auxílio de um sifão, foi retirado do tubo de ensaio o excedente de água e metanol. Utilizou-se 1g de sulfato de sódio anidro em um funil de vidro usando papel de filtro qualitativo para transferir para tubos de 30mL. Em seguida foi medido exatamente 5 mL do filtrado, e em um becker de 50 mL, previamente pesado, foi posto em estufa à 100°C até evaporar o solvente, restando o peso do lipídeo da amostra, calculado segundo a equação abaixo.

$$\% \text{ lipídios totais} = [P \times 4 / g] \times 100$$

P = Peso dos lipídios (g) contidos em 5 mL de clorofórmio

g = Peso da amostra (g).

4.6.4 Umidade

O teor de umidade e matéria seca foi determinado pelo método de dessecação até massa constante seguindo a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002).

$$\text{Umidade \%} = (100 \times N) / P$$

N= perda de peso em gramas

P= n.º de gramas da amostra

4.6.5 Carboidratos totais

Os valores de carboidratos totais (CT) foram determinados de acordo com as equações propostas por Detmann *et al.*, (2012), com todos os termos expressos como percentual da matéria seca (MS).

$$\% \text{ CT} = 100 - (\text{Proteína} + \text{Extrato Etéreo} + \text{Matéria Mineral})$$

4.6.6 Valor energético

A energia foi estimada de acordo com o valor relativo de energia dos lipídeos, proteínas e carboidratos totais das amostras, de acordo com Detmann *et al.*, (2012), expresso na equação abaixo.

$$\text{Valor energético (kcal/100g)} = (\% \text{ Carboidratos} \times 4) + (\% \text{ Lipídeos} \times 9) + (\% \text{ Proteína} \times 4)$$

4.7 Análise de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda (FRXDO)

As análises foram realizadas no laboratório de estudos quimiométricos do grupo CROWFOOT na Universidade do estado do Amazonas – UEA. Para analisar em fluorescência de raios – X, preparou-se a amostra da seguinte forma: foi pesado 1,0 g da amostra, a qual foi empregnada por prensagem em papel filtro com espátulas de plásticos, em seguida foram alocadas no espectrômetro da Rigaku®, modelo Supermini® para a análise.

4.8 Análise palinológica

Para essa análise, fez-se uma amostra composta dos pólenes coletados, onde retirou-se uma alíquota de 5g de cada amostra, misturou-se em béker de 50mL por 1 minuto afim de se homogeneizar o máximo da amostra. As amostras de pólen foram acondicionadas em tubos de ensaios contendo 5mL de ácido acético e mantidas por um período mínimo de 24 horas. Posteriormente, submetidas ao processo de acetólise (Erdtman, 1960). Após acetolizados, os grãos de pólen foram montados em gelatina glicerinada de Kisser,(1935), e as lâminas lutadas com parafina.

Após acetólise, as lâminas foram examinadas para determinação taxonômica das famílias das plantas, sendo que a identificação dos tipos polínicos ocorreu com o auxílio da Palinoteca do Laboratório de Palinologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e por consulta a bibliografia especializada (ROUBIK & MORENO, 1991; CARREIRA et al., 1996). As medições e fotomicrografias dos grãos de pólen foram realizadas no aumento de 1000x imersão, utilizando-se um microscópio Zeiss® modelo "Primo Star", contendo uma câmera Canon® "Power Shot A650IS" e ocular micrométrica acoplados.

4.9 Análise de antioxidantes

4.9.1 Teste de solubilidade das amostras

Para o preparo dos extratos das amostras, foi feito primeiramente a avaliação da solubilidade das amostras, para tanto, recorreu-se a literatura afim de obter exemplos em quais solventes as amostras solubilizariam-se. Para o referido teste, diluiu-se 1g da amostra em 1mL dos seguintes solventes: água desionizada, metanol, etanol, di-metil sulfoxido (DMSO) e dicloro metano (DCM), em seguida com o auxílio de banho ultrasônico, agitou-se as amostras por 20 min a 32°C, onde obteve-se os seguintes resultados (**Tabela 1**).

Tabela 1. Solubilidade das amostras para o preparo de extratos para análise de antioxidantes.

Amostra	Solvente				
	Água deionizada	Etanol	Metanol	DMSO	DCM
Cerume					X
Mel	X	X	X	X	X
Pólen		X	X	X	X

4.9.2 ABTS*

A fim de determinar a atividade anti radical ABTS, inicialmente, foi preparada a solução de ABTS* 0,7 mM em 5 mL de água deionizada e 5 mL de persulfato de potássio 2,4 mM. Em seguida, incubou-se a mistura reacional em temperatura ambiente na ausência de luz por 12 horas para obtenção de uma solução oxidada de tonalidade azul esverdeada. Antes de injetá-lo nas placas de absorvância, o ABTS* oxidado foi diluído na proporção de 1:5 com água deionizada, após injetados na placa de absorvância, incubou-se por 15 minutos na ausência de luz à temperatura ambiente e realizou-se a leitura da microplaca em 620 nm. Os resultados

foram expressos em percentual de inibição e a CI50 foi calculado através do programa GraphPad Prism 6.0. O padrão utilizado foi o ácido gálico;

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Absa} / \text{AbsC}] \times 100.$$

4.9.3 DPPH⁺

A atividade sequestrante do radical lipossolúvel DPPH⁺ foi realizada segundo metodologia utilizada por Burits & Bucar (2000), com modificações para possibilitar que o teste fosse realizado em microplacas de 96 poços. Foi preparada uma solução de 0,05 µg/mL de DPPH⁺ em etanol, 30 µL do extrato, padrão e/ou controle (DMSO) na concentração de 1 mg/mL, sendo adicionados a cada um dos poços da microplaca e colocadas em contato com a solução de DPPH⁺. A placa foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente no escuro e a leitura foi realizada em 492nm no leitor de microplaca.

Os cálculos de percentual de inibição (inibição %) foram realizados baseando-se na absorbância do controle e utilizando o programa Microsoft Excel®. Quando o percentual de inibição foi maior a 50%, foram realizadas até 8 diluições consecutivas para obtenção dos valores de CI50, calculados pelo programa GraphPad Prism®, versão 6.0. O padrão utilizado foi o ácido gálico.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Absa} / \text{AbsC}] \times 100$$

Absa=Absorbância da Amostra

Absc= Absorbância do controle

4.9.4 Fenóis totais

A concentração de fenóis totais foi quantificada pelo método descrito por Kim *et al.*, (2003). Inicialmente, 10 µL dos extratos numa concentração de 1 mg/ml foram colocados em cada poço, adicionando mais 50 µL de Folin & Ciocalteu's phenol 10% e incubados em ambiente escuro por 8 minutos a temperatura ambiente. Logo após esse tempo foi adicionado uma solução saturada de carbonato de sódio 0,4% e incubado novamente por 3 minutos em ambiente escuro. Em seguida, foi realizada a leitura na absorbância em 620nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman©), o teor fenólico das amostras foi

expressa em percentual comparados com o padrão ácido gálico e também como μg equivalente a ácido gálico (μgEqAG) quando comparado à diluição consecutiva do padrão.

$$\text{Fenóis totais (\%)} = (\text{Absorbância amostra} / \text{Absorbância padrão}) \times 100$$

4.10 Delineamento e análise estatística

Os dados foram analisados pelo software Piruette[®], software este que é utilizado principalmente para análises quimiométricas, contudo sua aplicação é bastante ampla. Desta forma, fez-se as análises HCA (Hierarchical Cluster Analysis) para analisar se as variáveis ora obtidas fornecem respostas aos acontecimentos biológicos testados no experimento com a formação de grupos hierárquicos em similaridade e PCA (Principal Component Analysis) para identificar em qual das variáveis tem maior fator de diferenciação nos grupos ora formados na HCA. Ambos os testes foram aplicados nas amostras das análises físico químicas e nas de raio-x fluorescência de energia dispersiva (EDXRF).

Nas análises de atividade anti oxidante e físico químicas, fez-se a estatística descritiva e análise de variância de um fator com repetições (ANOVA One way) dos dados com o uso do software Microsoft[®] Excel[®] (2019), afim de obter média, desvio padrão e valores mínimos e máximos das amostras. A forma de coleta das amostras, bem como as quantidades de **n** amostral já foram descritas dos itens **4.2**, **4.3** e **4.4**.

5 Resultados e discussão

5.1 Composição físico-química

Muitos são os esforços científicos para a caracterização dos produtos das abelhas sem ferrão, e de modo mais amplo tem-se muita divergência acadêmica e científica a respeito dos parâmetros a serem utilizados para tal caracterização. Neste sentido, os parâmetros ora apresentados neste trabalho leva em consideração os parâmetros físico químicos básicos para alimentos como o teor de proteína bruta, teor de lipídeos, os minerais, o teor de umidade, os carboidratos totais e o valor energético do cerume, mel e pólen de *Melipona interrupta*, expostos na Tabela 2, com seus respectivos valores médios e desvios padrões amostrais bem como os valores mínimos e máximos encontrados.

Os valores para o cerume ainda não possuem outros valores de comparação na literatura, uma hipótese é que devido o cerume não ser um produto comumente explorado na meliponicultura, pouco se tem na literatura a respeito do mesmo. De acordo com BILUCA *et al.*, (2016), recentemente, interesse é crescente no mel de abelha sem ferrão, fazendo com que pesquisadores encontrem parâmetros de padrão de qualidade, mostrando a composição e variabilidade funcional principalmente devido a fontes etnológicas, origem botânica e geográfica, e o tempo de colheita. Tendo em vista tal fato, os valores aqui expressos, demonstram que o cerume tem baixas concentração de proteína com valores que não ultrapassaram a 0,27 % tendo maiores concentrações no período da estação da seca (julho a dezembro), e com base nos resultados da análise compostos hierárquicos (HCA) Figura 10, há diferenciação ao nível de 5% de significância nos períodos ora estudados, pois há a formação de dois grupos hierárquicos, um constituído com os dados do cerume no período chuvoso e o outro com os dados do período seco, com graus de similaridade entre 0,2 a 0,8 e 0,5 a 0,9 respectivamente. Esta configuração indica que os grupos formados tem entre 20% a 80% e 50% a 80% dos dados semelhantes entre si.

Em virtude da formação de grupos hierárquicos evidenciados pela HCA, fez-se a análise de compostos principais (PCA) Figura 11, revelando que o fator principal para a formação dos grupos hierárquicos, e por tanto maior causador das diferenças entre os grupos hierárquicos, foi o parâmetro carboidratos totais das amostras do cerume. Tal fato pode indicar biologicamente, que de acordo Nogueira-Neto, (1997), o fato de o cerume ser uma mistura de cera pura e branca, secretada pelas abelhas, com o própolis, que são resinas que elas retiram dos eventuais ferimentos ou corte à uma árvore ou arbusto, pode estar relacionada à baixa coleta destas resinas para compor a mistura do cerume no período chuvoso, bem como nesse período as abelhas desenvolvem uma estrutura chamada invólucro, que recobre os discos de cria da colônia, para manutenção do microclima necessário às crias, a qual demanda de grandes quantidades de cera, e que aliada a falta da coleta das resinas, pode estar contribuindo para tal diferenciação nos períodos em que foram coletadas as amostras, contudo, é necessário um estudo da composição de resinas de árvores utilizadas por estas abelhas para melhor comprovação desta hipótese.

De modo geral, podemos descrever o cerume de *Melipona interrupta*, como sendo um produto das abelhas sem ferrão com alta concentração de carboidratos totais com valores que variam de 65,43% a 76,80% no período chuvoso (janeiro à junho) e de 73,90% a 79,88% no período seco (de julho a dezembro), com baixos valores médios de proteína bruta, lipídeos e cinzas respectivamente nos períodos chuvoso e seco: 0,10% \pm 0,01; 0,13% \pm 0,03; 0,33% \pm 0,30; 0,12% \pm 0,06; 0,17 % \pm 0,22 e 0,34% \pm 0,31. E teores de umidade médios, variando de

22,56% a 33,98% no período chuvoso e no período seco variam entre 18,90% e 26,18%. De acordo com os resultados da análise de componentes principais, o teor de umidade do cerume é segundo fator que mais impacta na diferenciação dos grupos hierárquicos, este fato é explicado pela obvialidade que os diferentes períodos implicam, ou seja, pelo simples fato dos regimes meteorológicos de mais chuvas e menos chuvas podem causar neste produto. Contudo, o parâmetro cinzas, foi o único que apresentou diferença significativa nas ANOVA One way, sendo maior no período seco.

A literatura apresenta trabalhos referentes à cera da abelha *Apis mellifera sp.*, sendo assim o mais próximo de comparação que podemos fazer é em relação a composição química da cera de abelha, que também depende em parte das subespécies de *Apis mellifera*, da idade da cera e das condições climáticas da sua produção. A variação destacada anteriormente ocorre principalmente na quantidade relativa dos diferentes compostos químicos presentes na cera, sendo os hidrocarbonetos, os principais compostos presentes (BARROS; NUNES; COSTA, 2009; MAIA; NUNES, 2013).

