



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



LARISSA FARIAS DA SILVA CRUZ

**EFEITO DO TEMPO E TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS
PARAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E COMPOSTOS
BIOATIVOS DO MEL DE *Melipona scutellaris***

SALVADOR - BA
2018

LARISSA FARIAS DA SILVA CRUZ

**EFEITO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS DO MEL
DE *Melipona scutellaris***

Orientador: Dr^a. Janice Isabel Druzian
Co-orientador: Dr^a Carolina Oliveira de Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre.

SALVADOR - BA
2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Cruz, Larissa Farias da Silva
Efeito do tempo e temperatura de armazenamento
sobre os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e
compostos bioativos do mel de abelha urucu / Larissa
Farias da Silva Cruz. -- Salvador, 2018.
93 f. : il

Orientadora: Janice Izabel Druzian.
Coorientadora: Carolina Oliveira de Souza.
Dissertação (Mestrado - Farmácia) -- Universidade
Federal da Bahia, Universidade Federal da Bahia, 2018.

1. Mel. 2. Abelha sem ferrão . 3. Estocagem . I.
Druzian, Janice Izabel. II. Souza, Carolina Oliveira
de . III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LARISSA FARIAS DA SILVA CRUZ

EFEITO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS PARAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS DO MEL DE ABELHA URUÇU

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 30 de novembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Janice Izabel Druzian
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Dr^a. Karina Teixeira Magalhães Guedes
Universidade Federal da Bahia

Dr. Leonardo Fonseca Maciel
Universidade Federal da Bahia

Dedico

Aos meus pais que nunca economizaram ser quem são a mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca desamparar, mesmo nos momentos difíceis. Pelo seu amor que nos sustenta e nos protege, pelo perdão e pela oportunidade de crescimento diário;

À minha família, pelo apoio incondicional, pelo sacrifício recíproco sem pedir nada em troca, pelas alegrias da vida, por oferecem os ombros como suporte para a dor e para o choro. Em especial minha mãe, Cynthia, meu pai Eraldo, meu irmão Matheus, meus avôs, tios (as), primos (as). Obrigada a todos vocês, sobretudo, por compreenderem todas as minhas ausências;

À você Nando, pelos anos de caminhada ao meu lado, pelo incentivo de seguir sempre em frente, me dando apoio para o que for/fosse preciso, você também é parte disso!

À minha orientadora Dr^a Janice e co-orientadora Dr^a Carolina, por terem me acolhido, pelas oportunidades concedidas e pela confiança depositada em mim;

À Universidade Federal da Bahia, à Faculdade de Farmácia, ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos e a FAPESB, sou grata pela oportunidade de realizar esse trabalho;

À todos os amigos do LAPESCA, em especial: Leila Rodrigues, Jessica Santiago, Lucas Cardoso, Renata Quartieri e Denilson Assis pela colaboração, pelo afeto, pelo amor, convívio diário, e companheirismo.

Às amigas que foram construídas ao decorrer do mestrado: Pedro Guimarães, Thâmila Batista, Elba Boa Morte, Roberta Andrade, Andressa Cerqueira e Juliane Silva que sempre estiveram dispostos a ajudar, com determinação e muita paciência, obrigada!

À minha IC e amiga Thais de Souza Santos, que sempre me disse o que eu precisava ouvir e não o que eu queria ouvir! Obrigada pela amizade!

À minha amiga Ludmila Suzarte, por ter sido a primeira incentivadora para minha carreira acadêmica e pelo amor em todos os momentos. Grata!

Ao LAPAAC e seus colaboradores, pelo auxílio de algumas análises;

Às amigas de infância que demonstraram que grandes amizades não se perdem por motivos pequenos: Fernanda Araujo, Lucila Caroni, Jacqueline Santos, Claudiana Bomfim e Larissa Almeida;

Aos funcionários do colegiado de Pós-graduação em Ciência de Alimentos pela atenção e eficiência e aos demais da Faculdade de Farmácia que contribuíram diariamente para a nossa segurança, higiene e conforto, gratidão pelo cuidado!

À todos que participaram direta ou indiretamente,

Muito obrigada!

“A bagagem não pesa, o caminho não cansa e os pés não reclamam quando o que se carrega é AMOR” (Rachel Carvalho)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPITULO I

Figura 1 - A) potes de alimento B) Colônia de Uruçu (<i>M. scutellaris</i>) nordestina instalada em caixa	22
Figura 2 - Fluxograma do processamento do mel (VILLAS-BÔAS, 2012, adaptado)..	25
Figura 3 - Mecanismo de formação do HMF (5-hidroximetilfurfural) (BOGDANOV, 2009)	27
Figura 4 - Metabolismo primário e secundário das plantas.....	33
Figura 5 - Estrutura de um fenol (Hidroxibenzeno).....	34
Figura 6 - Exemplos de ácidos fenólicos presentes em mel.....	34
Figura 7 - Estrutura química típica dos flavonoides, composta por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C).....	35
Figura 8 - Compostos presentes no mel, os processos que influenciam a estabilidade do mel, produtos de degradação e reações secundárias que podem ocorrer. Fonte: Silva et al., 2016, com adaptações.....	39
Figura 9 - Aspecto do mel cristalizado no pote de <i>Melipona mandacaia</i> (CARVALHO et al., 2005)	41

CAPITULO II

Figura 1 - Comportamento dos teores de hidroximetilfurfural (HMF) e atividade diastásica (AD) de mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocados em temperatura ambiente e de refrigeração por 150 dias.....	70
Figura 2 - Comportamento dos compostos ativos e atividade antioxidante de mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocado em duas temperaturas por 150 dias.....	78

LISTAS DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1 - Principais espécies de abelhas sem ferrão do Brasil - localização geográfica e bioma de ocorrência	21
Tabela 2 - Especificações das normas brasileira e internacional para a identidade e controle de qualidade de mel de abelha <i>Apis mellífera</i> e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, gênero <i>Melipona</i> , conforme a Portaria ADAB nº 207 de 21/11/2014.....	26
Tabela 3 - Especificações das características físico-química para o controle de qualidade e identidade de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referencias.....	27
Tabela 4 - Composição de açúcares de diferentes méis de abelha sem ferrão e respectivas referências.	31
Tabela 5 - Teores de fenólicos totais e flavonóides totais e atividade sequestradora de radicais ABTS de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referências.....	35
Tabela 6 - Parâmetros microbiológicos de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referências.....	43

CAPITULO II

Tabela 1 - Ilustração da formação de cristais nas amostras de mel de <i>Melipona scutellaris</i> a partir de 60 dias de estocagem sob refrigeração (5 °C)	64
Tabela 2 - Carga microbiana nas amostras de mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração	65
Tabela 3 - Efeitos do tempo e temperatura de armazenamento nos parâmetros físico-químicos de mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocados por 150 dias	66
Tabela 4 - Variações dos parâmetros do mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocados a 5 °C e 30 °C no período de 150 dias e comparação com valores estabelecidos pela Portaria (ADAB, 2014)	67
Tabela 5 - Teores de sacarose, glicose e frutose de mel de <i>Melipona scutellaris</i> submetido as duas condições de estocagem determinados por CLAE-IR.....	73
Tabela 6 - Parâmetros L*, a*, b* e ΔE^*_{ab} de mel de <i>Melipona scutellaris</i> estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração por 150 dias.	75

Tabela 7 - Propriedades antioxidantes de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração por 150 dias.

76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
ABTS⁺	Capacidade de remoção de radical orgânico
AD	Atividade diastásica
AL	Acidez livre
ALCL₃	Cloreto de alumínio
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
A_w	Atividade de água
Ba	Bahia
CV%	Coeficiente de variação
C	Carbono
CCA	Chromocult coliform agar
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DP	Desvio padrão
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazila
DRBC	Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EQ	Equivalentes de quercetina
Fe²⁺	Ferroso
Fe³⁺	Férrico
FRAP	Poder de redução do ferro
g	Gramas
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HCL	Ácido clorídrico
HMF	Hidroximetilfurfural
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC₅₀	Percentual de inibição de um composto (50% de inibição).
IR	Índice de refração
Kg	Quilograma
M	Massa molar
meq	Miliequivalente
mg	Miligramas
mL	Mililitro
m/m	Razão massa/massa
m/v	Razão massa/volume
NH₂	Radical amino
nm	Nanômetro.
NMP	Número mais provável
O	Oxigênio
OH	Hidroxila
ORAC	Capacidade de Absorção Radical de Oxigênio
t	Tempo
TPTZ	- 2,4,6-tripiridil-s-triazina
UFC	Unidade formadora de colônia
UV/Vis	Ultravioleta/visível

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivo Geral	18
2.2. Objetivos Específicos	18
CAPÍTULO I: Revisão de Literatura	19
Abelhas sem ferrão	20
Meliponicultura	23
Mel de abelha sem ferrão.....	23
Parâmetros de identidade e qualidade dos méis de abelha sem ferrão	25
Composto fenólicos do mel de abelha sem ferrão e atividade antioxidante.....	32
Estabilidade do mel de abelha sem ferrão	37
Qualidade microbiológica mel de abelha sem ferrão	41
REFEÊNCIAS	43
CAPÍTULO II: O tempo e a temperatura de armazenamento associados à cristalização de mel de abelhas sem ferrão de <i>melipona scutellaris</i> exercem grande influência sobre sua estabilidade.....	53
RESUMO	54
ABSTRACT	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1. Material	58
2.2. Armazenamento das amostras	58
2.3. Caracterização físico-química	58
2.3.1 Análises de pH	58
2.3.2. Acidez Total	58
2.3.3. Determinação de hidroximetilfurfural (HMF)	59
2.3.4. Determinação da atividade diastásica	59
2.3.5. Determinação da atividade de água	60
2.3.6. Determinação de cinzas totais	60
2.3.7. Determinação de umidade por refratometria	60
2.3.8. Determinação de cor	60
2.3.9. Determinação de açúcares livres por cromatografia líquida de alta eficiência – CLA	61
2.4. Compostos Bioativos	61
2.4.1. Compostos Fenólicos Totais	61
2.4.2. Flavonoides Totais	61
2.4.3. Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	62
2.4.4. Capacidade de redução do íon férrico – FRAP	62
2.4.5. Capacidade de remoção de radical orgânico - ABTS ⁺	62

2.5 Análises Microbiológicas	63
2.5.1. Contagem de termotolerantes	63
2.5.2. Contagem de bolores e leveduras	63
2.5.3. Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i>	63
2.6. Análise estatística	63
3. RESULTADOS E DISCURSSÃO	64
3.1 Parâmetros físico-químicos e microbiológicos	64
3.4. Compostos bioativos e atividade antioxidante	76
4. CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81

RESUMO

O mel de abelhas sem ferrão (*Melipona scutellaris*) distingue-se pelas suas distintas propriedades nutricionais, terapêuticas e sensoriais quando comparado ao mel da abelha Apis. A comercialização deste mel enfrenta alguns obstáculos, principalmente na estabilidade durante o armazenamento, uma vez que sua composição peculiar apresenta maior umidade, sendo o produto mais suscetível a alterações. Embora exista um Regulamento Técnico sobre a Identidade e Qualidade do mel do gênero *Melipona* aplicado em todo o estado da Bahia, não existe legislação atual nacional para esse tipo de mel, comprometendo assim a qualidade do produto e segurança do consumidor. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi monitorar a composição físico-química, microbiológica e bioativa do mel de abelha sem ferrão (*Melipona scutellaris*) submetido a temperatura ambiente e de refrigeração durante o armazenamento, assim como obter dados científicos que possam auxiliar no estabelecimento de padrões de identidade e qualidade do produto. As amostras coletadas em Salvador-Bahia foram armazenadas em embalagens de polietileno a 30°C (temperatura ambiente) e 5°C (refrigeração) por 150 dias. Durante este período foram monitorados: pH, acidez total, umidade, atividade de água, hidroximetilfurfural, atividade diastásica, cinzas, cor, açúcares livres (HPLC-RI), compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS- +), e qualidade microbiológica. Os resultados mostraram que a qualidade do mel foi alterada em ambas as temperaturas a depender do tempo de armazenamento. As alterações mais pronunciadas ocorreram nos aumentos da acidez total e de HMF, e nas diminuições da atividade diastásica e de compostos bioativos. Dependendo do tempo e da temperatura de armazenamento, os três primeiros parâmetros não apresentaram conformidade com os estabelecidos pela Portaria N°. 207 (ADAB, 2014) para mel de Melipone, sendo as maiores incomformidades detectadas a 30 °C. O armazenamento a 5 °C por até 60 dias resultou nas menores alterações nas propriedades físicas e químicas, cor, contagem microbiológica, compostos bioativos e atividade antioxidante. Entretanto a partir de 60 dias, o armazenamento a 30 °C resultou em menor degradação de compostos bioativos associados a maior atividade antioxidante. A partir dos 60 dias / 5 °C iniciou-se o processo de cristalização da dextrose, e o teor de água permaneceu mais elevado, favorecendo a degradação dos compostos bioativos e a redução da atividade antioxidante. A cristalização também parece favorecer a reação de formação de HMF e o escurecimento do mel. Não foi detectada contaminação por coliformes totais, termotolerantes e *Salmonella* sp. Os bolores e leveduras foram detectados em quantidades reduzidas nos méis armazenados à temperatura ambiente, porém inferiores aos parâmetros estabelecidos pela Portaria n°. 207 (ADAB, 2014). Mesmo com a degradação, o mel armazenado por 150 dias em ambas as temperaturas ainda apresenta qualidade e propriedades funcionais, entretanto, os controles da temperatura e do tempo de armazenamento associados à cristalização são métodos de controle da degradação de compostos bioativos, atividade antioxidante, formação de HMF e mudança de cor do mel de *Melipona scutellaris*.

Palavras-chave: Mel Meliponinae, estabilidade, abelha Uruçu, cristalização, degradação.

ABSTRACT

The honey of stingless bees (*Melipona scutellaris*) is distinguished by its nutritional, therapeutic and sensorial properties different when compared to honey of the Apis bee. The commercialization of this honey faces some obstacles, mainly in the stability during the storage, since its peculiar composition presents greater humidity, being the product more susceptible to changes. Although there is a Technical Regulation on the Identity and Quality of Melipona honey applied throughout the state of Bahia, there is no current national legislation for this type of honey, thus compromising product quality and consumer safety. In this context, the objective of this study was to monitor the physico-chemical, microbiological and bioactive composition of stingless honey (*Melipona scutellaris*) submitted to room temperature and refrigeration during storage, as well as to obtain scientific data that may aid in the establishment of identity standards and product quality. Samples collected in Salvador-Bahia were stored in polyethylene packages at 30°C (ambient temperature) and 5°C (refrigeration) for 150 days. During this period were monitored: total pH, total acidity, water activity, hydroxymethylfurfural, diastase activity, ash, color, free sugars (HPLC-RI), total phenolic compounds, total flavonoids, antioxidant activity (DPPH, FRAP and ABTS-), and microbiological quality. The results showed that the honey quality was changed at both temperatures depending on storage time. The most pronounced changes occurred in increases of the total acidity and HMF, and in decreases in diastase activity and bioactive compounds. Depending on the storage time and temperature, the first three parameters did not comply with those established by Ordinance No. 207 (ADAB, 2014) for Melipone honey, with the highest incomformities detected at 30 °C. Storage at 5 ° C for up to 60 days resulted in minor changes in physical and chemical properties, color, microbiological counts, bioactive compounds and antioxidant activity. However, from 60 days, the storage at 30°C resulted in lower degradation of bioactive compounds associated with higher antioxidant activity. From the 60 days / 5 °C the process of crystallization of the dextrose began, and the water content remained higher, favoring the degradation of the bioactive compounds and the reduction of the antioxidant activity. Crystallization also seems to favor the reaction of HMF formation and browning of honey. No contamination was detected by total coliforms, thermotolerant and Salmonella sp. The molds and yeasts were detected in reduced amounts in the honeys stored at room temperature, but lower than the parameters established (n°. 207 - ADAB, 2014). Even with degradation, the honey stored for 150 days at both temperatures still shows quality and functional properties, however, the parameters temperature and storage time associated with crystallization are methods of controlling the degradation of bioactive compounds, antioxidant activity, formation of HMF and color change of *Melipona scutellaris* honey.

Key words: Meliponinae honey, stability, Uruçu bee, crystallization, degradation.

INTRODUÇÃO GERAL

O mel é um produto de grande importância comercial devido ao seu alto valor nutricional e por conter inúmeras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos do organismo. Quando se trata de abelhas produtoras de mel, a mais conhecida é a *Apis mellifera*, no entanto, devido a diversidade da fauna de abelhas no Brasil, outras espécies também são encontradas, como os meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão. A criação dessas abelhas (meliponicultura) é de fácil manejo e necessita de pouco investimento.

Segundo Vit et al., (2013), os produtos derivados das abelhas sem ferrão têm conquistado espaço nas indústrias que procuram matérias-primas naturais como base para o desenvolvimento de outros produtos. Em paralelo, pode-se observar uma demanda crescente de comercialização destes produtos, tanto no mercado internacional quanto nacional, com preços mais elevados, quando comparados aos méis do gênero *Apis*.

Atualmente, embora exista o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão gênero *Melipona*, que se aplica em todo estado da Bahia (Portaria ADAB, Nº 207), vale ressaltar que não existe uma legislação vigente que contemple o mel de abelhas sem ferrão, deixando a distribuição e comercialização desse produto limitada devido a falta de regulamentação de padrões de identidade e qualidade para o produto. Segundo Biluca et al., (2014), esses méis possuem vida de prateleira reduzida devido a sua composição peculiar, apresentando naturalmente maior teor de umidade e acidez, tornando-o mais susceptível a contaminações microbiológicas.

Diante do exposto, verifica-se uma crescente preocupação com a manutenção da qualidade do mel de abelhas sem ferrão, uma vez que este produto pode sofrer alterações em sua composição devido, principalmente, à forma de armazenamento e conservação (NORDIN et al., 2018). Logo, é extremamente importante o conhecimento das variações das características utilizadas como indicadores de qualidade destes méis, com o propósito de garantir produtos de qualidade no mercado cada vez mais exigente. Além disto, atualmente, o impacto do processamento e armazenamento no conteúdo de compostos polifenólicos e de flavonóides e na eliminação de radicais livres e atividade antioxidante do mel de abelhas sem ferrão ainda não é bem compreendida.