O mel é produto mais explorado da atividade da meliponicultura, recentemente este produto ganhou regulamentação própria, sendo caracterizado como produto de abelhas sem ferrão. A composição do mel é, contudo, bastante variável, uma vez que depende em grande parte da sua origem botânica e da espécie de abelha que o produziu, assim como das condições ambientais - tipo de solo e clima - da zona onde é produzido (SERRA, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2009). Na Tabela 2, são expressos os valores médios do mel de *Melipona interrupta*, onde podemos observar que os teores de proteína tiveram maior variação no período seco, variando de 0,07% a 0,27% já no período chuvoso variou de 0,7% a 0,12%. De acordo com Vneturieri *et al.*, (2007) a proteína do mel tem duas origens, a vegetal e a animal, sendo o componente vegetal proveniente do néctar e pólen, e os componentes de origem animal são da própria abelha, constituindo-se de secreções das glândulas mandibulares. Os meliponíneos, tem a característica de fazer o “buzz polinization”, ou seja, agitam suas asas nas flores das plantas na hora da colheita tanto do pólen quanto do néctar (PROENÇA *et al.*, 1992), esse tipo de processo de colheita, faz com que porções de pólen possam vir a ser incorporados no mel, podendo influenciar no aumento da proteína. Em alguns casos, quando a florada nectarífera é muito intensa, potes contendo um pouco de pólen podem ser utilizados para a estocagem de mel (CRANE, 1985), fato este que é recorrente de áreas de várzea, onde no período seco apresenta floradas intensas e específicas, como é o caso da florada do Tachizeiro - *Tachigalia paniculata* *Aubl.*, Marimari da várzea- *Cassia leiandra* *Benth.*, e entre outras espécies que são de ocorrência

da região de várzea amazônica. Esta afirmação é confirmada quando observamos na Tabela 2, que houve diferença estatística no teor de proteína no mel.

O teor de umidade do mel é uma das características mais importantes, por influenciar diretamente na sua características organolépticas e por consequência no valor comercial (VENTURIERI *et al.*, 2007). O mel das espécies de meliponíneos tem como principal característica a diferenciação nos teores de água (umidade), o que o torna menos viscoso que o mel das abelhas africanizadas (CAMPOS; MODESTA, 2000). Cortopassi-Laurino e Gelli (1991) e Bijlsma *et al.*, (2006), relatam que os méis dos meliponíneos são mais aquosos que os de *Apis mellifera sp.* e contêm até 36,4 % de água, valor este que se aproxima ao valor máximo evidenciado nesta pesquisa que foi de 33,98%, podendo, em condições especiais, o mel vir a fermentar pela ação de leveduras osmofílicas (tolerantes ao açúcar) presentes também em sua composição. Demeterco *et al.*,(2016), verificou que os parâmetros físico químicos umidade e cinzas sofreram influência do período sazonal de coleta, obtendo os seguintes valores máximos: 44,8% e 1,04%. Os resultados obtidos com a ANOVA a 5% de significância, apontam que os parâmetros que foram alterados pelo fator período foram a proteína bruta: $0,10 \pm 0,01$ e $0,12 \pm 0,06$, lipídeos: $0,13 \pm 0,03$ e $0,17 \pm 0,22$ e cinzas: $0,33 \pm 0,30$ e $0,34 \pm 0,31$. Tal fato está diretamente relacionada com a origem floral, localização geográfica, condições climáticas (temperatura e umidade) e edáficas (solos), estação do ano, umidade original do néctar e grau de maturação na colméia (BIJLSMA *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003; GONZÁLEZ, 2002).

A meliponicultura também apresenta a possibilidade de exploração do pólen coletado, contudo não se tem parâmetros para estabelecimento por exemplo de um RTIQ (Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade), mesmo assim o pólen tem despertado a atenção pela riqueza dos seus constituintes nutricionais podendo haver um aproveitamento de suas propriedades alimentícias na dieta humana (SOUZA, 2004). Com esta prerrogativa, a composição físico química do pólen de *Melipona interrupta* coletado nos períodos de janeiro a dezembro de 2018 (período chuvoso) e julho a dezembro de 2017 (período seco) são apresentados na Tabela 2, onde pode-se observar que em ambos os períodos do estudo há pouca variação dos dados para os parâmetros analisados, havendo apenas diferença significativa no parâmetro umidade. Fato que se confirma quando observado a análise de agrupamentos hierárquicos HCA,(Figura 12), em que não há a formação de agrupamentos, somente havendo uma distribuição com similaridade muito baixa, próximas a zero.

Rebelo *et al.*, (2016) apresenta valores médios da composição físico química do pólen de *Melipona interrupta* sendo umidade 37,12%; proteína: 24,00%; lípidos: 6,47%; cinzas:

2,74%; carboidratos: 44,27% e energia: 331,33kcal/100g, e que divergem aos ora encontrados para os valores de proteínas, cinzas e carboidratos totais. Entretanto, o presente trabalho pode explorar mais estas diferenças devido ao levantamento palinológico feito, no qual mesmo havendo diferentes quantidades de espécies botânicas, as composições se assemelham, sendo assim, uma hipótese pode ser levantada, a de que a abelha *Melipona interrupta* tem preferências de famílias botânicas no seu forrageamento, fato este que é confirmado por FERREIRA, (2014); FERREIRA & ABSY, (2013, 2015, 2017), destacando grupos de plantas com maior atratividade, como: Malastomataceae, Fabaceae, Anacardiaceae, Arecaceae, Solanaceae, Araliaceae, Euphorbiaceae, Myrtaceae, que atuam como plantas chaves na manutenção dessas abelhas, tanto em ambientes naturais como em locais de criação (ABSY *et al.*, 2018) .

Bábara, (2018), determinou a composição físico química de pólen de *Melipona subnitida*, *Melipona scutellaris* e *Melipona mandacaia*, os valores são expressos respectivamente, umidade: 30,44% ± 2,72, 50,05% ± 1,12 e 34,52% ± 1,00; cinzas: 5,54% ± 0,51 ,4,21% ± 0,26 e 4,94 %± 0,35; proteína bruta: 23,19 ± 2,64, 30,37 ± 1,52 e 21,68 ± 1,62; lipídeos: 4,21% ± 0,8, 5,99% ± 0,28 e 4,29% ± 1,46; carboidratos totais: 63,5% ± 3,35, 57,3% ± 1,49 e 66,44% ± 2,51. Tais resultados demonstram a variações existentes entre demais das *Meliponas sp.* e segundo KERR *et al.*, (2001) as abelhas coletam pólen de grupos de plantas que são específicos para cada espécie. Sendo assim as variações dos dados das compisção físico-química pode ser correlacionada com a espécie de abelha, grupos específicos de famílias botânicas e podendo ainda esta relacionada ao período de coleta pelas mesmas.

Tabela 2. Composição físico química de cerume, mel e pólen de *M. interrupta* coletado durante o período seco (janeiro a junho, 2018) e período chuvoso (julho a dezembro, 2017).

Cerume						
	P. Chuvoso + Dp	Mínimo	Máximo	P. Seco + Dp	Mínimo	Máximo
PB %	2,27 ± 0,09 a	2,01	2,40	3,12 ± 0,08 a	2,97	3,22
LIP %	22,73 ± 0,44 a	22,04	23,35	23,00 ± 0,22 a	22,37	23,35
CZ %	1,27 ± 0,10 a	1,10	1,49	1,28 ± 0,04 b	1,16	1,34
U%	5,31 ± 0,22 a	4,92	5,81	4,70 ± 0,18 a	4,45	5,02
CT %	68,43 ± 0,59 a	67,66	69,50	67,91 ± 0,31 a	67,49	68,53
VE	487,31 ± 2,07 a	484,15	491,22	491,06 ± 1,41 a	488,11	493,19
kcal/100g						
Mel						
PB %	0,10 ± 0,01 a	0,07	0,12	0,12 ± 0,06 b	0,07	0,27
LIP %	0,13 ± 0,03 a	0,08	0,17	0,17 ± 0,22 b	0,03	0,86
CZ %	0,33 ± 0,30 a	0,03	1,02	0,34 ± 0,31 b	0,01	0,89
U%	27,74 ± 2,60 a	22,56	33,98	22,63 ± 1,84 a	18,90	26,18
CT %	71,71 ± 2,71 a	65,43	76,80	76,73 ± 1,86 a	73,90	79,88
VE	288,40 ± 10,83 a	263,24	308,91	309,13 ± 7,82 a	294,44	321,44
kcal/100g						
Pólen						

PB %	22,85 ± 0,46 a	21,73	24,21	23,19 ± 0,54 a	22,26	24,05
LIP %	3,32 ± 0,18 a	3,03	3,54	3,50 ± 0,29 a	2,87	4,02
CZ %	2,70 ± 0,10 a	2,57	2,89	3,24 ± 0,24 a	2,84	3,59
U%	22,61 ± 0,23 a	22,25	23,09	22,70 ± 0,42 b	21,94	23,22
CT %	48,53 ± 0,46 a	47,10	48,95	47,38 ± 0,75 a	46,50	49,51
VE	315,36 ± 1,53 a	312,83	318,01	313,73 ± 3,00 a	308,28	320,60
kcal/100g						

PB=proteína bruta; **LIP**=lipídeos, **CZ**= cinzas; **U**=umidade; **CT**=carboidratos totais; **VE**= valor enegético e **Dp**= Desvio padrão; Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$) na ANOVA One way.

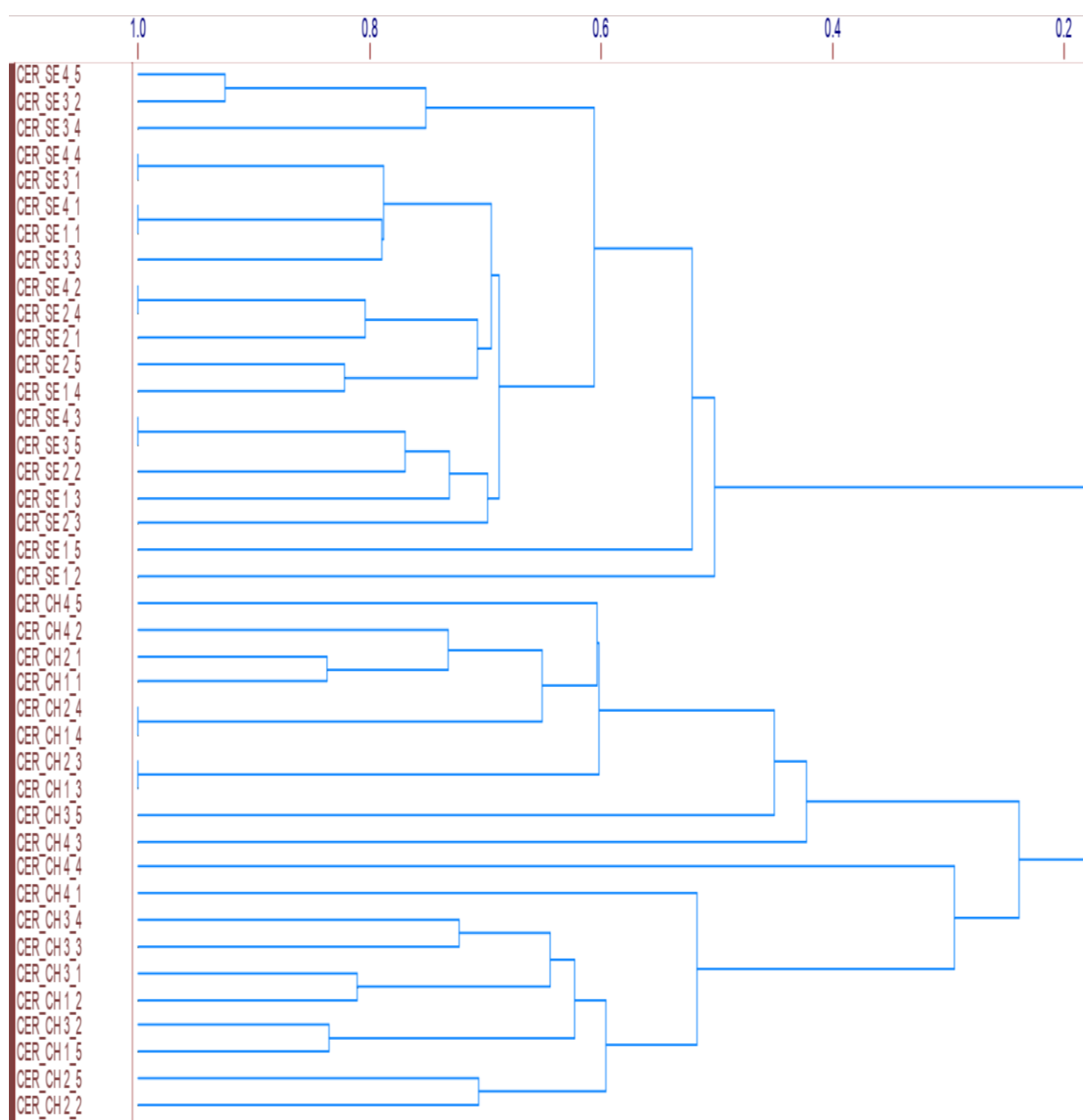


Figura 10. Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das amostras de cerume de *Melipona interrupta*: período seco (SE) e período Chuvoso (CH).