O conhecimento desses parâmetros durante o armazenamento e conservação do mel permite o controle da sua qualidade. Portanto, devido à escassez de estudos e a necessidade de um método oficial para as práticas de conservação, a proposta deste trabalho busca avaliar a

composição físico-química, microbiológica e compostos bioativos do mel de abelha sem ferrão urucu (*Melipona scutellaris*) submetido a duas diferentes temperaturas de armazenamento, 30 °C (ambiente) e 5 °C (refrigeração) por um período de 150 dias. Definindo as melhores condições de armazenamento, possibilitando a melhor forma de viabilidade de comercialização do produto.

O trabalho está apresentado em dois capítulos, organizados da seguinte forma: Capítulo 1 apresenta revisão bibliográfica contextualizada sobre as abelhas sem ferrão (Meliponinae), considerações sobre a meliponicultura; mel: principais características, composição e estabilidade; parâmetros de identidade e qualidade do mel; compostos fenólicos e atividade antioxidante e qualidade microbiológica do mel de abelha sem ferrão. O Capítulo 2 aborda as características físico-químicas (pH, acidez total, umidade, atividade de água, hidroximetilfurfural, atividade diastásica, teor de cinzas, cor e açúcares livres por CLAE-IR), compostos fenólicos totais e flavonoides totais, atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS⁺) e qualidade microbiológica através das análises de coliformes totais, termotolerantes, *Salmonella sp.* e bolores e leveduras do mel de abelha urucu (*Melipona scutellaris*) submetido a duas diferentes temperaturas de armazenamento, 30 °C (ambiente) e 5 °C (refrigeração) por um período de 150 dias.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Monitorar as alterações da composição físico-química, colorimetria, compostos bioativos, e contagem microbiológica do mel de abelha uruçu (*Melipona scutellaris*) armazenado durante 150 dias em duas diferentes temperaturas, e correlaciona-las com a estabilidade da atividade antioxidante, associados ao fornecimento de dados científicos que possam auxiliar no estabelecimento de padrões de identidade e qualidade do produto.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a estabilidade físico-química do mel submetido a duas diferentes temperaturas de armazenamento, 30 °C (ambiente) e 5 °C (refrigeração), por monitoramento dos parâmetros: pH, atividade de água, umidade, cinzas, acidez, atividade diastásica e hidroximetilfurfural (HMF) e colorimetria;
- Caracterizar os compostos bioativos do mel submetido as duas diferentes condições de armazenamento, através das análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro (FRAP), capacidade de remoção de radical orgânico *ABTS*⁺ e sequestro do radical DPPH;
- Determinar a influência da temperatura e do tempo de armazenamento do mel no perfil de açúcares livres separados por cromatografia instrumental (CLAE-IR);
- Monitorar a qualidade microbiologica do mel através da pesquisa de bolores e leveduras, microrganismos termotolerantes e *Salmonella* spp;
- Correlacionar os teores de compostos bioativos com a respectiva atividade antioxidante ao longo do armazenamento;
- Fornecer dados que possam contribuir com o estabelecimento de padrões de qualidade e identidade do mel de abelhas do gênero *Melipona*, prevendo também as alterações durante a estocagem do produto.

CAPÍTULO I

REVISÃO DA LITERATURA

Abelhas sem ferrão

O surgimento das abelhas ocorreu muito antes do homem, a cerca de 100 milhões de anos atrás, ao longo da história, esses animais foram cultuados por diversas civilizações como símbolo de riqueza, perseverança e trabalho. Originadas a partir de um grupo de vespas que modificaram a sua dieta habitual de insetos e ácaros para néctar e pólen a fim da obtenção de nutrientes. Das 20 mil espécies de abelhas existentes no mundo, estima-se que 25% são encontradas no Brasil. Pertencentes à ordem *Hymenoptera* e à superfamília dos *Apoidea* (grupo Apiformes), a espécie mais conhecida é a *Apis melífera* (A.B.E.L.H.A, 2017).

As *meliponinis* são abelhas caracterizadas por serem portadoras de uma forma atrofiada do ferrão, não possuindo o mesmo como arma defensiva, dessa forma, são designadas popularmente como abelhas sem ferrão (nativa). Essas abelhas pertencem à família *Hymenoptera* e à subfamília *Meliponinae*. Os principais gêneros de abelhas melíferas nativas são: *Melipona*, *Tetragonisca*, *Scaptotrigona*, *Plebeia* (na América), *Meliponula* (África), *Tetragonula* (Ásia) (SOUZA et al., 2009). Dentre os países que se destacam nas Américas pela criação de abelhas nativas estão México, Colômbia, Guatemala, Venezuela e Brasil (VIT et al., 2004).

O grupo tem mais de 500 espécies conhecidas mundialmente, sendo encontradas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, Sudoeste Asiático e Austrália (SILVA et al., 2009). No Brasil, 23% das espécies conhecidas de melípona habitam o território, destacando o Nordeste do país (Bahia ao Rio Grande do Norte), zonas de transição entre a Mata Atlântica e a Caatinga. A *Melipona scutellaris*, é a espécie mais cultivada para a produção de mel e própolis, gerando uma importante renda para a agricultura familiar (VIANA et al., 2013).

Devido a domesticação dessas abelhas pelos povos pré-colombianos, as mesmas ganharam nomes que ainda persistem na cultura popular brasileira: Jataí, Uruçu, Tiúba, Mandaçaia, Mosquito entre tantas outras. Em virtude da grande diversidade dessas espécies no Brasil (Tabela 1) é comum localizar mais de uma espécie com a mesma denominação (KERR et al., 1996). Porém a espécie de abelha a que se referem é diferente entre regiões, Estados ou ainda em uma mesma localidade, logo a nomenclatura científica é o único parâmetro seguro para a identificação de espécie de abelhas sem ferrão (NOGUEIRA-NETO, 1997; FREITAS, 2003).

TABELA 1 – Principais espécies de abelhas sem ferrão do Brasil - localização geográfica e bioma de ocorrência.

Espécie de Abelha sem ferrão	Bioma e Localização Geográfica
<i>Melipona compressipes manaoensis</i> ; <i>M. seminigra merrillae</i> Cockerell; <i>M. rufiventris paraensis</i> Ducke;	Amazônia (Amazonas)
<i>Frieseomellita</i> sp. ; <i>M. compressipes fasciculata</i> Smith; <i>M. compressipes manaoensis</i> ; <i>M. rufiventris flavolineata</i> Friese; <i>M. melanoventer</i> Schwarz; <i>M. seminigra pernigra</i> Moure & Kerr; <i>M. seminigra</i> Moure & Kerr (<i>Tapajós</i> subsp.); <i>Scaptotrigona nigrohirta</i> Moure; <i>Tetragona clavipes</i> Fabricius; <i>Tetragonisca angustula</i> Latreille;	Amazônia (Pará e Maranhão)
<i>M. crinita</i> Moure & Kerr; <i>M. eburnea fuscopilosa</i> Moure & Kerr; <i>M. flavolineata</i> Friese; <i>M. grandis</i> Guérin-Méneville; <i>Tetragonisca weyrauchi</i> Schwarz;	Amazônia (Acre)
<i>M. compressipes fasciculata</i> Smith; <i>M. fulva</i> Lepeletier;	Amazônia (Amapá)
<i>M. asilvai</i> Moure; <i>Scaptotrigona</i> sp. ; <i>M. subnitida</i> Ducke;	Caatinga (Nordeste)
<i>M. rufiventris</i> Ducke; <i>M. scutellaris</i> Latreille; <i>M. quadrifasciata</i> Lep. ; <i>Tetragonisca angustula</i> Latreille;	Mata Atlântica (Nordeste e Sudeste)
<i>Frieseomelitta varia</i> Lepeletier; <i>M. rufiventris</i> Ducke; <i>Scaptotrigona</i> sp. ; <i>M. mandacaia</i> Smith.	Savana (Nordeste)

Fonte: Adaptado de CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006.

De forma geral, uma colônia de abelhas sem ferrão é constituída por dois elementos principais: o ninho e os potes de alimento (Figura 1). O ninho é formado por uma mistura de própolis, cera e barro, consiste basicamente de células de cria, onde a rainha deposita um ovo que dará origem a uma nova abelha. Essas células estão quase sempre envoltas por uma fina membrana de cera e/ou resinas chamada invólucro, que servem para auxiliar no controle da

temperatura do ninho, e podem estar arranjadas em camadas horizontais chatas e sobrepostas, espiraladas ou em cachos. Portanto, as células de cria ficam na posição vertical e a abertura é na parte superior (FREITAS, 2003).

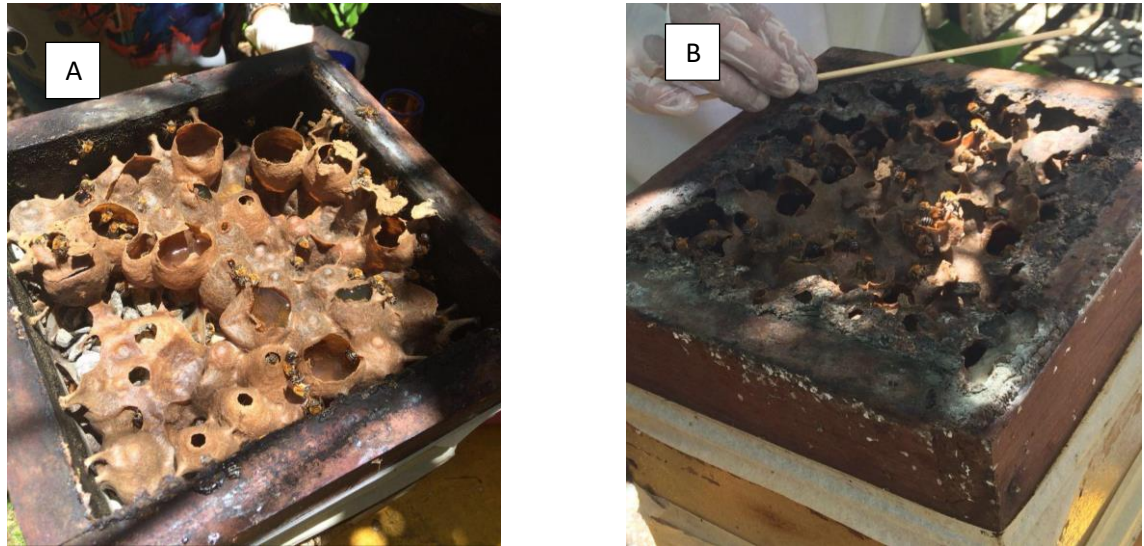


Figura 1 - Potes de alimento (A), Colônia de abelha uruçú (*M. scutellaris*) nordestina instalada em caixa (B).

Os potes de alimento usualmente são em formato de ovo (elipsoides), constituídos de cerume, podendo apresentar variados tamanhos conforme a espécie. Pólen e mel são armazenados separadamente. No entanto, em uma colônia de abelhas sem ferrão, podemos encontrar dois tipos de potes de alimento: potes de pólen e potes de mel (VILLAS-BÔAS, 2012).

Do ponto de vista ecológico, as abelhas são relevantes para a manutenção da diversidade de espécies de vegetais, sendo fundamentais na polinização da maior parte das culturas agrícolas e essenciais para a reprodução sexual das plantas, portanto uma polinização realizada com excelência, garante uma variabilidade genética dos vegetais e bons frutos (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Em relação ao ponto de vista econômico, as abelhas produtoras de mel geram uma renda complementar para os pequenos e médios apicultores, de acordo com a Abemel, (2013), cerca de 90% dos apicultores no Brasil praticam a agricultura familiar com renda de R\$ 6 mil por ano. A produção do mel apresenta a possibilidade de sua fabricação durante o ano todo, devido ao clima e florada (PAULA, 2008).

Meliponicultura

A meliponicultura, é o termo designado para a criação racional de abelhas nativas sem ferrão. O termo foi utilizado pela primeira vez por Paulo Nogueira-Neto em 1953. Essa atividade pode ser desenvolvida juntamente a áreas naturais, com culturas de ciclo curto, plantios florestais e de frutíferas. Além disso, o interesse dos agricultores em relação a criação de abelhas nativas é crescente, por vários motivos, destacando-se por ser uma atividade que não exige força física e muito tempo para o manejo, podendo ser realizada por idosos, mulheres e jovens, e com boas chances de retorno financeiro (VENTURIERI, 2008).

No Brasil, o manuseio de abelhas sem ferrão, assim como de qualquer outro animal silvestre, dispõe de legislação específica. A Resolução CONAMA Nº 346 regulariza a utilização das abelhas nativas e a implantação de meliponários, considerando o valor da meliponicultura no âmbito econômico, social e ambiental (BRASIL, 2004).

Por serem mais sensíveis e exigentes em relação às condições climáticas e florísticas de seu habitat, as abelhas nativas sem ferrão estão mais vulneráveis às destruições provocadas pelo homem (KERR et al., 1996). Nessa perspectiva, a meliponicultura, quando realizada com base em conhecimentos e técnicas adequadas, a perda de colônias e a destruição de ninhos naturais pode ser evitada, contribuindo, de modo sustentável, tanto para a manutenção da biodiversidade quanto para a geração de renda (VENTURIERI, 2008; COLETTTO-SILVA, 2005).

A meliponicultura também tem sido apresentada como um importante fator de codesenvolvimento em áreas de Proteção Ambiental, já que a mesma não é uma atividade predatória conciliável às ações de Proteção Ambiental, bem como fornecedora de renda às famílias envolvidas (SILVA & LAGES, 2001).

Mel de abelha sem ferrão

Segundo o Decreto-Lei Nº 214 de 18 de Setembro de 2003, mel é definido como uma substância açucarada natural, produzida por abelhas produtoras de mel (*Apis mellifera*) a partir do néctar de plantas ou a partir de secreções de partes vivas de plantas ou secreções de insetos sugadores de plantas em partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam por combinação com substâncias que elas próprias produzem, depositam, desidratam e armazenam nas colmeias para posterior maturação.

Na antiguidade, o mel era a única fonte de açúcar consumida pelo homem em sua alimentação, no Egito antigo, de acordo com os registros decifrados, o alimento não era apenas

utilizado como nutriente, a sua principal funcionalidade era como medicamento, participando de 500 dos 900 remédios da época (COUTO & COUTO, 2002; SOUZA et al., 2016).

De acordo com a origem botânica, o mel pode ser classificado em floral, quando o mesmo é obtido através dos néctares das flores, existindo ainda dentro dessa classificação os méis uniflorais ou monoflorais - predominantemente originário de flores de uma mesma família, gênero ou espécie que possua as características físico-químicas e microscópicas próprias. Ou multiflorais, quando o mel é obtido a partir de diferentes origens florais. Também pode ser categorizado como mel de néctar, obtido a partir do néctar das plantas, ou em mel de melada, obtido principalmente a partir das excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre as partes vivas das plantas ou de secreções provenientes das partes vivas das plantas (CAMARGO et al., 2017).

A composição do mel é bastante variável, dependendo principalmente da origem floral e de sua origem entomológica, visto que diferentes espécies de abelhas possuem hábitos florais distintos. Ademais, existem outros fatores que também irão influenciar na composição do mel, como o tipo de solo, clima e período de maturação (SILVA et al., 2004; ZAMORA & CHIRIFI, 2006).

Dentre os componentes existentes no mel, os principais, portanto, são os glicídios frutose e glicose representando cerca de 70-80%, e a água (17-20%). Ainda possui em sua composição ácido glucônico, lactona, minerais, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, fenólicos, compostos voláteis e algumas vitaminas (KHALIL et al., 2010).

Após a maturação do mel, ocorre a extração e o processamento do mesmo e dos subprodutos da meliponicultura, os quais contemplam as etapas apresentadas na Figura 2. A realização desses procedimentos de forma adequada é fundamental para garantir um produto final de qualidade.

A China, nos últimos anos, tem se destacado como maior produtor e exportador de mel do mundo, abastecendo anualmente o mercado internacional com cerca de 70 mil toneladas deste produto.

Em relação ao Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a quantidade de mel produzida pelo país em 2016 foi de 39,59 mil toneladas, desses, a Região Sul foi a maior produtora, responsável por 43,1% do total nacional, seguida pelas Regiões Nordeste (26,16%), Sudeste (24,2%), Centro-Oeste (4,3%) e Norte (2,3%).

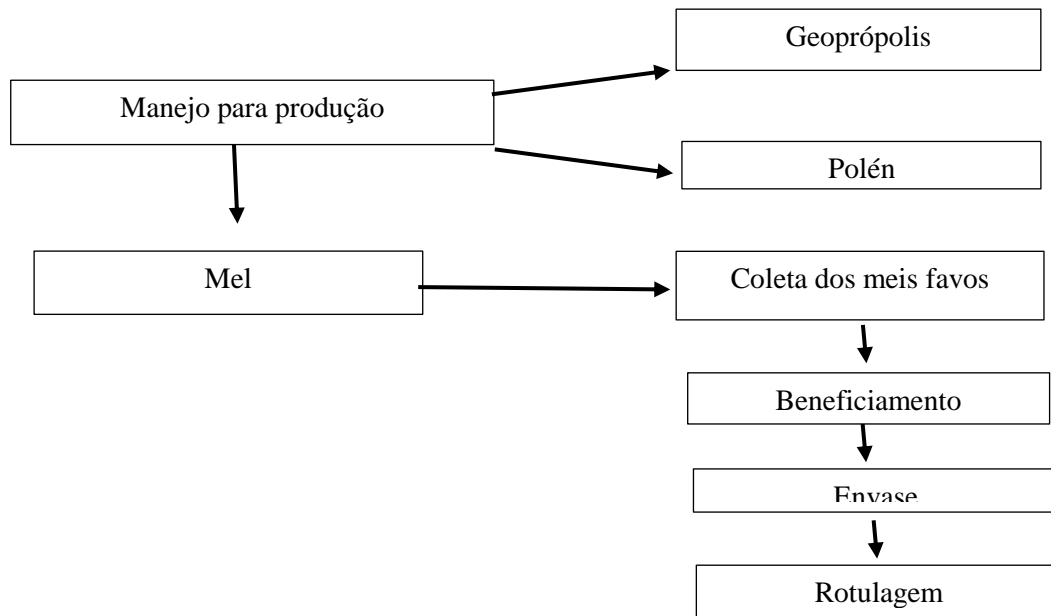


Figura 2 – Fluxograma do processamento do mel (VILLAS-BÔAS, 2012, adaptado).

No mercado mundial, tem-se observado um incremento das exportações de mel natural do Brasil, visto que o mel exportado pelo o mesmo é reconhecido pela sua alta qualidade e valor agregado diante dos países exportadores, com a perspectiva da diversificação de produtos derivados, bem como a introdução deste alimento nos hábitos alimentares (COSTA JUNIOR, 2017). No setor industrial o mesmo tem sido utilizado em ampla escala, seja na indústria de alimentos (aditivo), farmacêutica, medica, cosmética e de bebidas.

Parâmetros de identidade e qualidade do mel de abelha sem ferrão

A legislação que estabelece os procedimentos de controle de qualidade do mel para consumo humano é a Instrução Normativa de 20 de outubro de 2000, mas regula apenas os parâmetros de méis de abelhas *Apis* no Brasil, assim como a do *Codex Alimentarius* (2001) que estabelece normas para méis internacionais. Ambas determinam como requisitos de qualidade físico-química do mel os parâmetros indicados na Tabela 2. No entanto, a Portaria ADAB nº 207 de 21/11/2014 aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão do gênero *Melipona* com o objetivo de estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve cumprir o mel de abelha social sem ferrão gênero *Melipona* submetido ao processo de conservação por desumidificação ou refrigeração e destinado ao consumo humano direto.

Devido a ampla diversidade de espécies de abelhas e vegetação disponíveis no Brasil, torna-se difícil a proposição de uma única norma para todo o país. Geralmente suas características físico-químicas são realizadas através de adaptações dos métodos desenvolvidos para o mel tradicional de *Apis mellifera* (VILLAS-BÔAS & MALASPINA, 2004).

Tabela 2 - Especificações das normas brasileira e internacional para o controle de qualidade de mel de abelha *Apis mellifera* e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha sem ferrão, gênero *Melipona* da Portaria ADAB nº 207 de 21/11/2014 da Bahia.

Parâmetros	Norma Brasileira, Nº 11, (BRASIL, 2000)	Codex <i>Alimentarius</i> , 1990	Portaria Nº 207, (ADAB, 2014)	
			MD	MR
Umidade (%)	Max. 20	Max. 20	Max. 19	20-35
Acidez total (meq kg ⁻¹)	Max. 50	Max. 50	Max. 50	
Sacarose aparente (%)	Max. 6,0	Max. 10	Max. 6g	
Açúcares redutores (%)	Min. 65	Min. 60	Min. 60	
Cinzas (%)	Max. 0,6	-	Max. 0,6	
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	-	Max. 0,8	-	
Sólidos insolúveis (%)	Max. 0,1	Max. 0,1	Max. 0,1	
HMF (mg kg ⁻¹)	Max. 60	Max. 40; e em regiões tropicais Max. 80	Máx. 10	
Atividade diastásica (°Gothe)	Min. 8 na escala Gothe; ou 3, se o HMF < 15 mg.kg ⁻¹	Min. 8 na escala Gothe; ou 3, se o HMF < 15 mg.kg ⁻¹	Máx. 03	

MD - mel desumidificado; MR - mel refrigerado.

Para Alvez e colaboradores (2005), o uso generalizado desses valores referentes aos parâmetros físico-químicos do mel de abelhas *Apis* ou de uma determinada espécie de abelha sem ferrão, para os demais poderá resultar em problemas relacionados a comercialização desse produto no mercado interno e externo, uma vez que a composição desse mel é muito variável.

Segundo Ramón-Sierra e colaboradores (2015), os méis das abelhas sem ferrão apresentam um teor de umidade maior do que os méis produzidos pelas abelhas *Apis*, conferindo-lhes uma viscosidade mais baixa. O teor de umidade elevado (25-35%) ocorre especialmente devido ao néctar das flores subterrâneas, frutos maduros ricos em água, espécies diferentes de abelhas e ambiente tropical úmido (STRAMM, 2011; VILAS BOAS & MALASPINA, 2015). O teor de umidade do mel da abelha sem ferrão pode variar de 13,26 g.100 g⁻¹ até 45,80 g.100 g⁻¹ (Tabela 3). Esse parâmetro pode gerar um aumento da atividade da enzima glicose oxidase, ocasionando uma maior produção do ácido glucônico, diminuindo o pH e aumentando a acidez livre (GROSSI, 1998; NOGUEIRA NETO, 1997).

Tabela 3 - Especificações das características físico-química para o controle de qualidade e identidade de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referencias.

Espécie de abelhas	Umidade (g.100g⁻¹)	A.T. (mEq.kg⁻¹)	pH	A.D. (Gothe.g⁻¹)	HMF (mg.kg⁻¹)	Cinzas (g.100 g⁻¹)	Referência
<i>Melipona asilvai</i>	29,50	41,60	3,27	-	2,40	-	Souza et al., 2004
<i>Melipona beecheii</i>	28,62	41,52	3,20	1,30	9,23	0,46	Alvarez-Suarez et al., 2018
<i>Melipona fasciculata</i>	25,45	29,05	4,35	-	-	0,32	Fernandes et al., 2018
<i>Melipona favosa</i>	25,20	62,90	-	0,90	1,20	0,29	Vit et al., 1994
<i>Melipona flavolineata</i>	35,11	143,67	3,41	-	34,62	-	Lemos et al., 2017
<i>Melipona mandacaia</i>	28,80	43,50	3,27	-	5,80	-	Alves et al., 2005
<i>Melipona quadrifasciata</i>	45,00	103,3	3,35	-	31,5	-	Souza et al, 2006
<i>Melipona rufiventris</i>	27,70	38,20	4,21	<3,00	< 0,31	-	Biluca et al., 2016
<i>Melipona scutellaris</i>	23,40	28,70	4,52	<3,00	< 0,31	-	Biluca et al., 2016
<i>Melipona scutellaris</i>	28,00	40,38	3,55	2,16	1,77	0,18	Carvalho et al., 2009
<i>Melipona solani</i>	25,00	85,00	4,00	-	78,50	-	Grajales et al., 2001
<i>Melipona sp</i>	13,86	12,59	4,21	15,63	4,21	-	Nweze et al., 2017
<i>Melipona subnitida</i>	26,40	42,65	3,95	-	-	0,20	Sousa et al., 2016
<i>Cephalotrigona capitata</i>	27,00	31,50	3,62	-	3,40	0,52	Almeida and Marchini, 2004
<i>Homotrigona fimbriata</i>	41,00	528,00	3,30	-	46,00	1,00	Chuttong et al., 2016
<i>Lepidotrigona doipaensis</i>	31,50	197,50	3,50	1,60	2,30	0,51	Chuttong et al., 2016
<i>Partamona epiphytophila</i>	45,80	-	-	-	-	-	Rodriguez et al., 2009
<i>Scaptotrigona mexicana</i>	23,94	-	3,75	-	12,61	0,50	Jimenez et al., 2016
<i>Trigonalaeviceps Smith</i>	15,73	50,83	3,44	11,11	3,32	0,14	Issaro et al., 2013
Variação	15,73-45,80	12,59-528,00	3,20-4,52	0,90-15,63	< 0,31-78,50	0,14-1,00	-

.A.T. = Acidez Total; HMF = Hidroximetilfurfural; A.D.= Atividade Diastásica. (-) ausência do parâmetro no estudo.

A ampla variação da acidez do mel (12,59 a 528,00 mEq.kg⁻¹, Tabela 3) pode decorrer da variação dos ácidos orgânicos, das diversas fontes de néctar pela ação da enzima glicose-oxidase que dá origem ao ácido glucônico, além da ação das bactérias durante a maturação, podendo ser ainda oriunda da presença de ácidos orgânicos em equilíbrio com suas lactonas correspondentes (FINOLA et al., 2007). O menor valor de acidez livre foi medido em *Melipona scutellaris* no Brasil e o maior valor de acidez livre foi observado *Homotrigona fimbriata* na Tailândia (BILUCA et al., 2016 ; CHUTTONG et al., 2016). Os ácidos fórmico, butírico, acético, cítrico, málico, maleico, láctico, oxálico, pirúvico, succínico, fumárico e tartárico são outros ácidos que podem ser encontrados em menor quantidade no mel. A alta acidez também pode indicar a fermentação de açúcares em ácidos orgânicos (SANCHO et al., 2013; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; SOUZA et al., 2006; VIT et al., 1998).

Os ácidos presentes nos méis se dissolvem em uma solução aquosa produzindo íons de hidrogênio provocando a diminuição do pH, permitindo avaliar as condições de armazenamento e processos de fermentação. O mel apresenta natureza ácida e os valores de pH variam em torno de 3,20 a 4,52 (Tabela 3), dificultando assim, a presença e o crescimento de bactérias, além de ser importante durante a extração e estocagem, por influenciar na estabilidade e vida útil do produto (OUCHEMOUKH et al., 2007). De acordo com Crane (1983) as variações observadas no pH do mel ocorrem possivelmente devido as particularidades na composição florística das áreas de coleta das abelhas, que podem influenciar o pH do néctar, substâncias presentes na mandíbula das abelhas acrescidas durante o transporte do néctar até a colmeia, ou na composição do solo. Por esses motivos o pH do mel tem sido útil na determinação da sua origem geográfica (ACQUARONE et al., 2007).

Embora um intervalo de valor de pH não esteja estabelecido pelas legislações oficiais (GUERRINI et al., 2009) como parâmetro obrigatório no controle de qualidade do mel, o mesmo se mostra útil como auxiliar na avaliação da qualidade deste produto, uma vez que o pH sobre influência na velocidade da formação do hidroximetilfurfural (ACQUARONE et al., 2007).

Uma das enzimas presentes no mel é a alfa-amilase, também conhecida como a diástase, que é formada a partir das glândulas hipofaríngeas das abelhas, podendo ser encontrada também, em pequenas quantidades, nos grãos de pólen. Essa enzima possui a função de digerir a molécula de amido, sendo muito sensível ao calor, e serve como indicador do grau de conservação e superaquecimento do produto (WHITE JUNIOR, 1992; WHITE JÚNIOR, 1994). Segundo Aroucha et al., (2008), se houver ausência dessa enzima no mel, significa que o mesmo sofreu processos inadequados ou adulterações, como uso da temperatura acima de 60

°C, ou adição de açúcar invertido, ou também inadequadas condições de armazenamento. Assim, a atividade diastásica é geralmente usada como um indicador do frescor do mel (PASIAS et al., 2017).

Os valores da atividade diastásica de mel de baelhas sem ferrão relatados na literatura variam de 0,9 a 15,63 Gothe.g⁻¹ (Tabela 3). A menor atividade diastásica foi relatada para mel de *Melipona favosa* da Venezuela, e o maior para mel de *Melipona scutellaris* da Nigéria (VIT et al., 1994; NWEZE et al., 2017).

O hidroximetilfurfural (HMF) é formado pela reação de alguns açúcares simples ou ácidos, e essencialmente pela decomposição da frutose (Figura 2). Existem vários fatores que têm sido relacionados ao aumento do conteúdo de HMF, incluindo aquecimento, condições de armazenamento, pH e adulteração de mel com açúcares simples, água, acidez e minerais do mel (PASIAS et al., 2017).

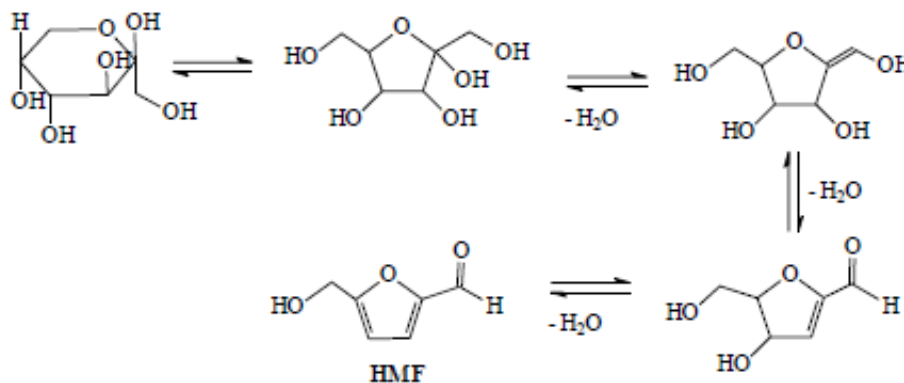


Figura 3 - Mecanismo de formação do HMF (5-hidroximetilfurfural) (BOGDANOV, 2009).

Os dados disponíveis sobre HMF de méis de abelhas sem ferrão mostram uma ampla variação, com valores menores de 0,31 até 78,50 mg.kg⁻¹ (Tabela 3), para méis de *Melipona rufiventris mondury* e *Melipona scutellaris* na Índia e *Melipona solani* do México, respectivamente (GRAJALES et al., 2001; BILUCA et al., 2016). Em países subtropicais, os níveis de HMF podem se formar naturalmente ainda na colméia, devido as altas temperaturas das regiões. Sabe-se que, para cada 10°C aumentados no tratamento térmico do mel, aumenta-se a velocidade de produção de HMF em cerca de 4,5 vezes (SILVA et al., 2004).

O teor de umidade naturalmente mais alto de méis de abelha sem ferrão influencia diretamente seu conteúdo de HMF. No entanto, mel de abelha sem ferrão tem sido relatado

como mais resistente à formação de HMF comparado ao mel de *Apis mellifera* quando submetido a tratamento térmico (BILUCA et al., 2014).

O teor de cinzas do mel correlaciona-se com o conteúdo de minerais, e esse parâmetro é influenciado principalmente pela composição do néctar da origem botânica, uma vez que a planta produtora de néctar absorve os minerais do solo, que eventualmente são transferidos para o néctar utilizado pelas abelhas para a produção do mel (FELSNER et al., 2004). Os minerais existentes no mel podem influenciar na coloração do mesmo, e segundo Alves et al., (2005), os minerais mais encontrados nos méis são o cálcio, sódio e o ferro.

O conteúdo de cinzas no mel também determina algumas irregularidades do mesmo, como a falta de higiene, a não decantação e/ou filtração no final do processo e origem geográfica, já que as diferenças do conteúdo de cinzas dos méis podem estar relacionadas ao meio ambiente, condições de processamento e produção (FELSNER et al., 2004; EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005). Os teores de cinzas de mel de abelhas sem ferrão relatados na literatura variam de 0,18 g.100 g⁻¹ até 1,00 g.100 g⁻¹ (Tabela 3). O menor teor de cinzas é observado em mel de *Melipona scutellaris* do Brasil, e o maior teor em mel de *Homotrigona fimbriata* mel da Tailândia (Tabela 3, CARVALHO et al., 2009; CHUTTONG et al., 2016).

Alem da água, os principais componentes majoritários do mel são os açúcares. O mel em geral é composto por 80% de monossacarídeos – frutose e glicose, e 10% de dissacarídeos – sacarose e maltose (SILVA et al., 2013). Os diferentes tipos de açúcar presentes no mel podem gerar alterações físicas no produto, como da densidade, higroscopicidade, viscosidade, e cristalização do mel (MENDES et al., 2009). A frutose é encontrada em maior quantidade, e elevadas concentrações de sacarose são influenciadas pela origem botânica, ou ser um indicador de que o mel sofreu com algum tipo de adulteração, ou ainda foi extraído de forma prematura (MATEO & BOSCH-REIG, 1998).

Na Tabela 4, são relacionados o perfil de açúcares encontrados em méis de abelha sem ferrão. Observa-se que a soma da frutose e glicose (açúcares redutores) varia de 12,50 g.100 g⁻¹ a 68,90 g.100 g⁻¹. O menor teor de açúcares redutores foi detectado no mel de *Tetrigona Apicalis* da Tailândia, enquanto o maior teor de açúcares redutores no mel de *Melipona asilvai* da região semi-árida do Estado da Bahia (CHUTTONG et al., 2016; SOUZA et al., 2004).

Tabela 4 – Composição de açúcares de diferentes méis de abelha sem ferrão e respectivas referências.

Espécie de abelhas	Glicose + Frutose (g.100 g ⁻¹)	Frutose (g.100g ⁻¹)	Glicose (g.100 g ⁻¹)	Maltose (g.100 g ⁻¹)	Sacarose (g.100 g ⁻¹)	Referência
<i>Melipona asilvai</i>	68,90	-	-	-	4,70	Souza et al., 2004
<i>Melipona bicolor</i>	60,14	32,84	27,22	-	< 0,07	Biluca et al., 2016
<i>Melipona scutellaris latrelle</i>	67,38	54,30	42,43	-	2,40	Sousa et al., 2016
<i>Melipona seminigra</i>	-	31,84	29,60	-	0,18	Almeida-Muradian et al., 2007
<i>Melipona subnitida</i>	-	29,21	21,76	-	4,86	Almeida et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	67,63	54,38	42,73	-	1,85	Sousa et al., 2016
<i>Frieseomelitta aff varia</i>	61,00	-	-	-	4,80	Vit et al., 1994
<i>Geniotrigona thoracica</i>	29,64	12,01	17,63	35,30	-	Tukshita et al., 2018.
<i>Heterotrigona erythrogastra</i>	27,20	12,30	14,90	45,20	-	Tukshita et al., 2018.
<i>Tetragona clavipes</i>	48,60	40,20	8,21	-	0,07	Biluca et al., 2016
<i>Tetragonula laeviceps</i>	47,87	27,08	20,80	-	19,15	Suntiparapop et al., 2012
<i>Tetrigona apicalis</i>	12,50	6,75	5,90	-	-	Chuttong et al., 2016
<i>Trigona fuscipennis</i>	56,60	36,22	20,40	-	< 0,07	Biluca et al., 2016
Variação	12,50 - 68,90	6,75 - 54,38	5,90 - 42,73	35,30 - 45,20	0,07 - 19,15	-

(-) ausência do parâmetro no estudo.

A glicose é o componente menos solúvel de todos os açúcares do mel e é supersaturada em quase todos os méis, sendo o principal responsável pela cristalização do mel (ZAMORA & CHIRIFE, 2006). Além dos açúcares redutores, outros açúcares, como a sacarose e maltose, também são relatados em méis de abelhas sem ferrão. A presença desses dissacarídeos é frequentemente menor, quando comparados com a frutose e glicose, ou não detectados (SOUSA et al., 2016).

De acordo com Mateo & Bosch-Reig, (1998), a formação dos açúcares depende principalmente dos tipos de flores utilizadas pelas abelhas, assim como as condições climáticas e regionais. Elevadas concentrações de sacarose são devido a origem botânica ou pode ser um indicativo de que o mel sofreu com algum tipo de adulteração ou foi extraído de forma prematura.

A cor do mel pode variar de amarelo palha a preto, e depende do conteúdo mineral, polén e fenólicos contidos no mel (SOLAYMAN et al., 2016), e de acordo com sua origem

geográfica (BERTONCELJ et al., 2007). O método de produção e práticas agrícolas também podem influenciar a cor do mel (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013).