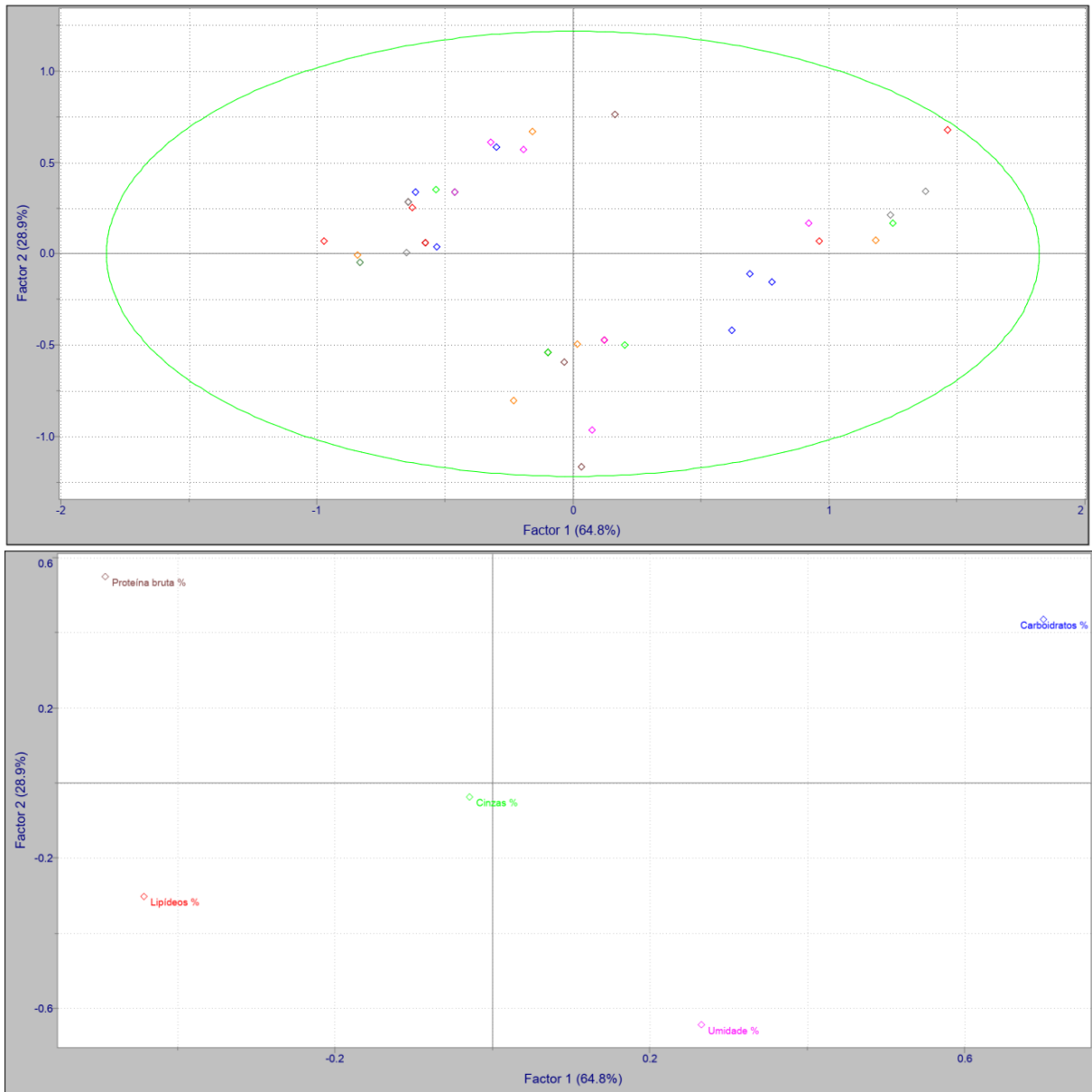


Figura 11. Análise dos componentes principais (PCA) para parâmetros observados nas amostras de cerume de *Melipona interrupta*, durante o período seco e período chuvoso.

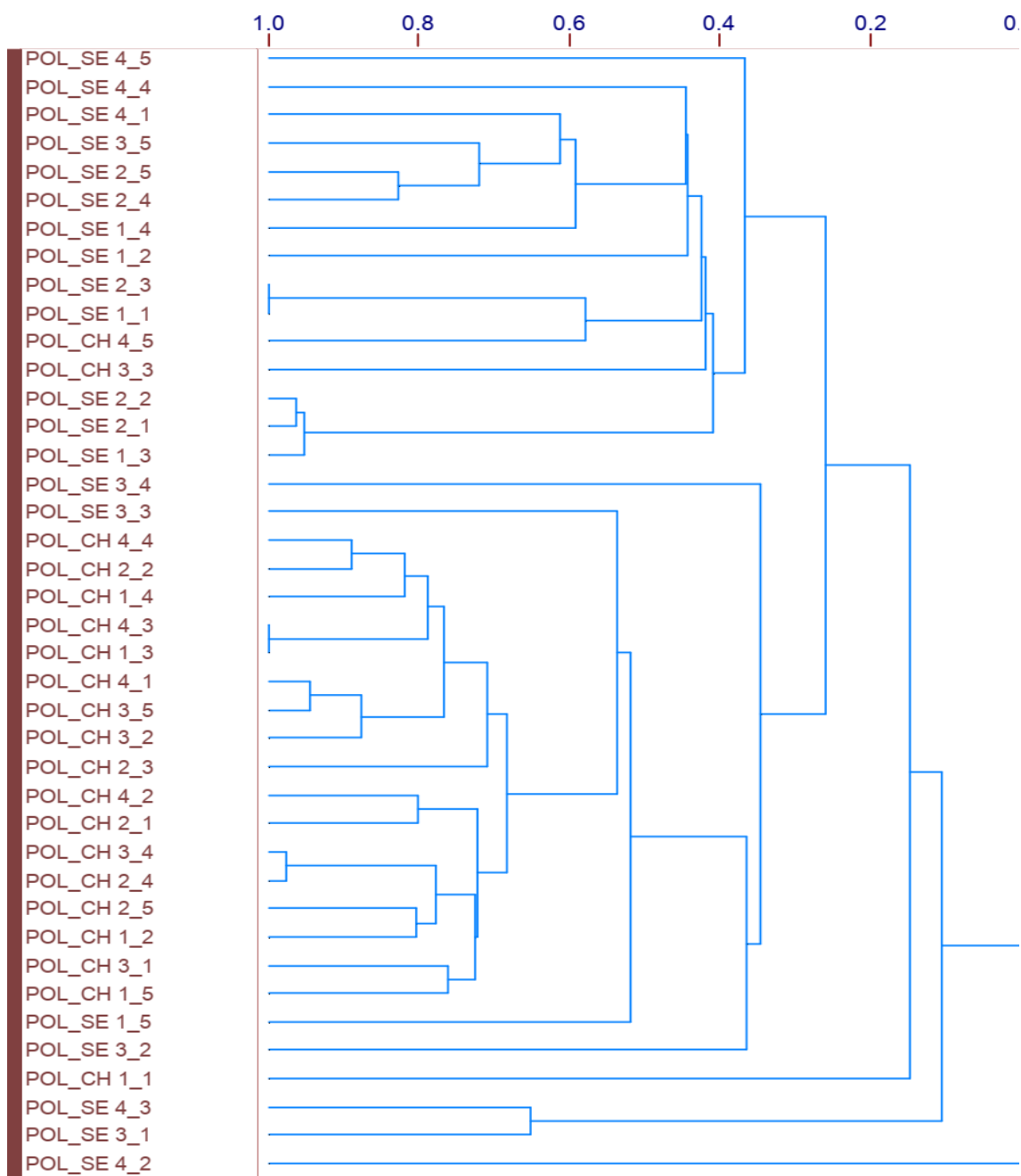


Figura 12. Análise hierárquica de agrupamento (HCA) das amostras de pólen de *Melipona interrupta*: período seco (SE) e período Chuvoso (CH).

5.2 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante, de modo geral não demonstrou níveis satisfatórios de reação em todos os métodos utilizados. Vale ressaltar que o presente trabalho utilizou de amostras *in natura* para a realização dos ensaios. Alguns autores relatam atividade antioxidante principalmente para méis de abelhas *Melipona* (HABIB *et al.*, 2014; MOLINA-SPATH, 2013; e pólenes de abelhas sem ferrão.

O mel de abelhas sem ferrão é definido legalmente como um produto alimentício produzido por abelhas sem ferrão a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos potes da colméia (BRASIL, 2017).

As propriedades químicas e biológicas do mel, têm sido estudada por diversas áreas de pesquisas, com grande interesse a respeito da atividade antioxidante natural para o tratamento de doenças resultantes do estresse oxidativo (AL-JADI e KAMARUDDIN, 2004; BERETTA *et al.*, 2005) o mel contém inúmeras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos do nosso organismo (CAMARGO *et al.*, 2006), e por ser basicamente composto de monômeros de açúcares, que são facilmente absorvidos pelo organismo humano. Bodganov *et al.*, (2008), ressalta a presença de outros compostos no mel como ácidos orgânicos, aminoácidos, enzimas, sais minerais, vitaminas e compostos fenólicos, sendo este grupo considerado por vários autores como os principais responsáveis pelas propriedades terapêuticas (BERETTA *et al.*, 2005; AL-MAMARY *et al.*, 2002) outrora, segundo MACEDO, (2007) os méis de abelhas sem ferrão e muitas de suas atribuições carecem de comprovação científica. A confirmação da presença de compostos bioativos e da capacidade antioxidante ou microbiológica desse tipo de mel pode conduzir a uma valorização do produto pelo consumidor, subsidiando ações que definam parâmetros de qualidade e estratégias de comercialização, incentivando o desenvolvimento da meliponicultura (Molina-Spath, 2015).

As duas classes de compostos com atividade antioxidante estão presentes no mel: os que possuem atividade enzimática, incluindo glicose-oxidase, a catalase e a peroxidase; e os antioxidantes não enzimáticos, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, derivados carotenóides, e produtos da reação de Maillard, além de aminoácidos (D'ÀRCY, 2005; KUÇUK *et al.*, 2007; BALTRUSAITYTE *et al.*, 2007). Os primeiros atuam como conservantes naturais do mel, reduzindo o oxigênio atmosférico em peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que por sua vez age como barreira antimicrobiana na superfície do mel (BOGDANOV, 1997).. O néctar é a principal fonte de compostos fenólicos presentes no mel; com base nisso, diversos estudos também têm sido realizados com o objetivo de validar a utilização dos compostos fenólicos como ferramenta para a determinação da origem botânica e autenticidade de cada tipo de mel (ALVAREZ-SUAREZ *et al.*, 2012). Diversos métodos tem sido utilizados na determinação da atividade antioxidante no mel, baseados na habilidade de sequestrar os radicais que compõem espécies reativas de oxigênio ou radicais livres como o DPPH (2,2 difenil- 1-picrilhidrazil) (CHENG *et al.*, 2003; GUEDOLF *et al.*, 2006). A atividade antioxidante de vários alimentos

tem sido determinada pelo método DPPH, que pode ser utilizada tanto em amostra líquidas quanto sólidas, não apresentar especificidade para nenhum antioxidante em particular, ser rápido e preciso (FERREIRA *et al.*, 2009; MONIRUZZAMAN *et al.*, 2012). Na tabela 2, os valores encontrados na atividade antioxidante para o cerume diferem estatisticamente ao nível de 5% de um período de coleta para o outro, contudo, as análises de DPPH⁺ e ABTS* ,para serem significantes biologicamente devem ter seus percentuais de inibição superiores a 50% CI 50, haja visto que este é o parâmetro de interpretação que informa que o material ora utilizado (cerume, mel e pólen), conseguem ser reativos às concentrações dos respectivos radicais e antioxidantes do padrão, que neste caso foi o ácido gálico. Já o teor de fenóis é a concentração desses espécimes bioquímicos encontrados nas amostras, sendo que para o cerume estes valores não foram superiores à 3,81% no período seco, mesmo as amostras do período seco terem as maiores médias.

No mel, apenas o método do DPPH⁺, demonstrou diferença entre os períodos analisados, sendo também biologicamente não reativo na CI 50, e, portanto, considerado de baixa atividade antioxidante.

O pólen também apresentou baixa reatividade, tendo nos métodos ABTS* e teor fenóis totais, diferença estatística ao nível de 5%, mas sem expressão biológica de atividade antioxidante. O pólen foi o produto das abelhas *Melipona Interrupta* que apresentou maiores médias para o método ABTS*.

Tabela 3. Valores médios dos ensaios de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e Fenóis totais de cerume, mel e pólen de *M. interrupta* nos períodos de janeiro a junho (P. chuvoso) e julho a dezembro (P. seco).

Cerume						
	P. Chuvoso	Mínimo	Máximo	P. Seco	Mínimo	Máximo
DPPH ⁺	5,26 ± 7,50a	0	30,91	5,33 ± 7,05b	0	27,04
ABTS*	6,65 ± 7,81 a	0	35,37	6,36 ± 5,70 b	0	18,92
Fenóis totais	1,63 ± 0,70 a	0,25	2,50	1,48 ± 0,82 b	0	3,81
Mel						
DPPH ⁺	2,30 ± 2,46 a	0	8,09	0,97 ± 1,78 b	0	7,57
ABTS*	9,45 ± 2,55 a	2,17	14,37	6,49 ± 2,74 a	3,20	11,55
Fenóis totais	0,85 ± 0,45 a	0,35	1,54	0,29 ± 0,11 a	0,10	0,53
Pólen						
DPPH ⁺	1,27 ± 1,00 a	0	2,82	2,89 ± 2,80 a	0	8,47
ABTS*	10,72 ± 2,19 a	6,63	15,84	9,31 ± 2,59 b	6,35	16,62
Fenóis totais	0,72 ± 0,37 a	0,17	1,55	0,63 ± 0,33 b	0,07	1,46

Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05) na ANOVA One way.

5.3 Composição química inorgânica por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Onda (FRXDO)

Os resultados da análise da composição química inorgânica revelaram quais elementos químicos e suas respectivas quantidades nos diferentes materiais do estudo, sendo este resultado da análise da fração puramente elementar das amostras, haja visto que os percentuais ora expressos não são relativos com a porção orgânica das amostras. De modo geral, nas amostras de cerume de *Melipona interrupta* foram identificados doze elementos químicos, os quais são **Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn e Ag**, sendo este total encontrado nas coletas do período seco (julho-dezembro), e no período chuvoso (janeiro-junho) foram identificados onze elementos **Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn e Ag**. Os elementos **Zn** e **Ag** tem ocorrência em todos os meliponários do período seco, já no período chuvoso tem ocorrência apenas nos meliponários 3 e 2 respectivamente.

As concentrações dos elementos se mostraram semelhantes numericamente nos dois períodos de análise. O cerume das abelhas é um produto da mistura de secreções cerissígeas abdominais com resinas de árvores, podendo este último componente ser a principal fonte de introdução de outros elementos em sua composição, haja visto que as secreções cerissígeas são intrínsecas à fisiologia das abelhas. Tal fato explica em linhas gerais, se observado que pouco variou em números de elementos e em suas respectivas quantidades nos períodos de estudo, bem como na ocorrência de elementos incomuns aos encontrados em materiais orgânicos, neste caso em particular o elemento Ag (prata) Figura 13.