Juntamente com outras características sensoriais como sabor e aroma, a cor é um atributo que pode indicar a origem botânica da amostra. Dentre os métodos instrumentais, um dos mais usados é o método de refletância do sistema CIE $L^*a^*b^*$ (BERTONCELJ et al., 2007). O parâmetro L^* indica o grau de luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco). Alguns autores classificam o mel como claro quando L^* é maior do que 50 e como escuro quando L^* é menor do que 50. O valor de a^* positivo indica componentes vermelhos e negativo indica componentes verdes, enquanto o valor de b^* positivo indica componentes amarelos e negativos indica componentes azuis (GONZÁLEZ-MIRET et al., 2005).

Compostos bioativos e atividade antioxidante do mel de abelha sem ferrão

Os antioxidantes relatados no mel incluem substâncias enzimáticas e não enzimáticas, além de mais de 150 compostos bioativos, incluindo flavonóides, flavonóis, ácidos fenólicos, catequinas e cinâmicos derivados ácidos. Também contém pequenas quantidades de outros constituintes, tais como minerais, proteínas, vitaminas, ácidos orgânicos e outros fitoquímicos que contribuem para os seus efeitos antioxidantes. Os componentes no mel que são responsáveis pelos efeitos antioxidantes são flavonóides, ácidos fenólicos, ácido ascórbico, catalase, peroxidase, carotenóides e produtos das reações de Maillard (SILVA et al. 2010). A quantidade destes componentes varia muito, dependendo da origem floral e geográfica. Além disso, o processamento, manuseio e armazenamento de mel podem influenciar sua composição (GOIS et al., 2013).

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas no reino vegetal, geradas a partir do metabolismo secundário das plantas (ZHONG, 2011). Os vegetais possuem dois tipos de metabólitos, (Figura 4). Os primários correspondem à sobrevivência do vegetal, com função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes. Os secundários respondem às condições ambientais a qual o vegetal está associado e à estratégia de defesa das plantas, então a partir desse metabolismo são produzidos os metabólitos secundários – terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (ERB et al., 2013). Devido a essas funções secundárias, são conferidos a estes compostos atividade antioxidante, atuando como inibidores de radicais livre (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2012;

ZALUSKI; CARPENTER; JANECKO, 2015). Os polifenóis podem apresentar-se em sua forma livre ou complexada a açúcares e proteínas (PEREIRA, 2010).

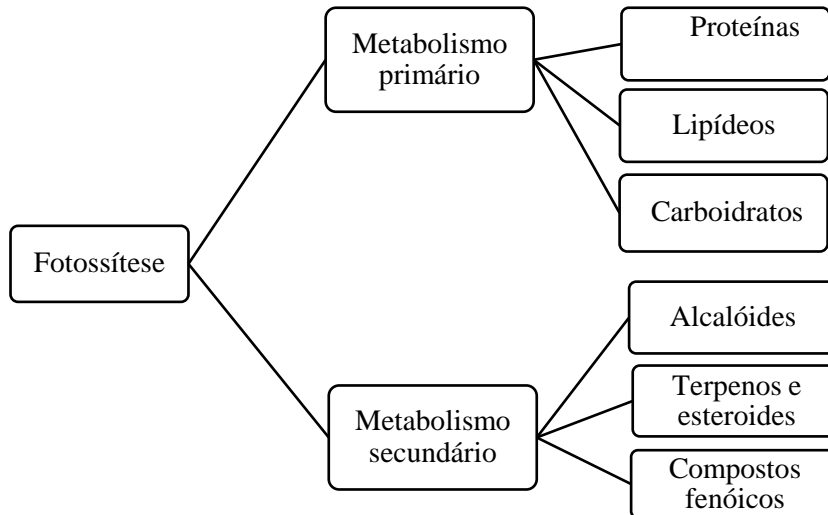


Figura 4 - Metabolismo primário e secundário das plantas.

Os compostos fenólicos são os mais estudados dentre as substâncias antioxidantes de ocorrência natural, uma vez que conseguem inibir a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro*, além de estarem relacionados ao efeito da prevenção de diversas doenças cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas (DEL RIO et al., 2013; GRANATO 2015). Tal capacidade antioxidante está ligada principalmente as suas propriedades redutoras e estrutura química (duplas ligações e o número de grupos hidroxilas em anéis aromáticos), características estas essenciais na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição (ZHOU et al., 2012).

De acordo com a sua respetiva estrutura química podem ser divididos em classes de ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos e taninos (BALASUNDRAM et al., 2006). Quanto à sua estrutura química, caracterizam-se por possuir pelo menos um anel aromático, contendo um ou mais grupos hidroxilas, ou seus derivados funcionais, representado na Figura 5.

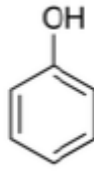


Figura 5 - Estrutura de um fenol (Hidroxibenzeno).

Os flavonoides são em geral, substâncias polifenólicas caracterizadas pela presença de 15 átomos distribuídos em uma estrutura tricíclica (A, B, C) do tipo C6-C3-C6 (Figura 6). Podem ser encontrados na forma livre (agliconas) ou conjugadas (heterosídeos), porém frequentemente ocorrem como glicosídeos (DORNAS, 2007). A atividade antioxidante dos flavonoides é dada, principalmente, pelo número e posição de metoxilas e hidroxilas presentes nos anéis aromáticos (SHAHIDI et al., 1992).

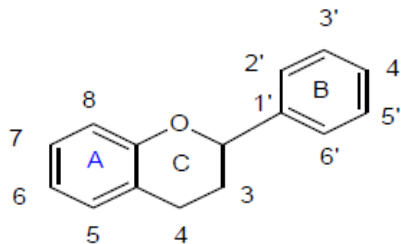


Figura 6 - Estrutura química típica dos flavonoides, composta por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C).

Variadas atividades biológicas são associadas aos compostos fenólicos e flavonoides, entre elas: ação antioxidante, antiviral, antifúngica, antibacteriana, antiinflamatória, antialérgica, antitrombótica, antitumoral e moduladora do sistema imune (CUSHNIE & LAMB, 2005; JAGANATHAN & MANDAL, 2009).

O ácido gálico e p-cumárico foram identificados como fenólicos dominantes no mel de abelha sem ferrão, e por sua vez os ácidos cafeico, ferúlico, elágico, clorogênico, siríngico, vanílico, cinâmico e p-hidroxibenzóico como constituintes minoritários (Figura 7) (ANDRADE et al., 1997; ALJADI E YUSOFF, 2003; BERTONCELJ et al., 2007; ESTEVINHO et al., 2008).

Os principais flavonóides presentes no mel de abelha sem ferrão são miricetina, tricetina, quercetina, hesperatina, luteolina, caempferol, pinocembrina, crisina, pinobanksina,

genkvanina e galangina (ANKLAM, 1998; YAO et al., 2004; BALTRUŠAITYTĖ et al., 2007; BERTONCELJ et al., 2007).

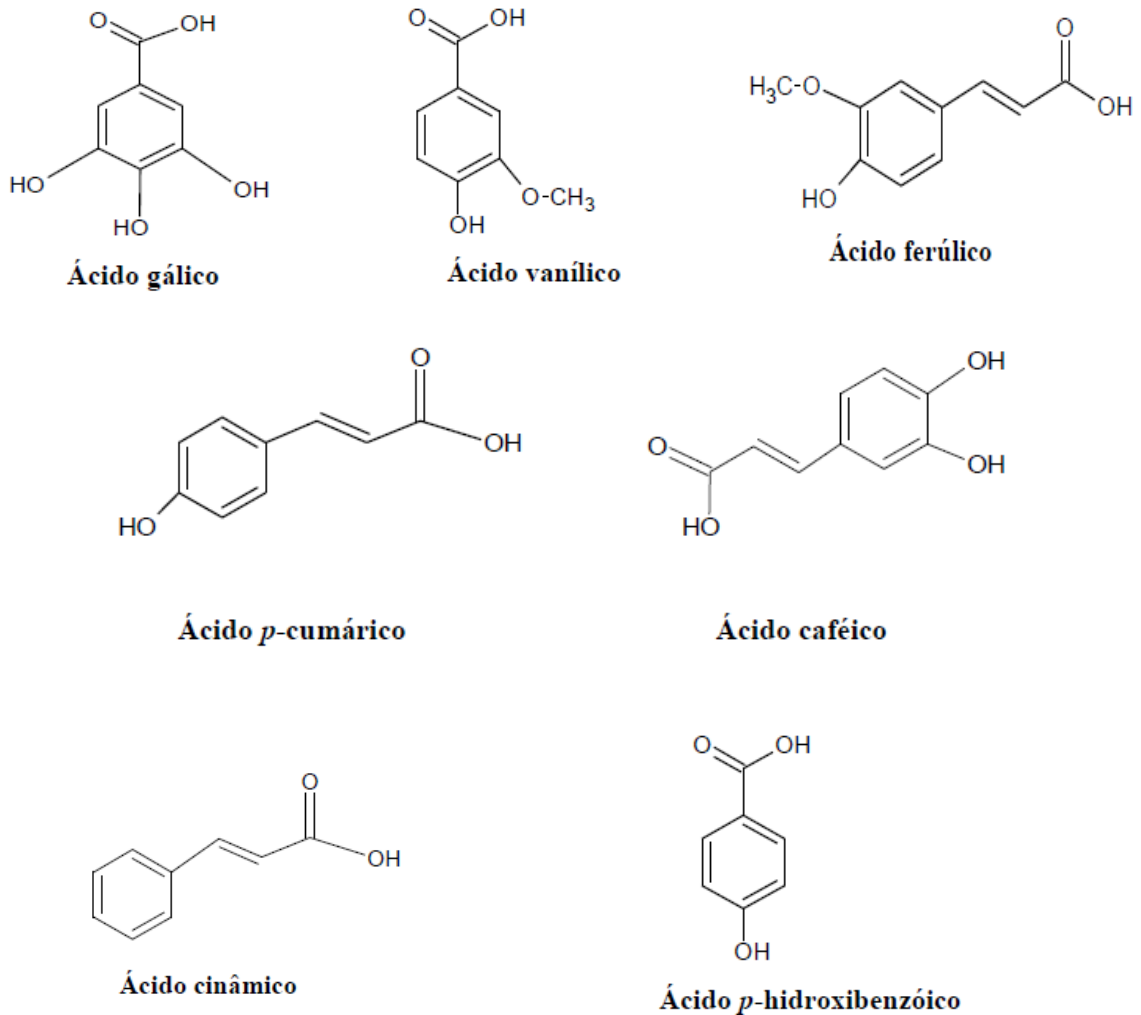


Figura 7 – Ácidos fenólicos presentes em mel.

O perfil de fenólicos e flavonoides nos méis pode ser influenciado por diversos fatores, dependendo principalmente da origem botânica. O néctar é a principal fonte de compostos fenólicos presentes no mel, sendo, assim, uma ferramenta auxiliar a análise polínica para identificação da origem botânica do mel (KUÇUK et al., 2007).

Existem duas classes de compostos com atividade antioxidante no mel: os que possuem atividade enzimática: glicoseoxidase, a catalase e a peroxidase, que atuam como conservantes naturais do mel, reduzindo o oxigênio atmosférico em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que por sua vez age como barreira antimicrobiana na superfície do mel (BOGDANOV, 1997); e os antioxidantes não enzimáticos, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, derivados carotenóides, e produtos da reação de Maillard, além de aminoácidos (KUÇUK et al., 2007; BALTRUSAITYTE et al., 2007).

Para a determinação da atividade antioxidante do mel, diversos métodos são empregados com a finalidade de analisar o potencial antioxidante deste produto, dentre eles, o método da redução do ferro Fe^{3+} a Fe^{2+} (Ferric-reducing antioxidant power) na presença de um antioxidante e em condições ácidas (FRAP), o método para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), com mudança de cor de violeta para amarelo, ou captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), que consiste na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion $ABTS^+$, muito utilizado para substâncias hidrofílicas ou lipofílicas e aquele em que ocorre captura do radical peroxila (ORAC) (SUCUPIRA et al., 2012).

O mel possui numerosos efeitos biológicos, bioquímicos e fisiológicos em animais, bem como em seres humanos. A eficácia destas propriedades depende dos tipos de compostos fenólicos e flavonóides presentes no mel. Dentre as propriedades atribuídas aos compostos bioativos do mel a principal é a antioxidante. Entretanto quando estes compostos encontram-se em baixas concentrações, estes compostos bioativos ainda assim podem retardar ou impedir a oxidação de substratos oxidáveis (AL-MAMARY et al., 2002). Diferentes tipos de mel foram investigados quanto ao efeito antioxidante. As pesquisas sobre méis de abelhas sem ferrão ainda não foram realizadas sistematicamente, então poucas informações estão disponíveis (Tabela 5).

Os polifenóis do mel, como os flavonóides e ácidos fenólicos, atuam como sequestradores de radicais livres, depuradores de radicais peróxidos e quelantes de metais (referencias). As propriedades antioxidantes in vitro dos méis de melípona foram medidas sob a forma de atividade anti-radical utilizando o ensaio de eliminação de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) e ensaio de potência antioxidante redutora de ferro (FRAP) (Tabela 5). Utilizando estes testes, diferentes variedades de méis de abelhas sem ferrão originários de vários países e regiões geográficas mostram exibir propriedades antioxidantes elevadas.

Tabela 5 - Teores de fenólicos totais e flavonóides totais e atividade sequestradora de radicais ABTS de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referências.

Espécie de abelhas	Fenólicos totais (mg EAG.100 g ⁻¹)*	Flavonóides totais (mg EQ.100 g ⁻¹)**	DPPH (mg EAA.100 g ⁻¹ ***)	ABTS (µM trolox.100g ⁻¹)	FRAP (Mm sulfato ferroso.100g ⁻¹)	Referência
<i>Melipona beecheii</i>	63,22	3,61	188,90	-	-	Ruiz-Ruiz et al., 2017
<i>Melipona bicolor</i>	23,71	-	3,94	-	147,55	Braghini, 2016
<i>Melipona flavolineata</i>	236,71	-	-	-	-	Oliveira et al., 2012
<i>Melipona quadrifasciata</i>	386,09	82,78			439,15	Nweze et al., 2017
<i>Melipona scutellaris</i>	38,00	11,00	18,00		45,00	Duarte et al., 2018
<i>Melipona subnitida</i>	62,00	29,00	12,00	-	37,00	Duarte et al., 2018
<i>Melipona subnitida</i>	102,60	65,10	157,4	0,23	-	Silva et al., 2013
<i>Melipona subnitida</i>	110,90	-	49,30	5,40	-	Silva et al., 2014
<i>Hypotrigona sp</i>	531,10	52,52	-	-	668,53	Nweze et al., 2017
Variação	23,71-531,10	3,61-65,1	3,94- 188,9	0,23-5,40	37-668,53	-

*GAE: Equivalentes de Ácido Gálico, ** EQ: Equivalentes de Quercetina, *** EAA: Equivalentes de Atividade Antioxidante.

Os teores do conteúdo de fenólicos totais de mel de abelhas sem ferrão relatados na literatura variam de 23,71 mgEAG.100g⁻¹ até 531,10 mgEAG.100 g⁻¹ de mel (Tabela 6). O menor teor de fenólicos totais é observado em mel de *Melipona bicolor* em Santa Catarina, e o maior teor em mel de *Hypotrigona sp*, mel da Nigéria (Tabela 6) (BRAGHINI, 2016; NWEZE et al., 2017).

Para o conteúdo de flavonoides totais, mostram variações, com valores menores de 3,61 até 82,78 mgEQ.100 g⁻¹ (Tabela 6). O menor teor de flavonoides totais pode ser observado no mel de *Melipona scutellaris* em Alagoas, e o maior teor em mel de *Melipona quadrifasciata*, mel da Nigéria (Tabela 6) (DUARTE et al., 2018; NWEZE et al., 2017).

O menor valor do DPPH foi medido em *Melipona bicolor* (3,94 mg.mL⁻¹) no Brasil (Santa Catarina) e o maior valor foi observado *Melipna beecheii* (188,9 mg.mL⁻¹) no México (BRAGHINI, 2016; RUIZ-RUIZ et al., 2017). Para o ABTS, as variações dos valores foram 0,23 µM trolox.100 g⁻¹ (Tabela 6) para o mel de abelha *Melipona subnitida* no Paraná (SILVA et al., 2013) e 5,40 µM trolox.100 g⁻¹ para o mel de abelha *Melipona subnitida* em Pernambuco (SILVA et al., 2014).

Para o FRAP, os valores mostram variações, com valores menores de 37,00 até 668,53 Mm sulfato ferroso/100 g⁻¹ (Tabela 6). O menor teor de flavonoides totais pode ser observado no mel de *Melipona subnitida* em Alagoas, e o maior teor em mel de *Hypotrigona sp*, mel da Nigéria (Tabela 6) (DUARTE et al., 2018; NWEZE et al., 2017).

Estabilidade do mel durante estocagem

O mel, por ser um produto que possui vários compostos químicos diferentes, espera-se que variações em sua composição ocorram no decorrer do tempo de armazenamento. A Figura 8 demonstra como os compostos presentes no mel podem sofrer degradação decorrentes de reações secundárias e como estes processos influenciam a estabilidade do produto. Processos enzimáticos específicos do mel, altas temperaturas e tempo de armazenamento podem degradar compostos, como fenólicos e compostos voláteis, ou contribuir para a formação de novas substâncias como furanos.

Algumas alterações influenciam nas características sensoriais do mel, e podem estar associadas as reações químicas, como a reação de *Maillard* (Figura 8), catalisada pelo aquecimento. (MOREIRA et al., 2010). O 5-HMF é formado como intermediário na reação de *Maillard* e na desidratação direta de açúcares sob condições ácidas aplicadas durante o tratamento térmico de alimentos ou durante o armazenamento prolongado, dependendo da concentração, pode torna-se volátil e tóxico (BARRA et al., 2010; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2007; WANG et al., 2010).

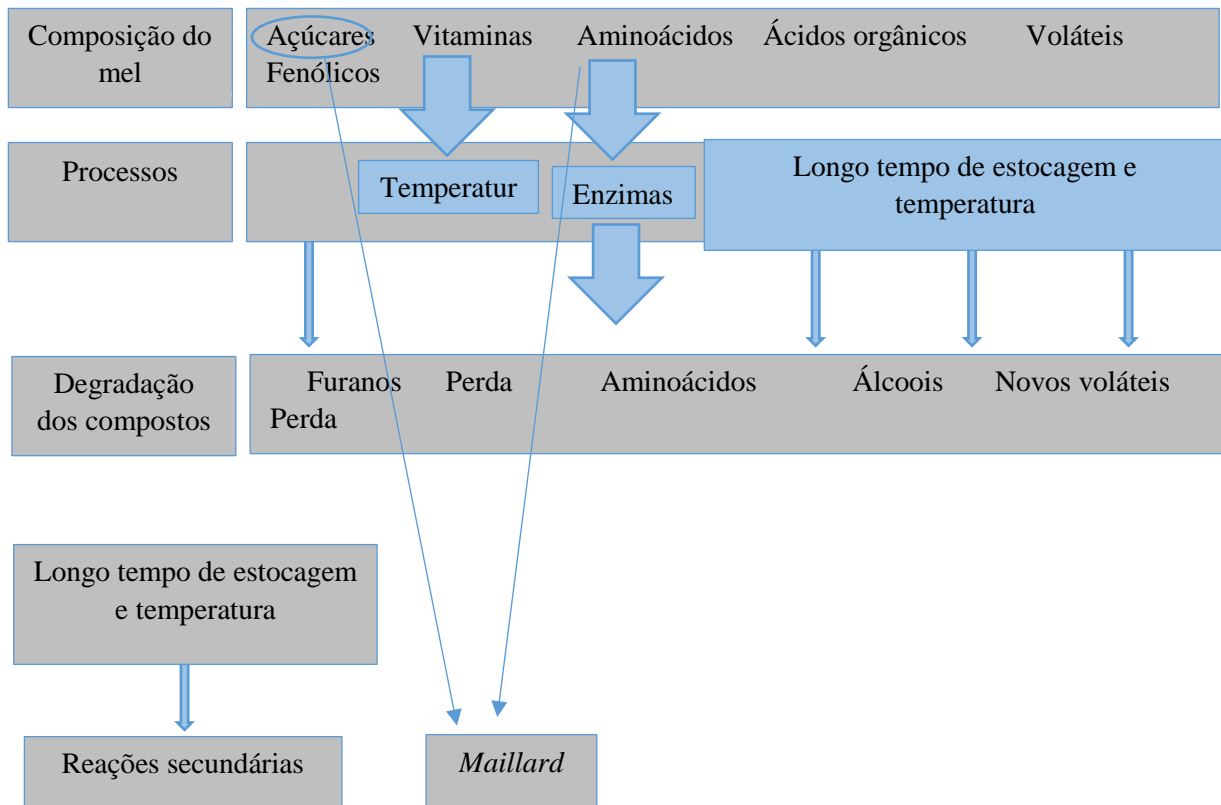


Figura 8 - Compostos presentes no mel, produtos de degradação e reações secundárias e processos que influenciam a estabilidade do mel. Fonte: Silva et al., (2016), com adaptações.

A reação de Maillard que ocorre entre grupos reativos NH_2 e $\text{C} = \text{O}$, é o resultado de uma reação química entre um grupo amino primário e um açúcar redutor, contribui para a perda de aminoácidos e escurecimento do mel (Figura 8). O escurecimento sob calor ou durante o armazenamento resulta da polimerização de compostos intermediários formando melonoidinas de coloração escura. Os sabores e cores formados podem ser desejáveis ou não. Eles podem ser formados lentamente durante o armazenamento, ou mais rapidamente a altas temperaturas (DAMODARAN et al., 2010).

Os hidrocarbonetos possuem baixa reatividade, porém sofrem redução, provavelmente devido a volatilização. As concentrações desses compostos geralmente diminuem com a redução da massa molecular dos hidrocarbonetos, uma vez que processos oxidativos podem ocorrer durante o armazenamento, transformando esses compostos em moléculas menores, como os álcoois, que podem ser rapidamente volatilizados. O aumento da concentração de álcoois durante o tempo de estocagem pode estar associado a sua formação através da degradação oxidativa dos lipídios ou da redução de processos catalizadores pelo aldeído redutase de abelhas ou microrganismos contaminantes

(MOREIRA et al., 2010). De acordo com Kaskoniene et al. (2008) alguns aldeídos e cetonas podem ser formados pela oxidação de ácidos graxos do mel, em especial, os ácidos linoleico e linolênico, que podem desenvolver um sabor rançoso.

Alguns dos ácidos orgânicos, cetonas e derivados benzenicos, como o ácido butanóico, a 2-hidroxi-2-propanona, o álcool benzílico ou o 2-feniletanol presentes no mel fresco, aumentam gradualmente com o aumento da temperatura e tempo de armazenamento (BARRA et al., 2010). No entanto, ácidos de baixa massa molecular, como o ácido propanóico e o 2-metilpropanóico, desapareceram depois de 150 dias de armazenamento, provavelmente por apresentarem cadeias curtas, facilitando a volatilização (MOREIRA et al., 2010).

A consistência dos méis pode ser fluída, viscosa ou cristalizada. Por serem soluções supersaturadas de glicose, normalmente quando armazenados em temperaturas abaixo da temperatura média da colmeia (37 °C), tendem a cristalizar espontaneamente na forma de monohidrato de glicose, fenômeno esse que não altera a sua natureza, mas torna-o granular ou opaco, sendo considerado critério de pureza do mel. A glicose é menos solúvel que a frutose, portanto méis com altas taxas de frutose podem permanecer líquidos por longos períodos ou nunca cristalizar (ZAMORA & CHIRIFE, 2006).

Apesar dos méis serem líquidos quando produzidos pelas abelhas, existem relatos que méis de meliponíneos podem até cristalizar-se dentro da colônia, como foi observado em méis de *M. quadrifasciata* na Bahia (Figura 9).

Durante o tempo de estocagem, a maior parte do mel cristaliza, a menos que sejam tomadas medidas para evitar a cristalização. A cristalização do mel é problemática para muitos processos industriais, uma vez que causa dificuldades no manuseio e processamento em máquinas devido à maior viscosidade. Além disso, os consumidores finais também preferem mel líquido para o consumo (ASSIS et al., 1991).

A cristalização do mel varia em função de diversos fatores, como a concentração de açúcares, o teor de água, a procedência floral do néctar, o manuseio durante processamento, bem como das condições de estocagem. A cristalização do mel e o tamanho dos cristais formados são uma função das relações glicose/água e frutose/glicose e histórico térmico. A umidade inicial do mel é um dos principais fatores que influencia a cristalização, pois quanto menor a umidade maior a concentração da glicose, resultando em um maior nível de saturação e, conseqüentemente, maior probabilidade de cristalização (KUROISHI et al., 2012; CONFORTI et al., 2006).

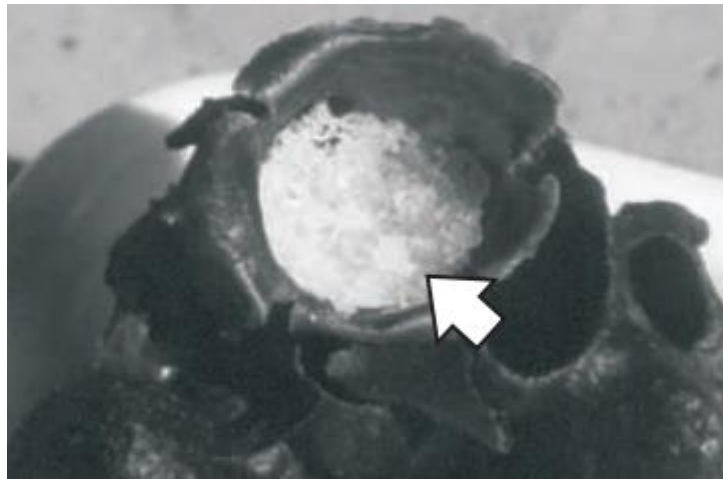


Figura 9 - Aspecto do mel cristalizado no pote de *Melipona mandacaia* (CARVALHO et al., 2005).

Quando a relação frutose / glicose é inferior a 1,40, e glicose / água inferior a 1,70, espera-se que a cristalização seja lenta, apesar deste comportamento ser fortemente afetado pelas condições de temperatura e tempo de armazenamento. No mel líquido, a glicose encontra-se ligada a cinco moléculas de água, enquanto que, no mel cristalizado, a glicose encontra-se ligada a apenas uma dessas moléculas, sendo que as outras liberadas aumentam a atividade de água (GLEITER et al., 2006; ZAMORA & CHIRIFE, 2006; ASSIL et al., 1991). A velocidade de cristalização e nucleação, e a configuração dos cristais, assim como a cor, viscosidade e reações no mel são influenciados pela composição, origem botânica, tempo e temperatura de estocagem.

Cada mel cristaliza de maneira diferente, podendo nunca se cristalizar, cristalizar-se muito devagar ou muito rapidamente, formando cristais finos ou cristais maiores. Além disso, a cristalização de mel afeta a manutenção da qualidade (crescimento das leveduras, a cor entre outras reações), uma vez que a porção não cristalizada contém maior quantidade de água, devido à água rejeitada dos cristais (CONFORTI et al., 2006). Conseqüentemente, a camada superior de líquido em um recipiente de mel cristalizado contém mais água do que a porção cristalizada inferior. Isso faz com que a camada superior de líquido fique mais vulnerável ao crescimento de leveduras.

Segundo Kuroishi et al., (2012) relatam a utilização da cor (IB- Índice de Brancura, ΔL^*) e da atividade de água (A_w) como forma de medir a ocorrência de cristalização de mel por meio da avaliação instrumental da cristalização de mel de abelha (*Apis mellifera*) silvestre com predominância da florada de Capixingui, colhido na região de Itapira-SP, divisa com Jacutinga-MG. O mel foi submetido a diferentes condições de temperatura e concentrações de cristais de mel adicionados. A medida que o mel cristalizou a opacidade aumentou. O efeito exercido pela temperatura é maior quando comparado ao efeito exercido pela adição de cristais e pela interação da temperatura com os cristais. Os maiores valores de ΔL^* foram identificados com a menor temperatura de armazenamento (11 °C) e com o maior teor de cristais de mel adicionados (5%). O Índice de Brancura (IB) aumentou

à medida que ocorreu a cristalização do mel, indicando que esse índice pode ser usado para o monitoramento da cristalização. Observou-se que temperaturas maiores ou iguais a 30 °C tendem a manter a solução do mel em equilíbrio, não favorecendo a sua cristalização. A adição de cristais em temperaturas mais baixas induz uma cristalização mais rápida do sistema, pois esses cristais servem como “sementes” de cristalização, aumentando a velocidade de sua ocorrência. O uso da determinação objetiva da cor pelo sistema CIELAB e a conversão dos parâmetros de L*, a* e b* para o Índice de Brancura pode ser uma ferramenta adequada e relativamente simples para o acompanhamento da cinética de cristalização em mel.

De acordo com Carvalho et al., (2005) afirmam que o mel parece ser mais claro depois de ter sido cristalizado, devido, principalmente, à transparência do mel líquido e à opacidade do mel cristalizado. A cor de qualquer amostra de mel cristalizado irá depender do tamanho do cristal, de forma que os mais finos fornecem uma aparência mais clara ao produto.

De acordo com o estágio de crescimento, cristais de mel podem ser formar em forma de agulhas, placas planas ou em forma de estrelas. A forma de placa plana dos cristais é característico da granulação fina, que dá uma sensação suave à língua. Na taxa de cristalização lenta muitos cristais crescem a partir da base de cada cristal, fornecendo ao mel uma textura arenosa. Assis et al (1991) relatam que a cristalização natural do mel é geralmente via cristal fino, enquanto o mel aquecido cristaliza lentamente e com granulação grossa. O mel armazenado á 20 °C produz cristais grossos, enquanto que os armazenados a -20 °C produz cristais finos, e a uma faixa de temperatura (4-10 °C) produz cristais de tamanho misto. Esta observação indica que a taxa de nucleação e crescimento de cristais é dependente da temperatura, e que temperaturas mais baixas resultam tamanhos de cristais menores devido à limitada mobilidade das moléculas. No processamento, o mel pode passar pelo processo de descristalização com o aquecimento controlado de 45 a 50 °C por cerca de 5-10 minutos para assegurar o derretimento dos cristais de glicose, mas poderá ficar com suas propriedades alteradas. Depois de derreter todos os cristais e núcleos, o mel pode permanecer líquido por muitos meses.

Qualidade microbiológica de mel de abelha sem ferrão

O mel quando comprado com outros alimentos de origem animal, apresenta uma baixa concentração de microrganismos devido a alguns fatores como pH baixo, atividade antioxidante, viscosidade, alta concentração de açúcares e pressão osmótica. No entanto, para os méis de abelha sem ferrão, a propensão de desenvolvimento de microrganismos aumenta, devido a altos teores de umidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008; DE SOUSA et al., 2016).

Embora haja uma probabilidade maior ao desenvolvimento de microrganismos, os méis das abelhas sem ferrão possuem propriedades intrínsecas que juntamente com a presença de agentes antibacterianos como o peróxido de hidrogênio, lisozima, ácidos fenólicos e substâncias voláteis, atribuem certa capacidade antimicrobiana, sendo capaz de inibir ou até mesmo destruir a maior parte dos microrganismos existentes no mel (BASUALDO et al., 2007). Desta forma, espera-se que o mel contenha contagens baixas e variedade limitada de microrganismos, sendo possível dizer que altas contagens sejam procedentes de contaminações recentes (ALMEIDA-ANACLETO, 2009).

Existem duas possibilidades de contaminação que podem ocorrer no mel. As contaminações primárias, onde os microrganismos são introduzidos pelas abelhas através do pólen, trato digestivo das mesmas, poeira, flores, pelo ar e no momento da colheita. Nesse tipo de contaminação encontram-se os bolores e leveduras (GOMES et al., 2005). A Tabela 5 ilustra a contagem de microrganismos encontrados em méis de abelha sem ferrão, logo pode-se concluir que em todas as amostras de méis os bolores e as leveduras estão presentes. E as contaminações secundárias, que estão diretamente relacionadas a manipulação inadequada durante a extração e beneficiamento do mel.

Tabela 6 - Parâmetros microbiológicos de diferentes méis de abelhas sem ferrão e respectivas referências.

Espécie de abelhas	Coliformes totais (NMP.g ⁻¹)	Coliformes termotolerantes (NMP.g ⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC.g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> spp.	Referência
<i>Melipona fasciculata</i>	< 3,0	< 3,0	1,0 x 10 ¹	Ausência	Menezes et al., 2018
<i>Melipona flavolineata</i>	< 3,0	< 3,0	1,0 x 10 ¹	Ausência	Menezes et al., 2018
<i>Melipona quadrifasciata</i>	2,3 x 10 ¹	< 3,0	9,9 x 10 ⁴	-	Rodrigues et al., 2018
<i>Melipona subnitida</i>	-	< 3,0	1,3 x 10 ⁴	Ausência	Pinheiro et al., 2018
<i>Partamona helleri</i>	< 3,0	< 3,0	2,2 x 10 ²	-	Souza et al., 2009
<i>Scaptotrigona Depilis</i>	2,3 x 10 ¹	< 3,0	9,9 x 10 ⁴	-	Rodrigues et al., 2018
<i>Tetragonisca angustula</i>	> 2,4 x 10 ³	4,0 x 10 ¹	1,3 x 10 ⁵	-	Rodrigues et al., 2018
<i>Tetragonisca angustula</i>	1,5 x 10 ²	-	3,0 x 10 ¹	Ausência	Pucciarelli et al., 2014
<i>Frieseomelitta varia</i>	< 3,0	< 3,0	9,0 x 10	-	Souza et al., 2009

NMP: Número mais provável, UFC: Unidade formadora de colônia.

A legislação brasileira (Instrução Normativa N° 11/2000) (BRASIL, 2000), específica para o mel de *Apis Melífera* não exigem a realização de análises microbiológicas, referindo-se somente que as práticas de manipulação e beneficiamento devem seguir as boas práticas de fabricação. Entretanto, algumas análises microbiológicas, tais como contagem de coliformes, bolores e leveduras auxiliam na identificação da qualidade microbiológica do mel (ALMEIDA-ANACLETO, 2007).

Em condições normais de umidade, os bolores e leveduras não interferem na qualidade do mel e não são patogênicos, podem ser encontrados com valores abaixo de 100 UFC.g⁻¹ após a interferência das indústrias que impendem a fermentação. As leveduras podem se desenvolver no mel porque toleram ambientes ácidos e elevados níveis de sacarose. As principais leveduras encontradas no mel são: *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Torula* (MIGDAL et al., 2000). Em um estudo realizado por Iurlina e Fritz (2005), constaram que das 70 amostras de méis, 57% delas mostraram contagem para leveduras e bolores variando do mínimo até 470 UFC.g⁻¹.

A existência de coliformes totais no mel indica uma provável contaminação pós-processamento; falha nos processos de limpeza, sanitização e tratamento térmico. Os coliformes a 35 °C estão associados a falta de higiene durante a manipulação, e os coliformes a 45 °C avaliam as condições higiênico-sanitárias, podendo ser causadores de enfermidades (MURATORI & SOUZA, 2002). Os microrganismos indicadores podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida útil ou à segurança.

REFERENCIAS

A.B.E.L.H.A.S. – **Associação Brasileira de Estudos das Abelhas**. Disponível em: <<http://abelha.org.br/especies/>> Acesso em: 04 de julho de 2018.

ACQUARONE, C.; BUERA, P.; ELIZALDE, B. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. **Food Chemistry**, v. 101, p. 695–703, 2007.

ADAB. **Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, gênero *Melipona* (pp. 1-9), Bahia, Brasil: Portaria ADAB N° 207 DE 21/11/2014, 2014.

ALJADI, A. M.; KAMARUDDIN, M.Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. **Food Chemistry**, v. 85, p. 513- 518, 2004.

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, 2002.

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

ALMEIDA-ANACLETO, D.; SOUZA, B. de A.; MARCHINI, C. de C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula latreille*, 1811). **Food Science and Technology**, v. 29, p. 535-541, 2009.

ALMEIDA, D., MARCHINI, L. C. Physicochemical and pollinic composition of honey samples of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) from the Cerrado of Pirassununga campus, University of São Paulo, in Pirassununga, State of São Paulo, **Brazil. Proc. 8th Int. Conf. on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas**. pp. 585, 2004.

ALVÁREZ-SUÁREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; BRENCIANI, A.; MAZZONI, L.; GASPARRINI, M.; GONZALEZ P. A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; MORRONI, G.; SIMONI, S.; FORBES-HERNANDEZ, T. Y.; AFRIN, S.; GIVANETTI, E.; BATTINO, M. Apis mellifera vs Melipona beecheii cuban polyfloral honeys: a comparison base on their physicochemical parameters, chemical composition and biology properties. **LWT- Food Science and Technology**, v. 87, p. 272–279, 2018.

ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de Melipona mandacaia Smith (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 25, p. 644–650, 2005.

ANDRADE, P.; FERRERES, F. E.; AMARAL, M. T. Analysis of Honey phenolic acids by HPLC, its application to honey botanical characterization. **Journal of Liquid Chromatography & Rel. Technology**, v. 20, p. 14, 2281-2288, 1997.

AROUCHA, E. M. M.; OLIVEIRA, A. J. F.; NUNES, G. H. S.; MARACAJÁ, P. B.; SANTOS, M. C. A. Qualidade do mel de abelha produzidos pelos incubados da Iagram e comercializado no município de Mossoró/RN. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 211-217, 2008.

ASSIL, H. I.; STERLING, R.; SPORNS, P. Crystal control in processed liquid honey. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 4, p. 1034-1041, 1991.

BALTRUSAITYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; CEKSTERYTE, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, v. 101, p. 502-514, 2007.

BARRA, M. P. G.; PONCE-DÍAZ, M. C.; VENEGAS-GALLEGOS, C. Volatile compounds in honey produced in the central valley of Ñuble Province, Chile. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 70, p. 75–84, 2010.

BASUALDO, C.; SGROY, V.; FINOLA, M. S. Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. **Veterinary Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 375-381, 2007.

BERTONCELI, J. DOBERSEK, U.; JAMNK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, 105, 822–828, 2007.

BERTONCELJ, J.; GOLOB, T.; KROPF, U.; KOROŠEC, M. Characterization of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, p. 1661-1671, 2011

BILUCA, F. C. **Caracterização química e influência do tratamento térmico em méis de abelha sem ferrão (meliponinae spp.) produzidos no estado de Santa Catarina**. 2014. 112p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

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

BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: Review by the International Honey Commission. **Bee World**, v. 90, p. 61-69, 1999.

BRAGHINI, F. **Estabilidade de méis de abelhas sem ferrão (meliponinae spp.) submetidos a diferentes condições térmicas**. Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina). Florianópolis, 2016.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 346, de 16 de agosto de 2004. Disciplina a utilização das abelhas silvestres nativas, bem como a implantação de meliponários. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 17 de ago. 2004. Seção 1, p. 70.

BRASIL. Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro. Estabelecer as definições, a classificação e as características do mel, bem como as regras relativas ao seu acondicionamento e rotulagem, adotando as disposições da Directiva n.º 74/409/CEE, do Conselho, de 22 de Julho, relativa à aproximação das legislações dos Estados membros respeitantes ao mel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, nº 216 – 1ª Série- A. Brasília, DF.

BRASIL. Ministério do Meio-Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 346 de 16 de agosto de 2004. **Utilização de abelhas silvestres e implementação de meliponários**. Diário Oficial da União, Brasília, 17 de agosto de 2004.

CAMARGO, R. C. R. de; OLIVEIRA, K. L. de; BERTO, M. I. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 20, p. 2-6, 2017.

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

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRE, G. S.; MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA ALVES, R. M. **Mel de abelhas sem ferrão**: contribuição para a caracterização físico-química. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA: Carlos Alfredo L. de Carvalho, 2005. 32 p.

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

CONFORTI, P. A.; LUPANO, C. E.; MALACALZA, N. H.; ARIAS, V.; CASTELLS, C. B. Crystallization of honey at -20°C. **International Journal of Food Properties**, v. 9, n. 1, p. 99-107, 2006.

COLETTI-SILVA, A. Captura de enxames de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem destruição de árvores. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 3, p. 383-388, 2005.

COSTA JUNIOR, M. P. Integração especial dos mercados exportadores de mel natural no Brasil. **Read**, v. 86, n. 1, p. 31-33, 2017.

- COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: Manejo e produtos**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 191, 2002.
- CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D.W; DOLLIN, A; HEARD, T.; VENTURIERI, G.C.; EARDLEY, C.; Global Meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, p. 275-292, 2006.
- CUSHIE, T.; LAMB, A. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 20, p. 343-356, 2005.
- CHUTTONG, B.; CHANBANG, Y.; SRINGARM, K.; BURGETT, M. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149–155, 2016.
- DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., & FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª edição. Artmed, 2010.
- DEL RIO, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; SPENCER, J. P. E.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER, A. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818-1892, 2013.
- DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G., SANTOS, A. F.; NAGEM, T. J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, 241-249, 2007.
- DUARTE, A. W. F.; VASCONCELOS, M. R. dos S.; ODA-SOUZA, M.; OLIVEIRA, F. F. de; LÓPEZ, A. M. Q. Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology**, p. 1-11, 2018.
- EVANGELISTA-RODRÍGUES, A.; SILVA, E. M.; BESERRA, E. M.; RODRÍGUES, M. L.; 2005. Análise físicoquímica dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado de Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1166–1171, 2005.
- FELSNER, M. L.; CANO, C. B.; BRUNS, R. E.; WATANABE, H. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MATOS, J. R. Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 737–747, 2004.
- FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, p. 2-8, 2018.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 196p.
- FREITAS, B. M. **Meliponíneos**. Parte do material extraído do CD-ROM – A Vida das Abelhas. Fortaleza. UFC, 2003.

- GOIS, G. C.; LIMA, C. A. B. de; SILVA, L. T. da; EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 2, p. 137-147, 2013.
- GOMES, L. P.; OLIVEIRA, D. F. B.; MIRANDA, A. N.; SOUZA, M. M. S. Determinação de *Bacillus* spp em amostras de mel produzidos por abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.). **Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Santos, 2005.
- GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; TERRAB, A.; HERNANZ, D.; FERNÁNDEZ-RECAMALES M. A.; HEREDIA, F. J. Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2574-2580, 2005.
- GLEITER, R. A.; HORN, H.; ISENGARD, H. D. Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. **Food Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 441-445, 2006.
- GRAJALES, C. J.; RINCÓN, R. M.; VANDAME, R.; SANTIESTEBAN, N. A.; GUZMÁN, D. **Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de Meliponinos y Apis mellifera de la región Soconusco, Chiapas**. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Aguijón, Mérida, Mexico, pp. 61–66, 2001.
- GRANATO, D.; ALEZANDRO, M. R.; NAZZARO, F. Food bioactive compounds: Quality control and functional properties. **Food Research International**, v. 77, p. 73-74, 2015.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa pecuária municipal**. IBGE (2016). Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 08 de junho de 2018.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo**, IMESP, 3ª ed., 1985. p. 533, v. 1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos.
- IURLINA M. O.; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. **International Journal of Food Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 297-304, 2005.
- ISSARO, N.; WEERAKUL, T.; MACHANA, S.; ORNNIM, P.; PHANUDULKITTI, C.; SRIJAN, T.; LAIWATTANAPHAISAL, J.; PATTARAPANICH, C. Stingless bee honey II: qualitative and quantitative studies on honey produced by three stingless bee species collected from a mangosteen garden in Chantaburi province, Thailand. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, p. 16-181, 2013.
- JAGANATHAN, S. K.; MANDAL, M. Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: A review. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 9, p. 2-13, 2009.
- JIMENEZ, M.; BERISTAIN, C. I.; AZUARA, E.; MENDOZA, M. R.; PASCUAL, L. A. Physicochemical and antioxidant properties of honey from *Scaptotrigona mexicana* bee. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 2, p. 151-160, 2016.
- KASKONIENE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; CEKSTERYTE, V. Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. **Food Chemistry**, v. 111, p. 988–997, 2008.

- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. Abelha urucu: biologia, manejo e conservação. **Acangaú**, 143 p, 1996.
- KÜÇÜK, M.; KOLAYL, S.; KARAOGLU, S.; ULUSOY, E.; BALTAC, C.; CANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, v. 100, p. 526–534, 2007.
- KUROISHI, A. M.; QUEIROZ, M. B.; ALMEIDA, M. M.; QUAST, L. B. Evaluation of honey crystallization from the colour and water activity parameters. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.
- KHALIL, M. I., SULAIMAN, S. A., BOUKRAA, L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. **The Open Nutraceuticals Journal**, v. 3, p. 6-16, 2010.
- LEMOS, M.; VENTURIERI, G.; DANTAS FILHO, H.; DANTAS, K. Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the amazon region. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 135–144, 2018.
- MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 36 p., 2010.
- MATEO, R.; BOSCH-REIG, F. Classification of Spanish unifloral honeys by discriminat analysis of electrical conductivity, color, water content, sugars and pH. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 393-400, 1998.
- MENDES, C. G.; SILVA, J. B. A.; MESQUITA, L. X.; MARACAJÁ, P. B. As análises de mel: revisão. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 7-14, 2009.
- MENEZES, B. do A. D.; MATTIETTO, R. de A; LOURENÇO, L. de F. H. Evaluation of quality of honey from africanized and stingless bees natives of the northeast of the state of Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018.
- MIGDAL, W.; OWCZARCZYK, B. H. KEDZIA, B. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 285-288, 2000.
- MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B.; PIETROLUONGO, M.; TRUGO, L. C. Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 121, p. 697–704, 2010.
- MURATORI, M. C. S.; SOUZA, D. C. Características microbiológicas de 132 amostras de mel de abelhas do Piauí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 14, Campo Grande, 2002. **Anais**, Campo Grande, p. 77, 2002.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 445p, 1997.
- NORDIN, A.; SAINIK, N. Q. A. V.; CHOWDHURY, S. R.; SAIM, A. B.; IDRUS, R. B. H. Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, p. 91-102, 2018.

NWEZE, J. A.; OKAFOR, J. I.; NWEZE, E. I.; NWEZE, J. E. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: a comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka. Niger. **BMC Research Notes**, v. 10, p. 2-6, 2017.

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

PAULA, J. **Mel do Brasil**: as exportações brasileiras de mel no período 2000/2006 e o papel do Sebrae. Brasília, SEBRAE. 99p. 2008.

PASIAS, I. N.; KIRIAKOU, I. K.; PROESTOS, C. HMF and diastase activity in honeys: a fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. **Food Chemistry**, v. 229, p. 425–431, 2017.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-químicos de amostras de méis de *Apis mellifera* e meliponíneos**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestre em Entomologia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade São Paulo, Piracicaba, 2010.

PINHEIRO, C. de G. M. da E.; ABRANTES, M. R.; SILVA, R. O. S.; OLIVEIRA JUNIOR, C. A.; LOBATO, F. C. F.; SILVA, J. B. A. da. Microbiological quality of honey from stingless bee, jandaíra (*Melipona subnitida*), from the semiarid region of Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 9, p. 1-5, 2018.

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

RODRIGUES, C. da S.; FERASSO, D. C.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; GRANDO, R. C.; TREICHEL, H.; MOSSI, A. J. Quality of Meliponinae honey: Pesticides residues, pollen identity, and microbiological profiles. **Environmental Quality Management**, v. 27, n. 4, 39-45, 2018.

RUIZ-RUIZ, J. C.; MATUS-BASTO, A. J.; ACERETO-ESCOFFIÉ, P.; SEGURA-CAMPOS, M. R. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. **Food and Agricultural Immunology**, p. 1-14, 2017.

SILVA, I. A. A.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; NOVAIS, J. S.; SOLEDADE, L. E. B.; OLIVEIRA, L. E.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3552-3558, 2013.

SILVA, J. C. S.; LAGES, V. N. A meliponicultura como fator de ecodesenvolvimento na Área de Proteção Ambiental da Ilha de Santa Rita, Alagoas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 1, n. 3, p. 1-6, 2001.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, M. G. B. K. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidante activity in plant products. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

- SILVA, T. M. G.; SILVA, P. R., CAMARA, C. A.; SILVA, G. S.; DOS SANTOS, F. A. R. SILVA, T. M. S. Análises Químicas e Potencial Antioxidante do Mel de Angico Produzido pelas Abelhas Sem-Ferrão Jandaíra. **Revista Virtual Química**, v. 6, n. 5, p. 1370-1379, 2014.
- SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; AGRA, M. de F.; SILVA, E. M. S.; REIS, I. T.; FREITAS, B. M. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela) **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 2, p. 173-178, 2009.
- SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; NOVAIS, J. S.; CAMARA, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10–18, 2013.
- SOLAYMAN, M.; ISLAM, M. A.; PAUL, S.; ALI, Y.; KHALIL, M. I.; ALAM, N.; GAN, S. H. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 219–233, 2016.
- SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L. C.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. de O. Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae: Meliponini) da região Nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, v. 32, p. 303-308, 2009.
- SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; SODRE, G. S.; MARCHINI, L.C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1623–1624, 2004.
- SOUZA, B.; ROUBIK, D.; BARTH, O.; HEARD, T.; ENRIQUEZ, E.; CARVALHO, C.; VILLAS-BOAS, J.; MARCHINI, L.; LOCATELLI, J.; PERSANO-ODDO, L.; ALMEIDA-MURADIAN, L.; BOGDANOV, S.; VIT, P. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, p. 867–875, 2006.
- SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. dos S.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L. de; Oliveira ALVES, R. M. de O. Microbiological evaluation of trigonine bee (Apidae: Trigonini) honey samples from the State of Bahia – Brazil. **Food Science and Technology**, n. 29, v. 4, p. 798-802, 2009.
- SOUZA, J. M. B. de; SOUZA, E. L. de; MARQUES, G.; BENASSI, M. De T.; GULLÓN B.; PINTADO, M. MAGNANI, M. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 645-651, 2016.
- SOUZA, J. M.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, Â. T. de M.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by *Meliponini* in the Brazilian semiarid region. **Food Research International**. v. 84, p. 61-68, 2016.
- SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A, B da; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. da. Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

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

SCHRAMM, D. D.; KARIM, M.; SCHRADER, H. R.; HOLT, R. R.; CARDETTI, M.; KEEN, C. L. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. **Journal of Agriculture & Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1732- 1735, 2003.

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. CRC Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

STRAMM, K. M. **Composição e qualidade de méis de abelha Jandaira (*Melipona subnitida*), efeitos estocagem e comparação com méis de *Apis mellifera***. Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Área de Bromatologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

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

VENTURIERI, G. C. The impact of forest exploitation on Amazonian stingless bees (Apidae, Meliponini). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 684-689, 2009.

VIANA, J. L.; FRANCISCO, A. K.; CARVALHO, C. A. L.; WALDSCHMIDT, A. M. Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Recôncavo, Bahia, Brazil. **Genetics and molecular research**, v. 12, n. 3, p.3444-54, 2013.

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

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

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

VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. **Pot-honey: a legacy of stingless bees**. New York: Springer, 2013. 629p.

VENTURIERI, G. C.; OLIVEIRA, P. S.; VASCONCELOS, M. A. M. de; MATTIETTO, R. de A. **Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2007. 51p.

WANG, S.; GUO, Q.; WANG, L.; LIN, L.; SHI, H.; CAO, H.; CAO, B. Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 172, p. 669–674, 2015.

WHITE JÚNIOR, J.W. Quality evaluation of honey: role of HMF and diastase assays. **American Bee Journal**, v. 132, n. 12, p. 792–794, 1992.

WHITE JÚNIOR, J.W. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. **American Bee Journal**, v. 75, n. 3, p. 104-107, 1994.

ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. **Food Control**, v. 17, n. 1, p. 59-64, 2006.

ZHOU, J; YAO, L; LI, Y; CHEN, L.; WU, L., ZHAO, J. Floral classification of honey using liquid chromatography–diode array detection–tandem mass spectrometry and chemometric analysis. **Food Chemistry**, v. 145, p. 941-949, 2014.

CAPÍTULO II

**ARTIGO - O TEMPO E A TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO ASSOCIADOS À
CRISTALIZAÇÃO DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE *Melipona scutellaris*
EXERCEM GRANDE INFLUÊNCIA SOBRE SUA ESTABILIDADE**

**O TEMPO E A TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO ASSOCIADOS À
CRISTALIZAÇÃO DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO DE *Melipona scutellaris*
EXERCEM GRANDE INFLUÊNCIA SOBRE SUA ESTABILIDADE**

RESUMO

A *Melipona* é uma abelha endêmica de áreas temperadas do Nordeste do Brasil, onde há muito interesse em explorá-la para produção de mel e polinização de cultivos. O uso terapêutico de mel tem sido atribuído às atividades antibacteriana e antioxidante. Os efeitos do tempo e temperatura de armazenamento do mel de abelha sem ferrão (*Melipona scutellaris*) foram monitorados através de parâmetros físico-químicos, colorimetria, compostos ativos, atividade antioxidante e contagem microbiana. Mel fresco foi armazenado a 5 °C (refrigeração) e 30 °C (condição ambiente em países tropicais) por até 150 dias. Entre as variáveis testadas, a acidez total e HMF aumentaram, enquanto o pH e atividade diastásica diminuíram, com efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$) tanto do tempo quanto da temperatura, e mais pronunciados a 30°C. Dependendo do tempo e temperatura de estocagem estes três parâmetros não apresentam conformidades com os estabelecidos pela Portaria N° 207 (ADAB, 2014) para méis de *Melipona*, sendo as não conformidades maiores a 30 °C. As concentrações de frutose, glicose e sacarose diminuíram sem influências significativas das variáveis testadas, mas correlacionadas com aumentos do HMF e com o escurecimento do mel. Os compostos fenólicos e flavonoides totais sofreram reduções proporcionais a atividade antioxidante (fenólicos 41,3%/30 °C e 72,5%/5 °C, flavonóides 10,5%/30 °C e 64,0%/5 °C, $R^2 = 0,89-0,98$), com influências significativas do tempo e da temperatura, e mais pronunciadas a 5 °C. As reduções da atividade antioxidante depois de 150 dias de armazenamento do mel, medida pelo DPPH, foram de ~230 %/30 °C e ~384%/5 °C. A partir de 60 dias nos méis a 5 °C começou o processo de cristalização da dextrose, e o teor de água manteve-se mais elevado (26,00 a 25,80%) comparando-se a 30 °C (26,00 a 23,60%), o que favoreceu a degradação dos compostos bioativos, diminuindo assim a atividade antioxidante. A cristalização também parece favorecer a reação de formação de HMF e o escurecimento do mel. O armazenamento a 5 °C por até 60 dias resultou nas menores alterações, tanto das propriedades físico-químicas, cor, contagem microbiológica, como dos compostos bioativos e atividade antioxidante. Mas a partir deste ponto até 150 dias, a estocagem a 30 °C resultou em menor degradação de compostos bioativos associada a maior atividade antioxidante. Os controles da temperatura e do tempo de estocagem associados a cristalização são também métodos de controle da degradação de compostos ativos, da atividade antioxidante, da formação de HMF e da alteração da cor do mel de *Melipona scutellaris*.