As concentrações dos minerais ora encontrados no cerume, não ultrapassam o valor de 0,25% da matéria mineral. Tal fato é melhor compreendido quando observados os valores de cinzas obtidos nas análises físico químicas apresentadas no item 5.1 (Tabela 2), os quais não ultrapassam 1,02% de valor máximo encontrado, ressaltando que este valor em porcentagem é relativo ao valor total da matéria seca da amostra, já na análise inorgânica temos os valores expressos, excluindo os elementos da matéria orgânica, o qual é quantificada paralelamente, fornecendo ambos os dados.

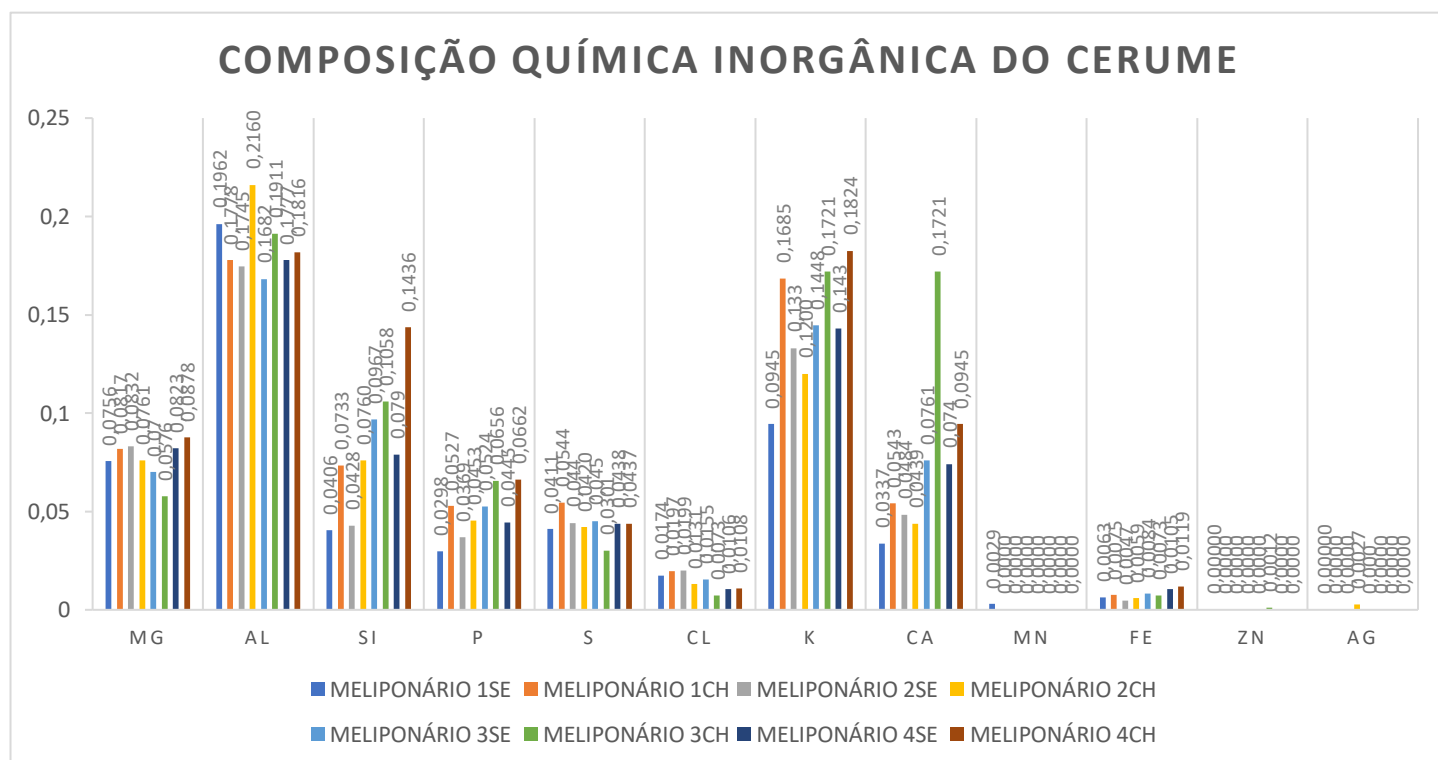


Figura 13. Percentual de elementos químicos em amostras de cerume de *Melipona interrupta* em quatro meliponários: período seco (SE) e chuvoso(CH).

Com o auxílio da análise estatística da HCA (Hierarchical Clusters Analysis), foi possível detectar que o grupo de dados da composição inorgânica do cerume, formam agrupamentos com baixa similaridade entre si. A baixa similaridade dos agrupamentos é interpretada como não havendo diferença dos dados quanto a hipótese de o período de coleta inferir diferença na composição química inorgânica do cerume.

Nas amostras de mel foram identificados doze elementos químicos expressos por **Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Zn e Ag**, contudo este número de elementos ocorre apenas nas coletas do período de coletas de julho à dezembro, sendo os elementos **Al, Si, S, K e Fe** os únicos que tem sua ocorrência em ambos os períodos de coletas, contudo suas concentrações são divergentes(Figura 14). Tal afirmação esta embasada nos valores expressos do Al onde sua concentração no período de coleta de janeiro a junho mantem-se acima dos 25%/massa em

todos os meliponários do estudo, já no período de julho a dezembro estes valores decaem para menos de 10%/massa nos meliponários 3 e 4 e para pouco mais de 20%/massa nos meliponários 1 e 2. O mesmo acontece para as concentrações Fe que nos meliponários 3 e 4 onde seus valores de aproximadamente 22%/massa para menos de 15%/massa.

Franco (2008), quando descreve o mel de abelhas do gênero *Apis mellífera* relata a presença de Mn, Mg, S, Cu, Na, K, Ca, P e Fe, o que aponta que a composição do mel das abelhas sem ferrão varia sua composição inorgânica das abelhas comumente utilizadas para a produção de mel.

Alguns elementos tem sua ocorrência de forma esporádica, como ocorre com o Mg que nas amostras coletadas de janeiro a julho teve ocorrência nos meliponários 1 e 3, e nas amostras coletadas de julho a dezembro ocorrem nos meliponários 1, 3 e 4. Ainda nesta perspectiva os elementos Mn, Zn e Ag tem ocorrência detectada apenas no período de julho a dezembro com as concentrações 3%, 3% e 65%/ massa, respectivamente. P foi detectado apenas nas amostras do meliponário 2 do período de coleta de janeiro a junho e nos demais meliponários do período de julho a dezembro e suas concentrações foram inferiores a 1%/ massa. Araújo, (2013) investigou a composição química dos méis de abelhas sem ferrão de cinco estados brasileiros: Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Norte, Santa Catarina e São Paulo; compreendendo um total de 70 colméias de diferentes espécies: *Melipona quadrifasciata*, *Melipona scutellaris*, *Melipona mandacaia*, *Melipona capixaba*, *Melipona rufiventris*, *Melipona compressipes*, *Melipona bicolor*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragona clavipes*, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona sp.*, Pólen, a principal fonte de minerais para a colônia, e as próprias abelhas foram também coletadas para estudos de composição e correlação com os méis, onde com o uso da análise por ativação neutrônica instrumental permitiu a determinação de Br, Ca, Co, Cs, Fe, La, Na, Rb, Sc e Zn nos méis, Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn nas amostras de pólen e As, Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se e Zn nas abelhas. Méis das abelhas da subtribo trigonina apresentaram maiores concentrações dos elementos alcalinos. Alta razão K/Na foram observadas nas amostras de mel e pólen. Pólen se apresentou como uma grande fonte de P e Se. Análises quimiométricas indicaram os méis e abelhas como bons indicadores de atividades antrópicas. Arsênio apareceu nas abelhas coletadas em áreas de maior atividade antrópica. Como resultado, este estudo tem demonstrado o potencial nutracêutico do mel e pólen meliponícola e o potencial das abelhas nativas como ferramentas de avaliação da qualidade ambiental.

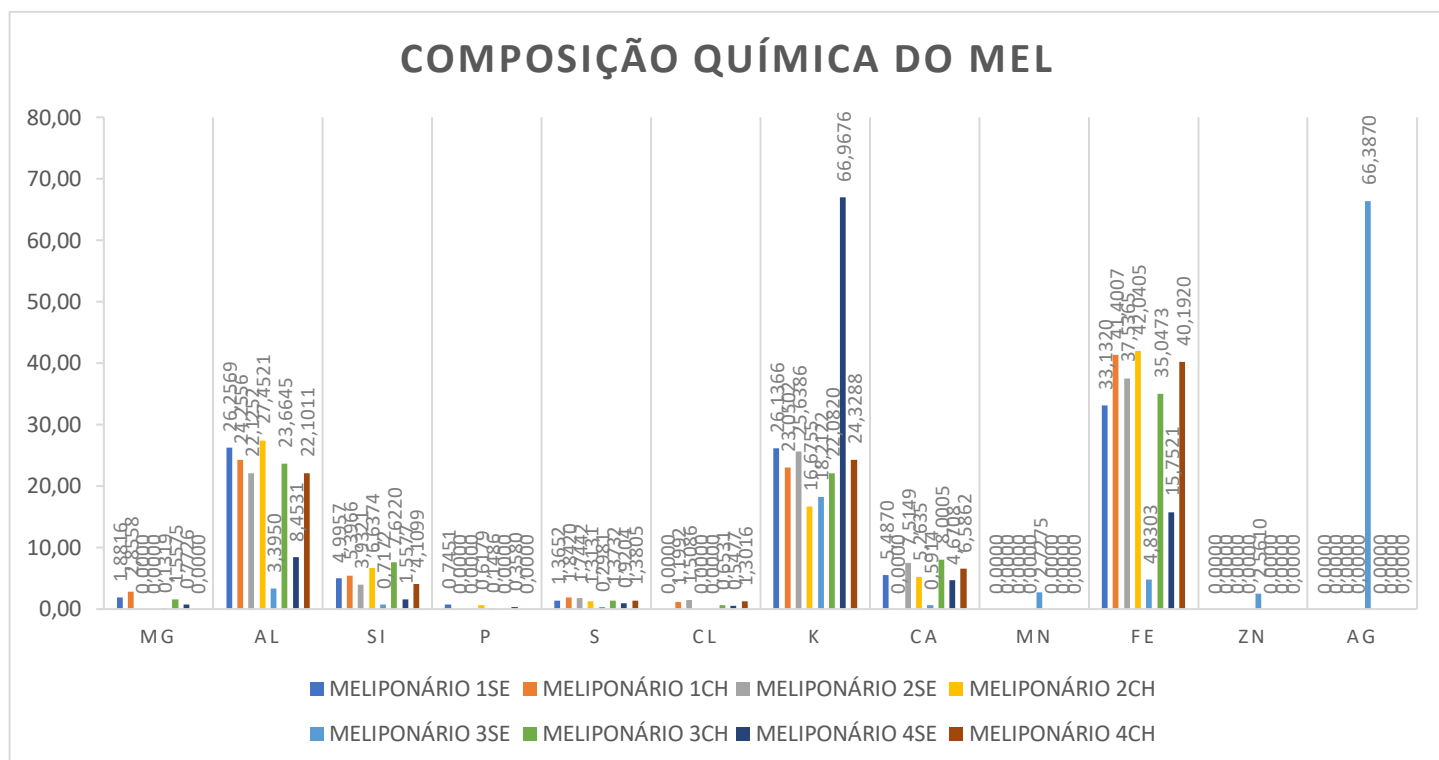


Figura 14. Percentual de elementos químicos em amostras de mel de *Melipona interrupta* em quatro meliponários: período seco(SE) e chuvoso(CH).

A composição química inorgânica do pólen de *Melipona interrupta* revelou a presença de onze elementos químicos **Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe e Zn**, dos quais nove foram detectados em ambos os períodos de análises, tendo suas concentrações semelhantes, dentre eles estão **Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca e Fe** (Figura 15). O elemento Mn foi detectado no meliponário 4 de ambos períodos de estudo e no meliponário 1 do período de janeiro a junho. Foi detectado Zn apenas no período de janeiro a dezembro.

A composição química inorgânica do pólen é semelhante, havendo variações de elementos em virtude da ampla variedade de espécies polínicas coletadas pelas abelhas, tal comportamento pode explicar a ocorrência de Zn em apenas um período de análise, na qual a análise polínica revelou mais tipos polínicos coletados pelas abelhas, haja visto que cada grupo polínico tem composição diferenciado. O pólen coletado isoladamente pode ter propriedades muito específicas e terapêuticas (FUNARI *et al.*, 1994).

No pólen, os elementos com maior maior quantidade foi o K, seguido por P, Ca e S. Tais elementos são sais minerais indispensáveis à saúde humana, haja visto que estes atuam processos bioquímicos essenciais como por exemplo os processos de equilíbrio osmótico e ácido base (Lehninger & Cox, 2014), podendo ser utilizado na dieta humana como fonte para estes elementos.

Segundo Oliveira, (2017), o mel e o pólen demonstram grande capacidade de monitoramento da qualidade ambiental e de rastreamento de suas origens geográficas através da análise de concentrações de elementos químicos (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Morgano *et al.*,(2010), detectou com uso Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente ICP-OES, dez elementos contaminantes em amostras de pólen de áreas urbanas e de áreas rurais.