Palavras-chave: Hidroximetilfurfural, atividade antioxidante, compostos bioativos, abelha Uruçu.

**THE TIME AND TEMPERATURE OF THE STORAGE ASSOCIATED TO
CRYSTALLIZATION OF STINGLESS BEE HONEY FROM *Melipona scutellaris* EXERT
GREAT INFLUENCE ON ITS STABILITY**

ABSTRACT

Melipona scutellaris (uruçu bee) is endemic to Atlantic Rainforest areas of northeastern Brazil, where there is much interest in exploring it for honey production and crop pollination. The therapeutic use of honey has been attributed to antibacterial and antioxidant activities. The effects of time and storage temperature of stingless bee honey (*Melipona scutellaris*) were monitored through physical-chemical parameters, color, active compounds, antioxidant activity and microbial counts. Fresh honey was stored at 5 °C (cooling) and 30 °C (ambient condition in tropical countries) for up to 150 days. Among the variables tested, total acidity and HMF increased, while pH and diastase activity decreased, with statistically significant effects ($p < 0,05$) in both time and temperature, and more pronounced at 30 °C. Depending on the storage time and temperature, these three parameters were not conformed to those established by Normalization N°. 207 (ADAB, 2014) for *Melipona* honeys, with nonconformities being larger at 30 °C. The concentrations of fructose, glucose and sucrose decreased without significant influences of the variables tested, but correlated with the increase of HMF and honey browning. Total phenols and flavonoids have suffered reductions proportional to antioxidant activities (phenolic 41,3%/30 °C and 72,5%/5 °C, flavonoids 10,5%/30 °C e 64,0%/5 °C, $R^2 = 0.89-0.98$), with significant influences of time and temperature, but more pronounced at 5 °C. The reductions in antioxidant activity after 150 days of honey storage, as measured by DPPH, were ~230%/30 °C and ~384%/5 °C. After 60 days the dextrose crystallization process began in honeys at 5 °C, and the water content remained higher (26,00 to 25,80%) compared to 30 °C (26,00 to 23,60 %), which favored the degradation of phenolics and flavonoids compounds, thus reducing antioxidant activity. Crystallization also seems to favor the reaction of HMF formation and browning of honey. Storage by 5 °C for up to 60 days resulted in the smallest changes in both physicochemical properties, color, microbiological counting, bioactive compounds and antioxidant activity, but from this point up to 150 days, the storage at 30 °C resulted in lower degradation of active compounds associated with greater antioxidant activity. The storage temperature and time controls associated to crystallization are also methods of controlling the degradation of bioactive compounds, antioxidant activity, HMF formation and color change of the *Melipona scutellaris* honey.

Keywords: Hydroxymethylfurfural, antioxidant activity, compostos bioativos, Uruçu bee.

1. INTRODUÇÃO

Meliponinis são abelhas portadoras de um ferrão atrofiado e, conseqüentemente designadas popularmente como abelhas sem ferrão (SILVA et al., 2013). Em todo o mundo, estima-se 64 gêneros e 500 espécies de abelhas sem ferrão, que visitam cerca de metade da flora tropical (SOUZA et al., 2006).

No Brasil, cerca de 20% do total dessas abelhas foram identificadas principalmente no norte e nordeste do país (PEDRO, 2014). Dentre as espécies, a *Melipona scutellaris*, com nome comum uruçú no país, é a mais criada para a produção e comercialização de colmeias, mel, pólen, resinas, própolis e outros substratos, proporcionando uma importante forma de renda para a agricultura familiar (VIANA et al., 2013).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2016, algumas regiões brasileiras, como o Sul e Nordeste, conseguiram colocar o mel como um importante produto na pauta da exportação. Isso se deve a existência da flora nativa rica em plantas melíferas e ausência de contaminantes químicos, os quais favorecem a produção de mel de excelente qualidade (COSTA JUNIOR, 2017). Além da importância econômica para os produtores, esse produto possui características sensoriais diferenciadas dos méis de abelhas com ferrão tradicionalmente consumidos no Brasil, tornando-o um produto com alto valor agregado (HOLANDA et al., 2012).

Como o mel de abelhas com ferrão (*Apis mellifera*), o mel de abelhas sem ferrão é apreciado devido as suas propriedades nutricionais, terapêuticas, farmacológicas, antitumorais, antimicrobianas, atividades antivirais, antiparasitárias e anti-inflamatórias (CHAIKHAM et al., 2016). A composição de todos os méis consiste em uma mistura complexa de água, açúcares (glicose, frutose, sacarose, maltose), ácidos orgânicos, minerais e algumas vitaminas, como as do complexo B e C, entretanto são muito diferentes dependendo da espécie da abelha, condições climáticas, estágio de maturação, processamento, armazenamento e principalmente a origem floral (KHALIL et al., 2010; KIRNPAL-KAUR et al., 2011; FECHNER et al., 2016). Plantas têm vários derivados fenólicos e flavonóides com alta diversidade e complexidade estrutural, e quando as abelhas coletam néctar, esses compostos bioativos são transferidos de plantas para mel (NASCIMENTO et al., 2018). A atividade antioxidante é atribuída a esses compostos devido à capacidade de eliminar ou reduzir a formação de radicais livres, trazendo efeitos benéficos para a saúde humana (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018). Considerando que estes compostos podem sofrer degradação e conseqüentemente sofrer redução da atividade antioxidante e efeito a saúde, o seu monitoramento em diferentes condições e período de estocagem do mel é fundamental.

O elevado teor de umidade do mel de abelhas sem ferrão em relação ao de *Apis*, é um aspecto que requer uma maior atenção, que exige maiores cuidados com a higiene na manipulação do mel

durante a coleta e principalmente no armazenamento, evitando a sua contaminação por microrganismos e degradação que causam a depreciação do produto. Além destas variáveis, cabe salientar que durante o armazenamento e estocagem este mel também sofre maiores variações quanto aos parâmetros de qualidade, dentre eles, destacam-se o pH, acidez, umidade, açúcares, hidroximetilfurfural (HMF), índice diastásico, cor e degradação de compostos bioativos (SILVA et al., 2016). A presença de HMF é resultado da exposição ao calor no processamento ou armazenamento a longo prazo.

A Portaria ADAB Nº 207 de 21/11/2014, aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão do gênero *Melipona* no Estado da Bahia com o objetivo de estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve cumprir o mel de abelha social sem ferrão gênero *Melipona* submetido ao processo de conservação por desumidificação ou refrigeração e destinado ao consumo humano direto. Esta portaria não leva em consideração as mudanças mais acentuadas que o mel de abelha sem ferrão esta sujeito durante estocagem, principalmente em condições tropicais de armazenamento. A legislação que estabelece os procedimentos de controle de qualidade do mel para consumo humano no Brasil é a Instrução Normativa Nº 11 de 20 de outubro de 2000, regula apenas os parâmetros de méis de *Apis mellifera* (abelhas com ferrão), não contemplando um padrão de qualidade e identidade para o mel das abelhas sem ferrão nativas do país. Diante dessa omissão, a caracterização físico-químicas é realizada por meio de adaptações dos métodos desenvolvidos para o mel tradicional de *Apis* (BRASIL, 2000).

No entanto, é consenso na literatura que o mel de abelhas sem ferrão não se enquadra a esses parâmetros de qualidade, enfatizando a necessidade de um padrão nacional específico (BILUCA et al., 2016; CHUTTONG et al., 2016; ODDO et al., 2008; VIT et al., 1994). Além disso, não há um método oficial para as práticas de armazenamento e conservação, sendo de fundamental importância a obtenção de informações que irão gerar orientações sobre o armazenamento e estabilidade do produto que sofre degradações maiores que os méis de abelhas com ferrão. Os efeitos do tempo e da temperatura de armazenamento podem reduzir significativamente a qualidade do mel de abelhas sem ferrão, e a carência de estudos contribui para o não estabelecimento de padrões nacionais.

Diante do exposto, o objetivo foi monitorar a composição físico-química, microbiológica e compostos bioativos do mel de abelha sem ferrão (*Melipona scutellaris*) submetido a duas diferentes temperaturas de armazenamento, 30 °C (ambiente) e 5 °C (refrigeração) no período de 150 dias, a correlaciona-los as alterações da atividade antioxidante.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

As amostras de mel de *Melipona scutellaris* analisadas foram adquiridas através de um meliponicultor do município de Salvador-BA, sendo coletadas diretamente das colmeias por meio do processo de sucção, utilizando seringas estéreis descartáveis, e equipamento de proteção individual: luvas, máscaras e tocas. Após coletar 3kg, as amostras foram armazenadas em frascos de vidro com tampa esterilizados e transportados para o Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA), localizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia – UFBA em caixas térmicas devidamente refrigeradas.

2.2. Armazenamento das amostras

Após a coleta das amostras todos os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e compostos bioativos foram analisados para compor o tempo 0. Posteriormente, as amostras foram fracionadas e aliqüotadas em 80 frascos de polietileno de alta densidade contendo aproximadamente 60 g, os frascos foram submetidos ao processo de desinfecção com hipoclorito (10%) e posteriormente secos em estufa de circulação de ar a 65 °C. A posteriori, 40 dos frascos foram armazenados na câmara climática (Tecnal, TE-4001) à temperatura ambiente tropical (30 °C) e umidade relativa do ar 80%, a outra metade em geladeira à 5 °C e umidade relativa do ar variando de 17 a 24,5% por um período de 150 dias. Durante o tempo de armazenamento, foram retiradas mensalmente 3 frascos das amostras de ambas as condições de estocagem para realização das análises físico-químicas e compostos bioativos. Quanto a análise microbiológica e açúcares livres por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE estas aconteceram nos tempos 0, 60 e 150 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicata genuína.

2.3. Caracterização Físico-Química

2.3.1. Análises de pH

Os valores de pH das amostras foram obtidos segundo o método - 962.19, descrito pela AOAC (2005), a partir da solução de mel a 20% (m/v) em água desionizada, com auxílio de pHmetro digital previamente calibrado em pH 4,01 e 7,00.

2.3.2. Acidez total

O teor de acidez livre foi obtido pelo método que se fundamenta na neutralização de uma massa determinada de mel por solução padronizada de NaOH 0,05N até pH 8,5. Massas de 2 g de amostra foram diluídas em 15 mL de água deionizada sob agitação magnética, tendo seu pH monitorado com o auxílio de um pHmetro de bancada. Após a primeira aferição de pH, seguiu-se a titulação com solução padronizada de NaOH até alcançar pH 8,5. Para a análise da acidez lactônica, após alcançar pH de 8,5, foram inseridos 10 mL de hidróxido de sódio 0,05 N com o auxílio de uma

proveta de 10 mL, em seguida procedeu-se uma titulação de retorno até pH 8,3 com ácido clorídrico (HCl) 0,05N com o auxílio de uma bureta de 25 mL. Para os cálculos dos valores da acidez livre, lactônica e total foram utilizadas as Equações 1 e 2, respectivamente, e os resultados expressos em mEq kg⁻¹ (AOAC, 2005).

$$\text{Acidez livre} = \frac{(v - vb) \times f \times 50}{m} \quad (\text{Eq. 1})$$

Sendo: v: corresponde ao volume (mL) de NaOH 0,05N gasto na titulação;
 vb: corresponde ao volume (mL) de NaOH 0,05N gasto na titulação do branco;
 f: é o fator de correção da molaridade da solução de NaOH 0,05N;
 m: é a massa da amostra (g) utilizada na análise.

$$\text{Acidez lactônica} = \frac{(10 - va) \times f \times 50}{m} \quad (\text{Eq. 2})$$

Sendo: v: volume (mL) de HCL 0,05N gasto na titulação;
 f: fator de correção da molaridade da solução de HCL 0,05N;
 m: massa da amostra (g) utilizada na análise.
 Acidez total em miliequivalentes por kg = acidez livre + acidez lactônica

2.3.3. Determinação do Hidroximetilfurfural (HMF)

A concentração de HMF foi determinada de acordo com o método padrão da AOAC (1990) Método Oficial 980,23. Dissolveram-se 5 g de mel em 25 mL de água destilada e transferiram-se para um balão volumétrico de 50 mL, ao qual foram adicionados 0,5 mL de solução Carrez I e 0,5 mL de solução Carrez II e completou-se o volume com água destilada. Depois de filtrar esta solução, os primeiros 10 mL de filtrado foram rejeitados e recolheram-se alíquotas de 5 mL para dois tubos de ensaio. Em um dos tubos adicionaram-se 5 mL de água destilada (solução amostra) e ao outro 5 mL de solução bissulfito de sódio 0,2 % (controle). As absorvâncias das soluções foram lidas a 284 e 336 nm no espectrofotômetro UV-Visível (Perkin Elmer-Lambda 35). O valor de HMF foi determinado de acordo com a Equação 3.

$$\text{mg HMF}/100 \text{ g mel} = (\text{Abs}_{284} - \text{Abs}_{336}) \times 14,97 \times (5/\text{g amostra}) \quad (\text{Eq. 3})$$

2.3.4. Determinação da atividade diastásica

A determinação da atividade diastásica foi determinada pelo método internacional (CORDEX, 2001), onde uma solução padrão de amido (8,0 mg.mL⁻¹) reage com uma solução de iodo 0,0007 M. Em função da concentração da enzima e do tempo, a intensidade da cor roxa varia, sendo lida em

espectrofotômetro UV/Vis (Perkin Elmer-Lambda 35) em intervalos de 5 minutos. Foi determinada tempo em que o fator absorbância atingiu o valor de 0,235. Os cálculos da atividade diastásica, foi determinado de acordo com a Equação 4.

$$\text{Atividade diastásica} = 300 \div t \quad (\text{Eq. 4})$$

Sendo t = tempo em minutos encontrado.

2.3.5. Determinação de atividade de água (*aw*)

A atividade de água foi determinada, por quantificação da fugacidade da água através constante dielétrica em equipamento eletrônico Aqualab LITE© (ADOLFO LUTZ 2004).

2.3.6. Determinação de cinzas totais

O teor de cinzas foi determinado por método gravimétrico de acordo com o Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005), usando forno mufla (QUIMIS®) a 550 °C

2.3.7. Determinação de umidade por refratometria

O conteúdo de umidade foi determinado pelo método refratométrico da AOAC (2000) - método 969.38b1. As amostras de mel foram retiradas de ambas temperaturas e os méis de temperatura de refrigeração foram mantidas em repouso até atingirem a temperatura ambiente. Para a determinação da umidade, foi colocado uma gota de mel a 20 °C no refratômetro, e o valor obtido é chamado de índice de refração, que é convertido para o conteúdo de umidade, em percentual, através de uma tabela de referência denominada de Tabela de Chataway.

2.3.8. Analise de Colorimetria

A metodologia de colorimetria foi baseada no método descrito por Almeida- Murandian et al. (2014), utilizando um colorímetro (Konica Minolta - Bench-top Colorimeter CR-5). Posteriormente, obtendo-se os parâmetros L^* , a^* e b^* , o valor do ΔE^*_{ab} encontrado foi calculado pela Equação 5. A cor, emitida pelo sistema CIELAB (L^* , a^* e b^*), é definida por três eixos perpendiculares; o eixo L^* (luminosidade) variando do preto (0%) ao branco (100%); o eixo a^* , do verde (-) ao vermelho (+), e o eixo b^* , do azul (-) ao amarelo (+) (DIONISIO et al., 2018).

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde: ΔE^*_{ab} representa diferença entre cada coordenada de cor das amostras durante o período de armazenamento a fim de acompanhar a degradação da coloração.

2.3.8. Determinação dos açúcares livres por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE

Para a análise de açúcares livres foram preparadas soluções (0,5 % (m/v)) das amostras de méis, estas foram filtradas em membrana de 0,2 micras (PTFE) e analisadas em sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE (PerkinElmer série 200) com detector de Índice de Refração-IR utilizando uma pré-coluna Polypore Ca (30 mm x 4,6 mm x 10 µm), seguido por uma coluna Polypore Ca (220 mm x 4,6 mm x 10 mm) em forno a 35 °C. A fase móvel utilizada foi água grau cromatográfico sob um fluxo de 0,2 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 10 µL. A identificação dos açúcares foi realizada com base no tempo de retenção dos padrões – sacarose, glicose e frutose (Fluka Chemicals), injetados nas mesmas condições cromatográficas. A quantificação dos açúcares foi realizada por meio da construção da curva analítica obtida pela diluição seriada dos padrões de açúcares. Foram preparados 7 pontos que compreendem a faixa de resposta do sinal analítico de todas as amostras. Todas as injeções foram realizadas em triplicata (%CV < 5).

2.4. Caracterização de Compostos Bioativos

2.4.1. Compostos Fenólicos Totais

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada através do método espectrofotométrico de Folin Ciocalteau (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos, 1999), utilizando ácido gálico (R²= 0,96) como padrão de referência. Para isso, os compostos de interesse foram extraídos de 1,0 g de mel utilizando 10 mL de uma solução de etanol:água (1:10 v/v). Dos extratos foram retiradas alíquota de 500 µL e adicionado 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau, diluído em água destilada 1:10 (v/v). A esses reagentes foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (v/v). Após repouso de 2 horas em temperatura ambiente e ao abrigo de luz, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis (Perkin Elmer-Lambda 35) a 760 nm. Os resultados foram expressos em mg GAE.100g⁻¹ de mel (GAE: equivalente em ácido gálico) (SINGLETON et al., 1999).

2.4.2. Flavonoides totais

A determinação dos teores de flavonóides totais foi realizada pelo método espectrofotométrico segundo Woisky & Salatino (1998) com modificações, onde alíquotas de 2 mL, dos extratos etanólicos a 70% de mel, foram adicionadas a um volume igual de solução metanólica de Cloreto de Alumínio 20% (AlCl₃). Após repouso de 15 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Perkin Elmer UV) a 420 nm. A quercetina (R²= 0,98) foi o padrão utilizado para construção da curva analítica e o teor de flavonóides totais foi expresso como mg de equivalentes de quercetina por 100 g de mel (mg EAG.100 g⁻¹).

2.4.3. Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

A atividade antioxidante das amostras foi determinada utilizando o teste DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) de acordo com a metodologia descrita por Vinson *et al.* (2001). Para a avaliação da atividade antioxidante, as amostras foram submetidas à reação com o DPPH, no qual 1 mL da amostra foi misturado em 3 mL da solução DPPH a 0,004% m/v. A redução do radical de DPPH foi medida através da monitorização contínua do declínio da absorvância a 517 nm durante 30 minutos, ao abrigo da luz. A absorvância foi transformada em porcentagem da atividade antioxidante. Os valores foram calculados por regressão linear e os resultados foram apresentados como média. A atividade antioxidante de cada amostra (IC50) é expressa como a concentração final em mg.mL⁻¹ do presente extrato.