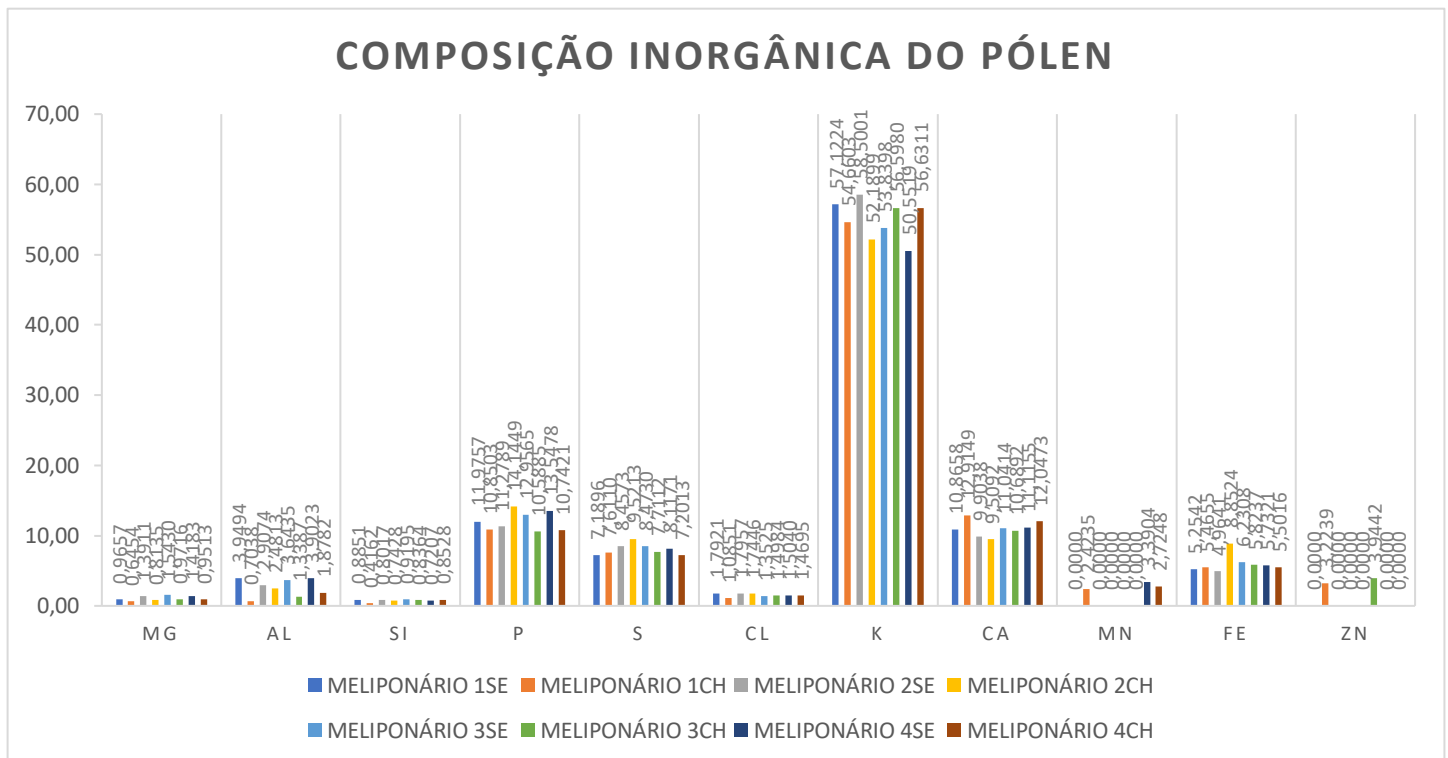


Figura 15. Percentual de elementos químicos em amostras de pólen de *Melipona interrupta* em quatro meliponários: período seco(SE) e chuvoso(CH).

5.4 Análise Palinológica

Nesse estudo, os dados palinológicos indicaram as famílias mais representativas coletadas pelas abelhas da espécie *Melipona interrupta* em áreas de várzea na Amazônia Central. Ao todo foram identificadas dez famílias botânicas (Tabela 4), sendo Fabaceae representadas por suas três subfamílias (Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae). Para o período seco, estiveram presentes seis famílias: Asteraceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae (Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae), Melastomataceae e Sapindaceae (Tabela 4, Figura 16, 17 e 18). Já o período chuvoso foi representado por nove famílias botânicas, sendo elas: Apocynaceae, Arecaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae (Faboideae e

Mimosoideae), Melastomataceae, Myrtaceae, Sapindaceae e Sapotaceae (Tabela 4, Figura 16, 17, 18, 19, 20 e 21). As famílias Euphorbiaceae, Fabaceae (Faboideae e Mimosoideae) Melastomataceae e Sapindaceae estiveram presentes tanto no período seco, como chuvoso do ano (Tabela 4).

Tabela 4. Famílias botânicas identificadas em amostras de pólen estocado por *M. interrupta* durante o período seco (julho a dezembro de 2017) e período chuvoso (janeiro a junho de 2018), nas duas áreas de coleta.

Família polínica	Período	
	Seco	Chuvoso
Apocynaceae		X
Arecaceae		X
Asteraceae	X	
Euphorbiaceae	X	X
Fabaceae/caesalpinioideae	X	
Fabaceae/faboideae	X	X
Fabaceae/Mimosoideae	X	X
Malpighiaceae		X
Melastomataceae	X	X
Myrtaceae		X
Sapindaceae	X	X
Sapotaceae		X

X= indica a ocorrência da família botânica respectiva aos períodos do estudo

Essas Famílias botânicas aqui identificadas, tem sido apontadas por muitos estudos como chaves na manutenção de abelhas do gênero *Melipona* que são criada sem meliponários no estado do Amazonas Central (ABSY *et al.*, 2013, 2018), principalmente em criações localizadas em áreas alagadas “varzea” (FERREIRA, 2014). A maior riqueza de famílias botânicas aqui destacada no período chuvoso (n=9), também pode ser verificada em estudos recentes, em uma escala anual, em que aspectos da sazonalidade de recursos coletados mostraram uma maior diversidade e conseqüentemente uma uniformidade de coletas no período chuvoso do ano (FERREIRA & ABSY, 2015). Os mesmos autores verificaram que tal sutileza pode ser justificada, em parte, por essas abelhas encontrarem no período chuvoso melhores condições (umidade e temperatura) para coleta do pólen, ao passo que no período seco essas

mesmas condições favoreçam a coleta e desidratação do nectar para produção do mel. Essa diferença entre os períodos seco e úmido também pode ser encontrada durante o dia; as coleções de pólen se concentram pela manhã, enquanto que, à tarde, quando a temperatura é mais alta e a umidade é menor, as abelhas do gênero *Melipona* tendem a se concentrar na coleta de néctar (CARVALHO-ZILSE *et al.*, 2007; CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2007; FIDALGO & KLEINERT, 2007). Ainda sim, Oliveira *et al.*, (2009) observaram que, para a região amazônica, é principalmente a precipitação que promove maior diversificação das coleções de pólen, devido à baixa floração. O que se percebe aqui, é que a precipitação anual parece estar fortemente correlacionada com o florescimento das plantas nas florestas tropicais (MORELLATO *et al.*, 2000), e fatores como umidade relativa e temperatura podem interferir no forrageamento dos trabalhadores (OLIVEIRA *et al.*, 2012, SILVA *et al.*, 2011).

A relação desas abelhas com ambientes de várzea tem sido bem relatado, verificado grande ocorrência natural dessas espécies de abelhas (MOURE & KERR, 1950), quando comparado com áreas de terra firme (OLIVEIRA *et al.*, 1995). Embora as áreas de várzea apresentem menor riqueza de espécies de plantas em comparação com áreas de terra-firme (BASLEV *et al.*, 1987, PITMAN *et al.*, 2001, ter STEEGE *et al.*, 2000). Essas áreas de inundações possuem espécies vegetais e animais endêmicas e generalistas que fornecem alimento e abrigo para inúmeros organismos aquáticos e terrestres (WITTMANN *et al.*, 2010). Desse modo, a manutenção de colônias de abelhas sem ferrão nessas áreas é, no mínimo, lógica, pois apresentam as melhores características de nidificação, regime hídrico, clima e, principalmente, recursos alimentares. Quanto aos recursos coletados por *Melipona interrupta*, Ferreira & Absy, (2017) em meliponário de terra firme destaca a baixa riqueza de tipos polínicos coletados, quando comparado com estudo com a mesma abelha em áreas inundáveis “várzea” (FERREIRA & ABSY, 2015).

A forte relação que abelhas desse gênero (*Melipona* Illiger, 1806) com plantas das famílias Melastomataceae, Fabaceae e Myrtaceae, aqui também destacada, pode estar relacionado ao fato de muitas espécies de plantas dessas famílias serem predominantemente polinizadas por abelhas (GRESSLER *et al.*, 2006; PINHEIRO & SAZIMA 2007; JUDD *et al.*, 2010). Além disso, destacamos aqui que a espécie *Melipona interrupta* assim como as demais abelhas do gênero, diferente de outros Meliponini, incluindo a maioria dos Apidae, pela sua capacidade de extrair pólen pela vibração da musculatura de voo, um comportamento muito eficiente para a coleta de pólen abundante de anteras poricidas e anteras não poricidas (BUCHMANN, 1983; PROENÇA, 1992) de várias espécies de Myrtaceae, Fabaceae /

Mimosoideae, Melastomataceae, Solanaceae, além do gênero *Cassia* da família Fabaceae /
Caesalpinioideae (ROUBIK, 1989; RAMALHO *et al.*, 1989; ENDRESS, 1996).

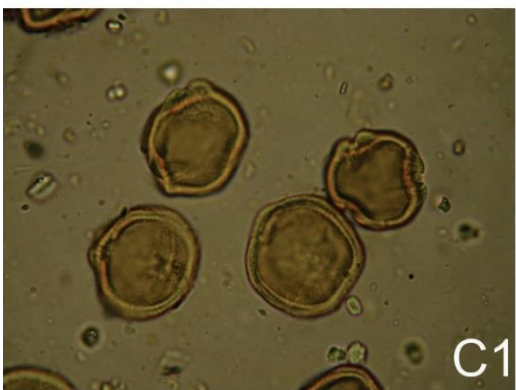
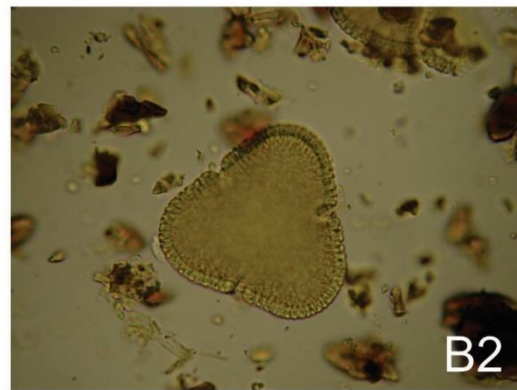
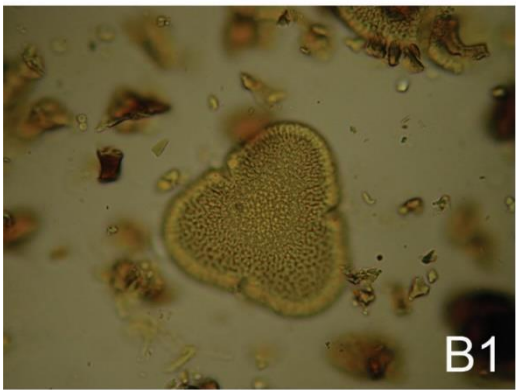
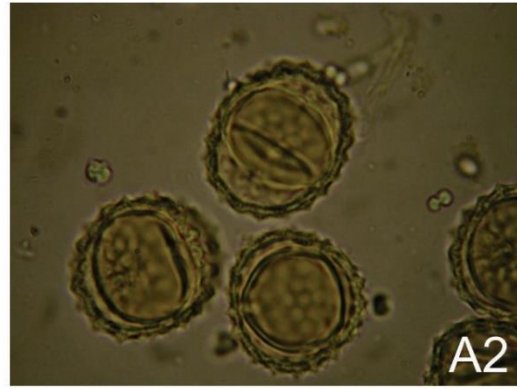
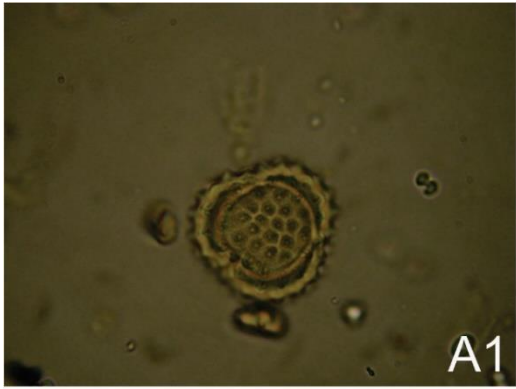


Figura 16. Grãos de pólen representantes das famílias Asteraceae (A1 e A2), Malvaceae (B1 e B2) e Euphorbiaceae (C1-C4).

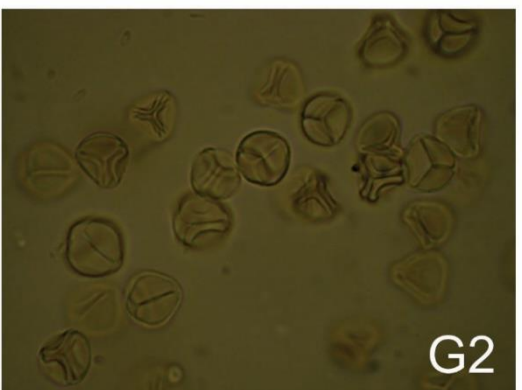
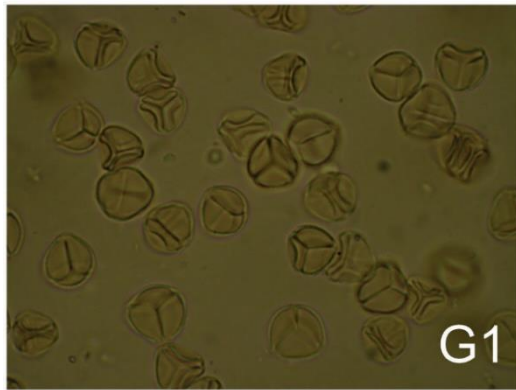
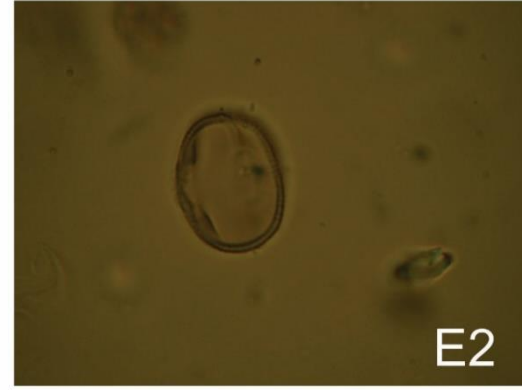
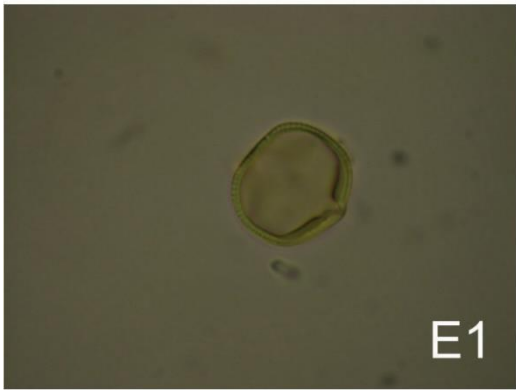
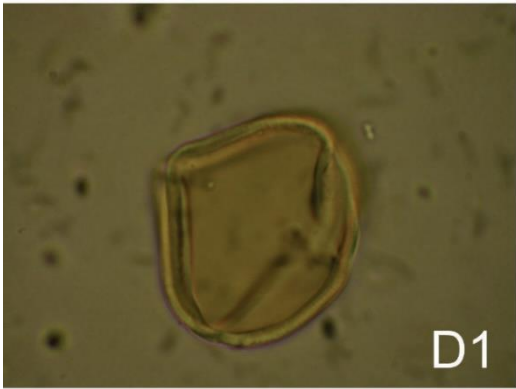


Figura 17. Grãos de pólen representantes das famílias Fabaceae/Caesalpinioidea (D1 e D2), Fabaceae/Faboidea (E1 e E2) e Fabaceae/Mimosoidea (F1-G2).

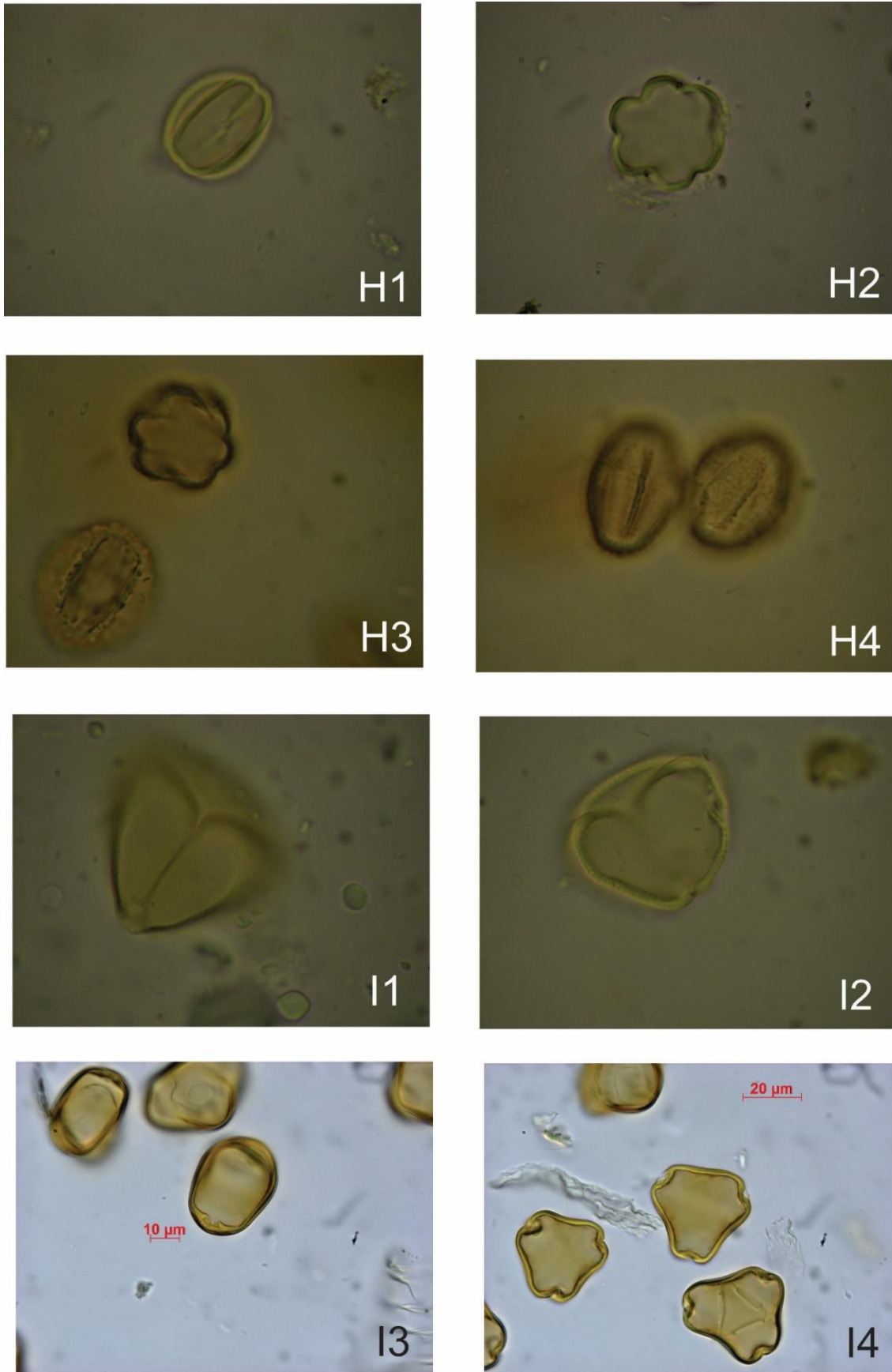


Figura 18. Grãos de pólen representantes das famílias Melastomataceae (H1-H4) e Sapindaceae (I1-I4).

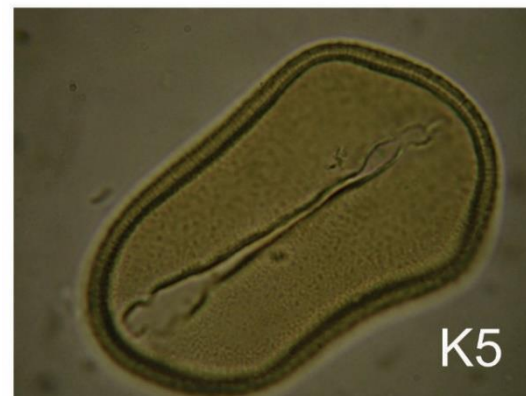
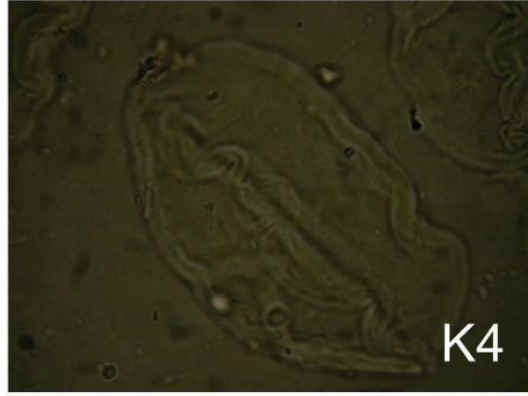
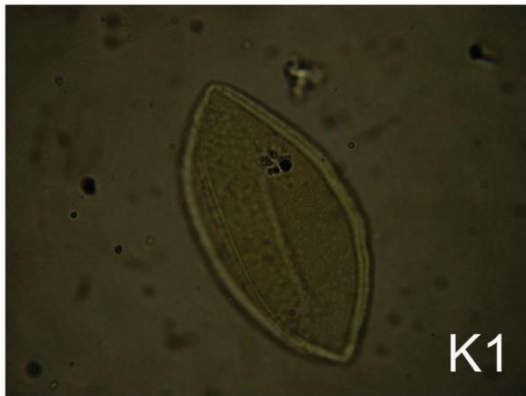


Figura 19. Grãos de pólen representantes das famílias Apocynaceae (J1 e J2) e Arecaceae (k1-k6).

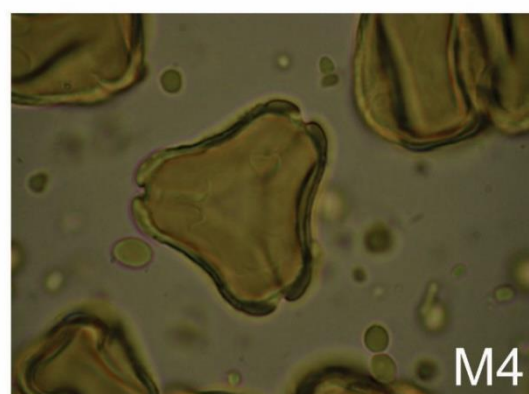
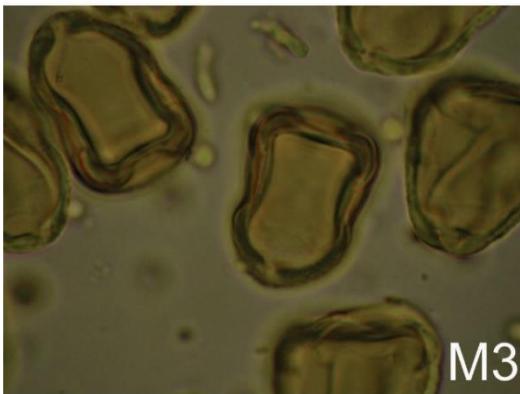
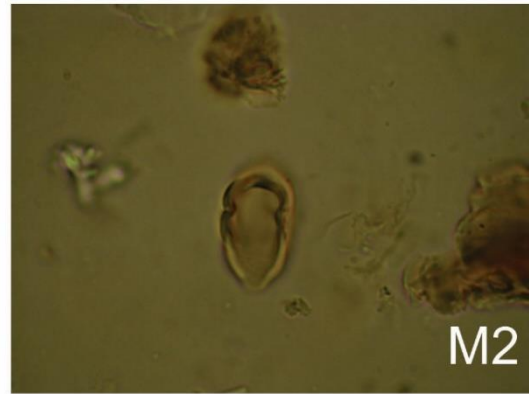
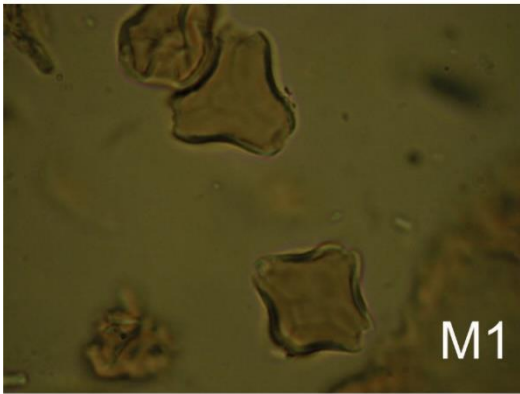
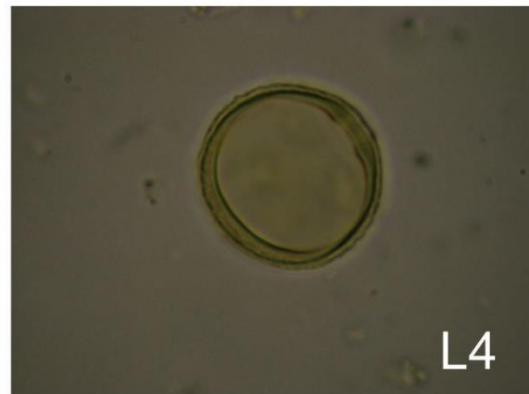
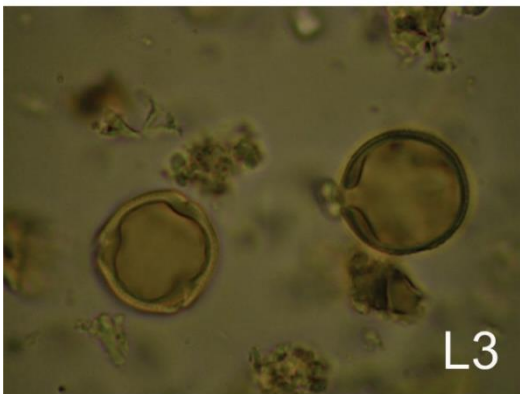
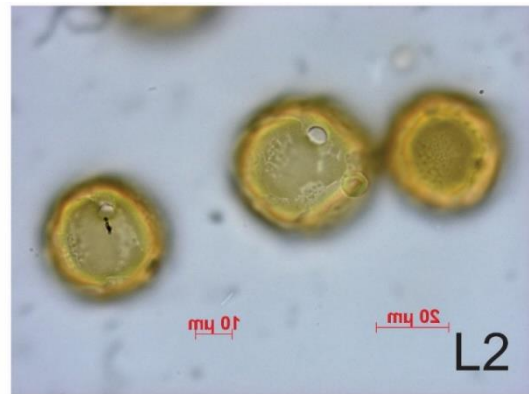
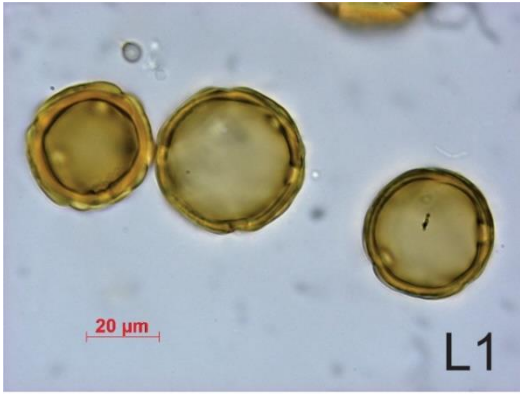


Figura 20. Grãos de pólen representantes das famílias Malpighiaceae (L1 a L4) e Myrtaceae (M1-M4).

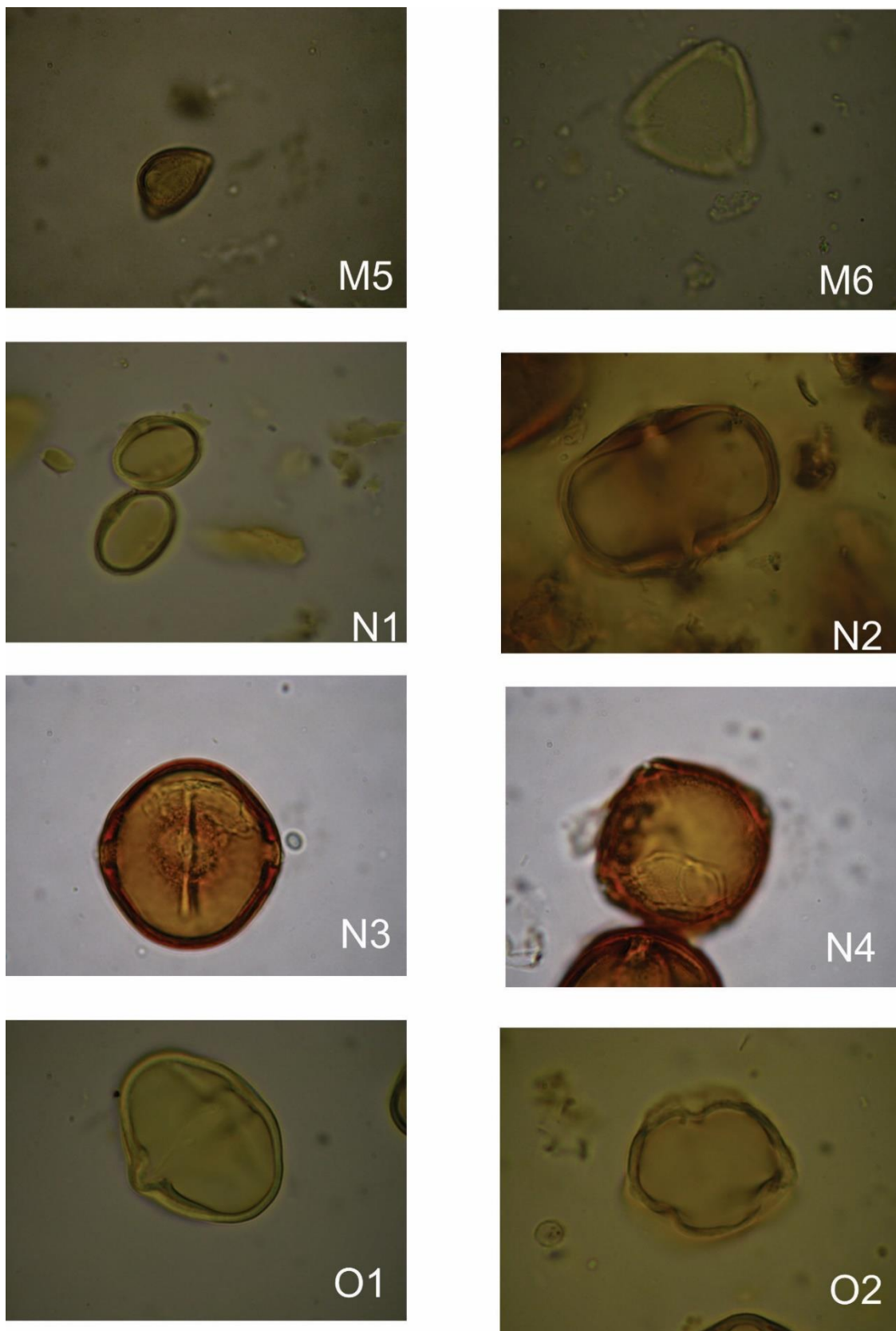


Figura 21. Grãos de pólen representantes das famílias Myrtaceae (M5 e M6), Sapotaceae (N1-N4) e Solanaceae (O1 e O2).

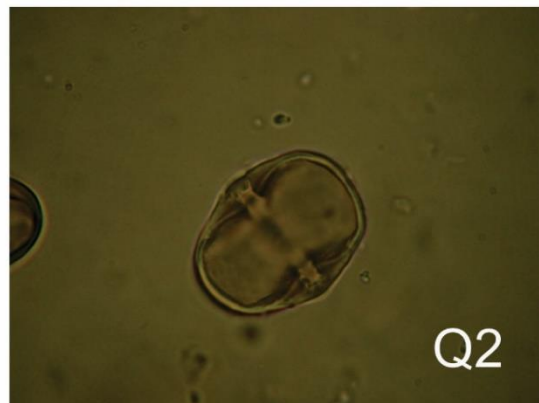
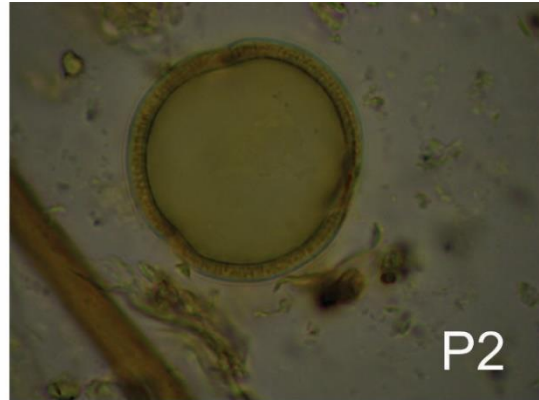


Figura 22. Grãos de pólen representativos da família Polygonaceae (P1 e P2) e da família Burseraceae (Q1 e Q2).

6. Conclusões

Podemos observar que as amostras de pólen, cera e mel *in natura* não mostram atividade antioxidante significativa possivelmente por apresentar um baixo teor de fenóis em sua composição. Embora com valores muito baixos, houve variação entre os períodos de coleta ao nível de 5% de significância na ANOVA;

A composição química inorgânica revelou que a composição não variou em relação às quantidades, e a HCA demonstrou não haver agrupamentos que os diferenciem;

A composição físico química dos produtos da abelha *Melipona interrupta*, tem o mel como sendo o mais influenciado pela sazonalidade, tendo a proteína, os lipídeos e cinzas como principais parâmetros;

Para o estudo palinológico destaco uma maior diversidade de coletas no período chuvoso, o que pode estar relacionado com condições ambientais favoráveis para coleta do recurso polínico, com maior quantidade de espécies em florescência. Em contrapartida, o período seco pode apresentar florações mais persistentes em quantidade de pólen e menor em variedade de espécies botânicas, podendo reunir melhores condições para coleta e produção do mel;

As espécies chaves desse estudos foram: Euphorbiaceae, Fabaceae (Faboideae e Mimosoideae) Melastomataceae e Sapindaceae, as quais estiveram presentes em ambos os período do ano.

Referências

A.O.A.C. Official Methods of Analysis— Horwitz, W. (EDITOR), 12ª EDIÇÃO, 1975.

ABSY M.L., FERREIRA, M.G. & MARQUES-SOUZA A.C. (2013). Recursos tróficos obtidos por abelhas sem ferrão na Amazônia Central e sua contribuição a meliponicultura regional. In Bermúdez E.G.C., Teles B.R. & Rocha R.A. (eds). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus, v.2. pp. 147-158.

ABSY, M. L. & KERR W.E. 1977: Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra merrillae* em Manaus. — *Acta Amazonica*. 7: 309-315.

ABSY, M. L.; RECH, A. R.; FERREIRA, M. G. (2018). Pollen Collected by Stingless Bees: A Contribution to Understanding Amazonian Biodiversity. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D.; editors. *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology*. 1st ed. Berlim (GER): Springer International Publishing; p. 29–46.

ABSY, M.L.; BEZERRA E.B. & KERR W.E. (1980). Plantas nectaríferas utilizadas por duas espécies de *Melipona* da Amazônia. — *Acta Amazonica*. v.10: 271-281.

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

AL-MAMARY, M.; AL-MEERI, A.; AL-HABORI, M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, v.22, n. 9, p. 1041-1047, sep. 2002.

ALONSO, W.J. “As abelhas sem ferrão”. A LAVOURA, RIO DE JANEIRO/RJ, N.629, P. 30 – 33. 1998.

BALLIVIÁN, P. *Abelhas nativas sem ferrão*. São Leopoldo: OIKOS, 2008.

BÁRBARA, M. F. S.; MACHADO, C. S.; SODRÉ, G. S.; SILVA, F. DE L. ; CARVALHO, C. A. L. Microbiological and physicochemical characterization of the pollen stored by stingless bees. *braz. j. food and technology*, v. 21, e2017180, 2018.

BARROS, A. I. R. A.; NUNES, F. H. F. M.; COSTA, M. M. F. D. Manual de boas práticas na produção de cera de abelha. Lisboa: Princípios Gerais, 2009. 64 p.

BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L.; JUSTO, R. L. Pollen analysis of some samples of propolis from southern brazil. *CIÊNCIA RURAL, SANTA MARIA*, V. 29, N. 4, P. 663-667, 1999.

BARTH, O. M.; O pólen no mel brasileiro. Gráfica luxor, P. 150, 1989.

BASLEV, H.; LUTTEYN J, YLLGAARD B, HOLM-NIELSEN L (1987) Composition and structure of adjacent unflooded and food plain forest in Amazonian Ecuador. *Opera Bot* 92: 37-57.

BERETTA, G.; GRANATA, P.; FERRERO, M.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, v.553, n. 2, p. 185-190, mar. 2005.

BECKHOFF, B.; KANNGIEßER, B.; LANGHOOF, N.; WEDELL, R.; WOLFF, H. *Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis*. 1 ed. Berlin-London: Springer, 2006.

BILUCA, F. C., BRAGHINI, F., GONZAGA, L. V., COSTA, A. C. O., & FETT, R. (2016). physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (*meliponinae*). *journal of food composition and analysis*, 50, 61–69.

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

BRASIL, (2017). Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/D9013.htm. Acessado em 15 de agosto de 2019.

BUCHMANN SL (1983) Buzz pollination in angiosperms, 73- 113. In C.E. JONES R.J. & LITTLE (eds.), Handbook of experimental pollination biology. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

BURITS, M.; BUCAR, F. Antioxidant activity of nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research*, V. 14, N. 5, P. 323-8, AUG 2000.

CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; WOLFF, L. F. Mel: Características e propriedades. Documentos, 150. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006. 28 p.

CARREIRA LMM, SILVA MF, LOPES JRC, NASCIMENTO LAS (1996) Catálogo de Pólen das Leguminosas da Amazônia Brasileira. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA.

CARVALHO-ZILSE G, PORTO EL, SILVA CGN, PINTO MFC (2007) Atividade de vôo de operárias de *Melipona seminigra* (Hymenoptera: Apidae) em um sistema agroflorestal da Amazônia. *Biosci J* 23: 94-99.

CARVALHO-ZILSE, G.A.; NUNES-SILVA, C.A. 2012. Threats to the stingless bees in the Brazilian Amazon: how to deal with scarce biological data and na increasing rate of destruction. In: Florio, R.M. (Ed). *Bees*. Nova Science Publishers, Inc. p. 147-168.

COLETTTO-SILVA, A. Captura de enxames de abelhas sem ferrão (hymenoptera, apidae, meliponinae) sem destruição de árvores. *ACTA AMAZONICA*, V. 35, P. 383 – 388, 2005.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ROUBIK, D.W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, G.C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*. 37: 272-292. DOI: 10.1051/apido:2006027.

COSTA, T. V.; FARIAS, C. A. G.; BRANDÃO, C. S. Meliponicultura em comunidades tradicionais do Amazonas. *Revista Brasileira de Agroecologia*. 7(3): 106-115 (2012).

CRANE, E. O livro do mel. 2. ED. SÃO PAULO: NOBEL, 1985.226 P.

DE JONG, D.; GONÇALVES, L.S.; AHMAD, F.; GRAMACHO, K.P.; CAMARGO, R.C.R.; PARTAP, U.; BELCHIOR FILHO, V. 2006. Honey Bee. In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Saraiva, A.M.; De Jong, D. (Ed.). *Bees as pollinators in Brazil – assessing the status and suggesting best practices*. Conservation International, Holos Editora, Ribeirão Preto, São Paulo, p. 63-73.

DEVILLERS, J., DORÉ, J. C., MARENCO, M., POIRIER-DUCHÊNE, F., GALAND, N., & VIEL, C. (2002). Chemometrical analysis of 18 metallic and nonmetallic elements found in honeys sold in france. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5998–6007.

DUTRA, R. P. ET AL. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *melipona fasciculata* smith da baixada maranhense, brasil. *REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA*, V.18, N.4, P.557-562, 2008.

ENDRESS, P. K. (1996). Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.

ERDTMAN, G. (1960). The acetolysis method. a revised description. *Svensk botanisk tidskrift*, 39: 561-564.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. (2013). Pollen analysis of the post-emergence residue of *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille (Hymenoptera: Apidae) bred in the central Amazon region. *Acta botanica Brasilica* 27 (4):709–713.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. (2015). Pollen niche and trophic interactions between colonies of *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* and *Melipona (Melikerria) interrupta* (Apidae: Meliponini) reared in floodplains in the Central Amazon. *Arthropod Plant Interact* 9(3):263–279.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. (2017). Pollen analysis of honeys of *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* and *Melipona (Melikerria) interrupta* (Hymenoptera: Apidae) bred in Central Amazon, Brazil. *Grana* 56(6):1–14.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. (2017). Pollen niche of *Melipona (Melikerria) interrupta* (Apidae: Meliponini) bred in a meliponary in a terra-firme forest in the central Amazon. *Palynology* 41:1–11.

FERREIRA, M.G. 2014. Exploração de recursos tróficos por *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* Cockerell, 1919 e *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponini) criadas em meliponários na Amazônia Central. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, Brasil. 164 pp.

FIDALGO, A. O.; KLEINERT, A. M. P. (2007) Foraging behavior of *Melipona rufiventris* Lepeletier (Apinae; Meliponini) in Ubatuba, SP, Brazil. *Braz J Biol* 67:133-140.

FIEDLER, H. D., DRINKEL, E. E., ORZECZOVICZ, B., LEOPOLDINO, E. C., SOUZA, F. D., ALMERINDO, G. I. F. (2013). Simultaneous nondestructive analysis of palladium, rhodium, platinum, and gold nanoparticles using energy dispersive x-ray fluorescence. *Analytical Chemistry*, 85(21), 10142–10148.

FISCH, G.; MARENGO, J.A.; NOBRE, C.A. Sem data. *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> .

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.

GAINES, T., MCGRATH, E., IDUMA, V., KUZAVA, R., FREDERICK, S., & BENVENUTO, M. (2002). Chemical compositions of chinese coins of emperor ch'ien lung (qian long) and annamese coins of emperor thanh thai via energy-dispersive x-ray fluorescence. *Archaeological Chemistry*, 231–244.

GARSHOTT, D. M., MACDONALD, E. A., MURRAY, M. N., BENVENUTO, M. A., & ROBERTS-KIRCHHOFF, E. S. (2011). Elemental analysis of a variety of dried, powdered, kelp food supplements for the presence of heavy metals via energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry. *It's all in the water: studies of materials and conditions in fresh and salt water bodies*, 123–133.

GIAUQUE, R. D., GARRETT, R. B., & GODA, L. Y. (1977). Energy dispersive x-ray fluorescence spectrometry for determination of twenty-six trace and two major elements in geochemical specimens. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, 49(1), 62–67.

GOLDSTEIN, S. J., SLEMMONS, A. K., & CANAVAN, H. E. (1996). Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence methods for environmental characterization of Soils. *ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY*, 30(7), 2318–2321.

GRESSLER, E.; PIZO, M.A.; MORELLATO, L. P. C. (2006) Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Rev Bras Bot* 29:509-530.

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

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A. Abelhas sociais e flores. IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o código florestal brasileiro. *BIOTA NEOTROPICAL*, VOL. 10, N.4. 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3ª ED. São Paulo/SP, IAL, 1985, V. 1, P. 245-266.

JUDD WS, CAMPBELL, CS; KELLOGG EA, STEVENS PF (2010) *Plant Systematics; A Phylogenetic Approach*. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts, USA.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; DA SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. Aspectos poucos mencionados da biodiversidade amazônica. *Parcerias Estratégicas*. CEE. Ministério da Ciência e Tecnologia - Brasil. V.12,N.2, P. 20 – 41. 2001.

- KERR, W.E. et al. Aspectos poucos mencionados da biodiversidade Amazônica. Brasília: MCT, 2001. 22p.
- KERR, W.E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V. A. Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: LIBER LIBER, 114p. 1996.
- KNEIP, T. J.; LAURER G. R. (1972). Isotope excited x-ray fluorescence. *Analytical Chemistry*, v.44(14), 57A–68A.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods Of Melissopalynology. *BEE WORLD*, v. 59, 139–153. 1978 .
- MAIA, M.; NUNES, F. M. Authentication of beeswax (*Apis mellifera*) by hightemperature gas chromatography and chemometric analysis. *Food Chemistry*, London, v. 136, n. 2, p. 961-968, 2013.
- MARQUES-SOUZA A.C. 1996: Fontes de polen exploradas por *Melipona compressipes manaosensis* (Apidae: Meliponinae), abelha da Amazônia Central. — *Acta Amazonica* **26**: 77-86.
- MARQUES-SOUZA A.C., MIRANDA I.P.A., MOURA C.O. RABELO A. & BARBOSA E.M. 2002: Características morfológicas e bioquímicas do pólen coletado por cinco espécies de meliponíneos da Amazônia Central. — *Acta Amazonica* **32**: 217-229.
- 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 Botanica Brasileira*, V. 24, P. 558-566. 2010.
- MARQUES-SOUZA, A.C., (1993). *Espécies de plantas visitadas para a coleta de pólen por cinco tipos de meliponíneos da Amazônia*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 114pp.

MARQUES-SOUZA, A.C.,(1999). *Características de coleta de pólen de alguns meliponíneos da Amazônia Central*. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 248pp.

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

MARQUES-SOUZA, A.C.; ABSY, M.L.; KERR, W.E.; Aguilera Peralta, F.J. 1995. Pólen coletado por duas espécies de meliponíneos (Hymenoptera: Apidae) da Amazônia. *Revista Brasileira de Biologia*, v.55(4): 855-864.

MARQUES-SOUZA, A.C.; MIRANDA, I.P.A.; MOURA, C.O.; RABELO, A.; BARBOSA, E.M. 2002. Características morfológicas e bioquímicas do pólen coletado por cinco espécies de meliponíneos da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, v.32(2): 217-229.

MARQUES-SOUZA, A.C.; MOURA, C.O.; NELSON, B.W. 1996. Pollen collected by *Trigona williana* (Hymenoptera, Apidae) in Central Amazônia. *Revista de Biologia Tropical*, v.44 (2):567-573.

MICHENER, C. D., (1974). *The social behavior of the bees*. Harvard University Press, Cambridge.

MICHENER, C. D., (2000). *The bees of the world*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

MICHENER, C. D., (2013). *The Meliponini*. In: Vit, P.; Pedro, S. R. M. & Roubik, D. (eds) *Pot-honey: a legacy of stingless bees*. Springer, New York, pp 3–17.

MOLINA-SPATH, N. C., Avaliação de compostos bioativos em amostras de méis de *Melipona scutellaris*._Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2013. 72 f.: il.

MORELLATO, L. P.C.; TALORA, D. C.; TAKAHASI, A.; BENCKE, C. C.; ROMERA, E.C. & ZIPARRO, V.B., (2000). Phenology of Atlantic rain forest trees: a comparative study. *Biotropica*, v32: 811-823.

MORETI, et al. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. *Bragantia*, P. 59, 2000.

MORGANO, M. A., TEIXEIRA MARTINS, M. C., RABONATO, L. C., MILANI, R. F., YOTSUYANAGI, K., & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. (2010). Inorganic contaminants in bee pollen from southeastern Brazil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(11), 6876–6883.

MOURE, J. S. & KERR, W. E. (1950). Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona*. *Dusenía* v.1: 105-29.

LEHNINGER, N. D. & COX, N. M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger [recurso eletrônico] [tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga ... et al.] ; revisão técnica: Carlos Termignoni [et al.]. – 6. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre :Artmed, 2014.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo: Editora NOGUEIRAPIS, P. 445. 1997.

OLIVEIRA, F. A.. Elementos químicos determinados em mel e pólen de abelha nativa brasileira como bioindicador de origem natural e de poluição ambiental no quadrilátero ferrífero – MG. Tese (doutorado) – Universidade federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de geologia. Programa de pós-graduação em evolução crustal e recursos naturais. Brasil - 2017.

OLIVEIRA, F. L.; DIAS, V. H. P.; COSTA, E.M.; FILGUEIRA, M. A. & SOBRINHO, J. E., (2012). Influência das variações climáticas na atividade de vôo das abelhas jandairas *Melipona subnitida* Ducke (Meliponinae). *Ciência Agronômica*, v.23: 598-603.

OLIVEIRA, F.P.M.; ABSY, M.L.; MIRANDA, I.S. 2009. Recurso polínico coletado por abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) em um fragmento de floresta na região de Manaus, Amazonas. *Acta Amazônica*, v 39: 505-518.

OLIVEIRA, M.L., MORATO, E. F. & GARCIA, M. V. B., (1995). Diversidade de espécies e densidade de ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) em floresta de terra firme na Amazônia central. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.12: 13-24.

PAMPLONA, B. Qualidade do mel. Congresso brasileiro de apicultura, 10., 1994, Rio Quente - GO. ANAIS, 1994. P. 353-356.

PERALTA, F. J.A., (1999). Preservação e exploração de abelhas melfíferas sem ferrão (Apidae: Meliponini) da Amazônia Central brasileira. Tese (doutorado). Manaus (AM): Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

PINHEIRO, M.T.; SAZIMA, M., (2007). Visitantes florais e polinizadores de seis espécies arbóreas de Leguminosae melitófilas na Mata Atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biociência*, v.5:447-449.

PIRANI, R. L., CORTOPASSI-LAURINO, M. Flores e abelhas em São Paulo. Edusp/Fapesp, São Paulo, P. 192, 1993.

PITMAN N.C.A., TERBORGH J., SILMAN M.R., NUÑEZ V.P., NEILL D.A., CERÓN C.E., PALACIOS W.A. & AULESTIA M. 2001: Dominance and distribution of tree species in upper Amazonian terra firme forests. — *Ecologica Acta*. V.82:2101-2117.

PORTELA, E. M. R. & GALLEGOS, J. C. S. Alimentación de las abejas: aplicación práctica de los fundamentos fisiológicos de la nutrición. Portada y gráficos, 195 p. (1999).

PROENÇA, C. E.B., (1992). Buzz-pollination - older and more widespread than we think?. *Journal Tropical Ecology*, v.8: 115-120.

PRONÍ, E.A. 2000. Biodiversidade de abelhas indígenas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae) na bacia do rio Tibagi, Estado do Paraná, Brasil. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia. UNIPAR* 3(2): 145-150.

RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., (1989) Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. *Apidologie*, v.20: 185-195.

RECH, A.R.; ABSY, M.L. 2011a. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. *Grana*, v.50(2): 150-161.

RECH, A.R.; ABSY, M.L. 2011. Pollen storages in nests of bees of the genera *Partamona*, *Scaura* and *Trigona* (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.55(33): 361-372.

REZENDE, A.C.C., ABSY, M.L., FERREIRA, M.G., MARINHO, H.A., SANTOS, A.O. (2018). Pollen of honey from *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919, *Scaptotrigona nigrohirta* Moure, 1968 and *Scaptotrigona* sp. Moure, 1942 (Apidae: Meliponini) reared in Sataré Mawé indigenous communities, Amazon, Brazil. *Palynology*, 1–14.

ROUBIK, D. W.; MORENO, J. E. (1991) Pollen and Spores of Barro Colorado Island. *Monogr Systematic Bot Mo Bot Garden*, v.36: 1-300.

ROUBIK, D.W., (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, Cambridge

SAMPAIO, J. A.; CASTRO, M. S.; SILVA, F. O. Uso da cera de abelhas pelos índios pankararé no Raso da Catarina, Bahia, Brasil *Arquivos do Museu Nacional*, Rio de Janeiro, v.67, n.1-2, p.3-12, jan./jun.2009, ISSN 0365-4508.

SERRA, M. C. C. As Propriedades antioxidantes do mel. Centro de Estudos de Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2007. Disponível em:<<http://www.oapicultor.com/artigos/Propriedades%20anti%20Oxidante.pdf>>. Acessado em: 15 de agosto de 2019.

SHANTY, A. & MOHANAN, P. Heterocyclic schiff bases as non toxic antioxidants: solvent effect, structure activity relationship and mechanism of action. *Spectrochimica Acta*, part a: molecular and biomolecular spectroscopy, V. 192, P. 181-187, 2017.

SILVA, M. D. E.; RAMALHO, M.; ROSA, J. F. (2011) Por que *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae) forrageia sob alta umidade relativa do ar? *Iheringia Ser Zool* 101: 131–137.

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. DISPONÍVEL EM: <http://www.naturezaonline.com.br>. acesso em 28 fev. 2019.

SILVEIRA, F. A. A importância da palinologia nos estudos apícolas. IN: congresso brasileiro de apicultura, 11. Teresina: Anais. Confederação Brasileira De Apicultura, P. 269-273, 1996.

SOUZA, R. C. S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L. & OLIVEIRA, F. P. M. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. *Acta Amazônica*. V. 34(2) 2004: 333 – 336.

STEEGE, H.; SABATIER, D.; CASTELLANOS, H.; VAN ANDEL, T.; DUIVENVOORDEN, J.; DE OLIVEIRA, A. A.; DE EK, R.; LILWAH, R.; MAAS, P. & MORI, S. (2000) An analysis of the floristic composition and diversity of Amazonian forests including those of the Guiana shield. — *Journal Tropical Ecology*, v.16: 801-828.

VENTURIERI, G. C. Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão I. Giorgio Cristino Venturieri. ..[et al.]. - . Belém, PA: Embrapa. 2007. 51p. : il. .

WITTMANN, F.; SCHONGART, J.; BRITO, J. M.; WITTMANN, A. O.; PIEDADE, M. T. F.; PAROLIN, P.; JUNK, W. J. & GUILLAUMET, J. L. (2010) Manual of tree species from Central Amazonian várzea floodplains. Manaus, AM .

ZUCOLOTO, F. S.; ZUCCHI, R.; DRUMOND, P. M.; FERNANDES-DA-SILVA, P. G. & AUGUSTO, S. C. Aspectos gerais da nutrição de insetos, com especial referência em abelhas. P. 27-37 IN: 1º Encontro sobre abelhas. Ribeirão Preto: Anais. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. 308. 32 (1994).