2.4.4. Capacidade de redução do íon férrico - FRAP

O método FRAP foi usado para determinar a atividade antioxidante com base na redução de ferro. A FRAP mede a capacidade de redução férrica de uma amostra em meio ácido (pH 3,6), produzindo uma cor azul intensa atribuível à redução do complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPTZ) para a forma ferrosa (FeII) (Dutra *et al.*, 2014). O método utilizado foi descrito por Rufino e colaboradores (2006), com modificações. O reagente FRAP foi preparado imediatamente antes da análise, misturando 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (TPTZ 10 mM em HCl 40 mM) e 2,5 mL de cloreto férrico (20 mM) em solução aquosa.

A partir de diferentes diluições dos extratos etanolicos, alíquotas de 90 µL foram retiradas e adicionadas a 270 µL de água destilada e 3 mL de reagente FRAP em tubos de ensaio. As misturas foram incubadas em banho-maria a 37 °C por 30 min. A leitura das absorvâncias foi realizada a 595 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis (Perkin Elmer-Lambda 35). Para o branco, utilizou-se a solução FRAP, e a curva analítica foi construída utilizando o sulfato ferroso como padrão. Os resultados foram expressos em mM sulfato ferroso.100 g⁻¹ de mel.

2.4.5. Capacidade de remoção de radical orgânico - ABTS^{•+}

O ensaio de descoloração do ABTS envolve a geração do cromóforo ABTS^{•+} pela oxidação do ABTS com persulfato de potássio, o método utilizado foi descrito por Rufino e colaboradores (2007), com modificações. O radical ABTS foi preparado adicionando 5 mL da solução de ABTS 7 mM com 88 µL da solução de persulfato de potássio 140 mM, reagindo durante 16 horas ao abrigo da luz. Para o ensaio, 1 mL da solução do radical ABTS foi diluída em etanol até obter uma absorvância $\pm 0,70 \text{ nm} \pm 0,05$ a 734 nm. Foram preparadas três diferentes diluições dos extratos etanólicos de mel, em triplicata. Cerca de 30 µL de cada diluição foi transferida para tubos de ensaios contendo 3 mL da solução do radical ABTS, em ambiente escuro. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos e a leitura foi realizada a 734 nm, após 6 minutos da mistura.

O etanol foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. Para a curva analítica utilizou-se o Trolox como padrão e os resultados foram expressos em $\mu\text{M trolox} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de mel.

2.5 Análises Microbiológicas

Foram realizadas contagens de bolores e leveduras e coliformes termotolerantes (45 °C) utilizando metodologia proposta "*Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods* (APHA, 2001) e pelo Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA et al., 2007). Para as análises de coliformes a 45 °C e bolores e leveduras, foram pesadas assepticamente 25 gramas de mel em sacos plásticos estéreis do tipo Bag light® e adicionado 225 mL de água peptonada estéril 0,1 % (AP) (diluição 10^{-1}), a partir dessa diluição foram realizadas as diluições seriadas subsequentes (diluição 10^{-3}).

2.5.1. Contagem de coliformes termotolerantes

Para a contagem de coliformes termotolerantes foram inoculados 0,1 mL das diluições (10^{-2}) no meio cromogênico Chromocult Coliform Agar® (CCA) pela técnica de inoculação em superfície e incubado a 37 °C por 24 horas. As colônias de tamanho médio e coloração violeta foram identificadas como coliformes termotolerantes. As contagens de coliformes termotolerantes foram expressas em LogNMPg^{-1} (ENTIS et al., 2001).

2.5.2. Contagem de bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foram realizadas inoculando 0,1 mL de cada diluição em Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), com semeadura em superfície e incubado por três a cinco dias à 25 °C. Os resultados das contagens foram expressos em $\text{LogUFC} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.5.3. Pesquisa de *Salmonella* spp

Para a pesquisa de *Salmonella* spp, foi utilizado o método recomendado por Brasil (2003) com modificações. Foram pesadas, assepticamente, 25 g de mel diretamente em frasco contendo caldo lactosado e, em seguida, incubadas em estufa 37 °C por 18h, semeados 0,1 mL no caldo Rapaport (41,5 °C, por 24h) e 1,0 mL no caldo tetratoato a 37 °C por 24 horas, em seguida transferido 1,0 mL para o ágar Hectoen Enteric e para o ágar de XLD (desoxicolato-lisina-xilose). As análises foram interrompidas, nesta fase, por não apresentar crescimento.

2.6. Análise estatística

Os dados foram obtidos a partir das análises realizadas em triplicatas genuínas de todos os parâmetros avaliados, e submetidos a dois testes, primeiro pelo Teste T *student* ($p \leq 0,05$) para as





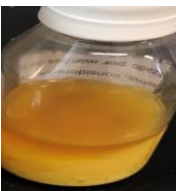

duas formas de estocagem no mesmo tempo, e Análise de Variância (ANOVA) pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para a verificação da diferença significativa para a mesma forma de conservação (5 ou 30 °C) em tempos de estocagem diferentes. Todos os resultados estão apresentados como média e desvio padrão (DP).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Parametros físico-químicos e microbiológicos

O mel de abelha sem ferrão de *Melipona scutellaris* foi mantido por 150 dias sob refrigeração (5 °C) e a 30 °C (ambiente em condições tropicais). Destaca-se que as amostras mantidas sob refrigeração começaram o processo de cristalização aos 60 dias, que se intensificou até o final da estocagem, conforme pode ser observado nas ilustrações da Tabela 1.

Tabela 1 - Ilustração da formação de cristais nas amostras de mel de *Melipona scutellaris* a partir de 60 dias de estocagem sob refrigeração (5°C).

Tempo de estocagem (dias)	Condição de estocagem	
	Refrigeração (5 °C)	Ambiente condições tropicais (30 °C)
0		
60		
150		

Segundo Zamora e Chirife (2006) os méis por serem soluções supersaturadas de glicose, quando armazenadas em temperaturas abaixo da temperatura média da colmeia (37 °C), tendem a cristalizar espontaneamente, fenômeno esse que segundo os autores não altera a sua natureza e nem as suas propriedades nutricionais. Esse processo ocorre devido a vários fatores como a concentração de açúcares, o teor de água, a procedência floral do néctar, o manuseio durante o processamento, bem como as condições de estocagem (CONFORTI et al., 2006).

A Tabela 2 apresenta a contagem de bolores e leveduras, *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes nas amostras de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente (30 °C) e sob refrigeração a 5 °C nos tempos inicial, 60 e 150 dias de estocagem. Para bolores e leveduras, a contagem desses microrganismos foi superior nos méis estocados em temperatura ambiente, com um aumento de $< 10 \text{ UFC.g}^{-1}$ no tempo inicial, para 30 e 50 UFC.g^{-1} ao passar de 60 para 150 dias de estocagem, respectivamente.

Tabela 2 - Carga microbiana nas amostras de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração.

Temperatura de estocagem	Tempo de estocagem (dias)	Bolores e leveduras (UFC.g^{-1})	Coliformes termotolerantes 45 °C (NMP.g^{-1})	<i>Salmonella</i> spp.
Ambiente (30°C)	0	< 10	$< 3,0$	Ausência
	60	3×10^1	$< 3,0$	Ausência
	150	5×10^1	$< 3,0$	Ausência
Refrigeração (5°C)	0	< 10	$< 3,0$	Ausência
	60	< 10	$< 3,0$	Ausência
	150	< 10	$< 3,0$	Ausência
Portaria N° 207 (ADAB, 2014)	-	10^4	10^2	Ausência

UFC: unidades formadoras de colônia. NMP: número mais provável.

Fernández et al. (2016), encontraram em méis de *Apis Melífera* da Argentina armazenados por 12 meses a 30 °C, bolores e leveduras $\leq 10 \text{ UFC.g}^{-1}$, sendo que 80% das amostras apresentaram esporos anaeróbios ($\leq 30 \text{ UFC g}^{-1}$) e coliformes totais ($\leq 20 \text{ UFC g}^{-1}$). Alves et al. (2011) também encontram estes microrganismos em diferentes méis: *M. fasciculata*, *M. subnitida*, e *M. scutellaris*.

A presença de fungos no mel é natural e aceitável em certa quantidade, visto que a microbiota dos nectários florais que as abelhas coletam e depositam nas colmeias são o seu *habitat*. Porém nem sempre esses microrganismos sobrevivem, devido as altas concentrações de açúcares presentes no mel, entretanto a medida que o néctar é transformado em mel, alguns fungos podem tolerar e se multiplicar (HOOPER, 1976).

Nos três tempos de análise da estocagem, e nas duas formas de armazenamento, foram evidenciados a ausência de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes ($< 3,0 \text{ NMP.g}^{-1}$), (Tabela 2). Estes parâmetros microbiológicos são estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2001), como ausência e menor de $3,0 \text{ NMP.g}^{-1}$, respectivamente. Segundo a Portaria n° 207 (ADAB, 2014), a tolerância de Coliformes em méis de *Melipona* a 45 °C é de 10^2 NMP.g^{-1} , de bolores e leveduras é de

10^4 UFC.g⁻¹, e *Salmonella spp.* tem que estar ausente em 25 g. Portanto, constata-se que o mel de *Melipona* em ambas temperaturas de estocagem atende estas especificações por até 150 dias.

Os valores médios de pH do mel de *Melipona scutellaris* durante os 150 dias de estocagem variaram de $5,86 \pm 0,05$ a $4,72 \pm 0,02$ para os méis refrigerados (5 °C) e de $5,86 \pm 0,05$ a $3,97 \pm 0,07$ para os armazenados em temperatura ambiente (30 °C), (Tabela 3). Neste intervalo os valores médios de acidez total aumentaram de $33,54 \pm 0,59$ a $43,96 \pm 0,06$ mEq.kg⁻¹ para os méis refrigerados, e de $33,54 \pm 0,59$ a $57,29 \pm 0,12$ mEq.kg⁻¹ para os mantidos em temperatura ambiente. Constata-se que houve influência estatisticamente significativa tanto do tempo como da temperatura de estocagem em ambos parâmetros ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Efeitos do tempo e temperatura de armazenamento nos parâmetros físico-químicos de mel de *Melipona scutellaris* estocados por 150 dias.

Temperatura de estocagem	Tempo (dias)	pH	A.T. (meq.kg ⁻¹)	Umidade (%)	Aw	HMF (mg.Kg ⁻¹)	A.D. (Gothe.g ⁻¹)	Cinzas totais (%)	
Ambiente (30°C)	0	$5,86 \pm 0,05$ Aa	$33,54 \pm 0,59$ Aa	$26,00 \pm 0,31$ Aa	$0,732 \pm 0,004$ Aa	$6,43 \pm 0,15$ Aa	$8,57 \pm 0,29$ Aa	$0,52 \pm 0,05$ Aa	
		$4,78 \pm 0,03$ Bb	$47,23 \pm 0,36$ Ab	$25,60 \pm 0,22$ Aa	$0,720 \pm 0,003$ Ab	$6,45 \pm 0,05$ Aa	$8,57 \pm 0,11$ Aa	$0,53 \pm 0,02$ Aa	
	30	$4,49 \pm 0,08$ Bc	$49,59 \pm 0,28$ Ac	$26,00 \pm 0,17$ Aa	$0,715 \pm 0,001$ Ac	$7,21 \pm 0,18$ Ab	$6,01 \pm 0,02$ Ab	$0,48 \pm 0,07$ Aa	
		$4,23 \pm 0,02$ Bd	$49,84 \pm 0,12$ Ac	$26,00 \pm 0,29$ Aa	$0,721 \pm 0,006$ Ab	$10,44 \pm 0,13$ Ac	$5,03 \pm 0,03$ Ac	$0,56 \pm 0,02$ Aa	
	60	$4,35 \pm 0,03$ Be	$53,11 \pm 0,11$ Ad	$25,60 \pm 0,24$ Aa	$0,707 \pm 0,001$ Ac	$29,59 \pm 0,08$ Ad	$4,55 \pm 0,21$ Ad	$0,55 \pm 0,01$ Aa	
		$3,97 \pm 0,07$ Bf	$57,29 \pm 0,12$ Ae	$23,60 \pm 0,61$ Bb	$0,692 \pm 0,005$ Ad	$31,43 \pm 0,25$ Ae	$2,84 \pm 0,09$ Ae	$0,58 \pm 0,07$ Aa	
	Refrigeração (5°C)	0	$5,86 \pm 0,05$ Aa	$33,54 \pm 0,59$ Aa	$26,00 \pm 0,31$ Aa	$0,730 \pm 0,004$ Aa	$6,43 \pm 0,15$ Aa	$8,57 \pm 0,29$ Aa	$0,52 \pm 0,05$ Aa
			$5,19 \pm 0,04$ Ab	$34,85 \pm 0,60$ Ba	$26,00 \pm 0,14$ Aa	$0,720 \pm 0,007$ Ab	$6,39 \pm 0,08$ Aa	$8,57 \pm 0,15$ Aa	$0,50 \pm 0,03$ Aa
		30	$5,16 \pm 0,01$ Abc	$40,18 \pm 0,19$ Bb	$26,00 \pm 0,37$ Aa	$0,720 \pm 0,001$ Bb	$6,33 \pm 0,25$ Bb	$5,01 \pm 0,31$ Bb	$0,50 \pm 0,11$ Aa
			$5,18 \pm 0,09$ Ab	$40,77 \pm 0,76$ Bb	$26,00 \pm 0,51$ Aa	$0,720 \pm 0,006$ Ab	$8,80 \pm 0,20$ Bd	$5,01 \pm 0,22$ Ab	$0,53 \pm 0,03$ Aa
		60	$5,13 \pm 0,08$ Ac	$43,06 \pm 0,65$ Bc	$25,80 \pm 0,82$ Aa	$0,715 \pm 0,001$ Bc	$11,17 \pm 0,11$ Be	$4,22 \pm 0,21$ Ac	$0,53 \pm 0,03$ Aa
			$4,72 \pm 0,02$ Ad	$43,96 \pm 0,06$ Bc	$25,80 \pm 0,02$ Aa	$0,710 \pm 0,001$ Bd	$11,37 \pm 0,15$ Be	$3,82 \pm 0,23$ Bd	$0,54 \pm 0,08$ Aa

A.T.= Acidez Total; Aw = Atividade de água; HMF = Hidroximetilfurfural; A.D. =Atividade Diastásica. Valores médios e \pm Desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre dois métodos de conservação no mesmo tempo teste de T ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias para o mesmo método de conservação nos diferentes tempos analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores de acidez do mel a partir de 120 dias/30 °C não estão de acordo com a Portaria ADAB nº 207 do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão gênero *Melipona* que se aplica em todo estado da Bahia (máx. 50 meq kg⁻¹), (Tabelas 3 e 4). O mesmo não ocorreu com o mel a 5 °C durante os 150 dias de armazenamento.

Tabela 4 - Variações dos parâmetros do mel de *Melipona scutellaris* estocados a 5 °C e 30 °C no período de 150 dias e comparação com valores estabelecidos pela Portaria (ADAB, 2014).

Parâmetros	Variação durante 150 dias de estocagem		Portaria Nº 207 (ADAB, 2014)
	Ambiente 30°C	Refrigeração 5°C	
Acidez total (meq kg ⁻¹)	33,54 a 57,29 (a partir de 120 dias extrapola)	33,54 a 43,96	Max. 50
Umidade (g.100 ⁻¹)	26,00 a 23,60	26,00 a 25,80	20 a 35
HMF (mg kg ⁻¹)	6,43 a 31,43 (a partir de 90 dias extrapola)	6,43 a 11,37 (a partir de 120 dias extrapola)	Max 10
Atividade diastásica (°Gothe)	8,57 a 2,84 (até 120 dias extrapola)	8,57 a 3,82 (extrapola em todo o período)	Max. 03 na Escala Gothe
Cinzas (g.100 ⁻¹)	0,52 a 0,58	0,52 a 0,54	Max. 0,6
Sacarose aparente (g.100 ⁻¹)	3,68 a 2,78	3,68 a 3,37	Max. 6,0
Açúcares redutores (g.100 ⁻¹)	75,42 a 70,10	75,42 a 73,55	Min. 60,0

A legislação Brasileira (BRASIL, 2000) e do *Codex Alimentarius* (STAN 12, 2001) também estabelecem um valor de acidez total máxima de 50 mEq.kg⁻¹ para mel de meliponíneos fresco, entretanto na Venezuela é de 85 mEq.kg⁻¹ (VIT, 2004). Esse parâmetro é importante e contribui para a preferência do consumidor pelo mel das abelhas nativas.

O mel de *Melipona* é um meio ácido com pH entre 3,20 a 4,52 e acidez entre 12,59 e 143,67 (Vit et al., 1994; Grajales et al., 2001; Souza et al., 2004; Alves et al., 2005; Souza et al., 2006; Carvalho et al., 2009; Biluca et al., 2016; Nweze et al., 2017; Sousa et al., 2016; Lemos et al., 2017; Alvarez-Suarez et al., 2018; Fernandes et al., 2018). Portanto, o pH do mel de *Melipona* coletado em Salvador (Bahia, Brasil) no início da estocagem é maior (Tabela 2) do que este limite superior, apesar do valor de acidez total estar inserido no intervalo relatado. Para Crane (1985), Souza (2009), e Oliveira e Santos (2011), existem alguns fatores que podem influenciar a variação do pH e acidez, composição de ácidos orgânicos do mel, pH do néctar, superfície terrestre ou associação de fontes vegetais e de néctar, ação de microrganismos, atividade enzimática da glicose-oxidase que origina o ácido glucônico, entre outras variáveis. Quando o néctar é transportado para a colmeia, substâncias presentes nas mandíbulas das abelhas também podem modificar o pH e acidez total, sendo importantes pois podem influenciar também a velocidade de formação do hidroximetilfurfural (HMF) e desenvolvimento microbiano (FINCO et al., 2010; CORBELLA e COZZOLINO, 2006).

Azeredo et al. (1999) relatam que o pH de mel de *Apis mellifera* armazenado por 12 meses em temperatura ambiente variou entre 3,59 a 3,49, indicando uma variação bem menor da obtida para mel de *Melipona scutellaris* durante estocagem por 5 meses no presente estudo (Tabela 3). Moura et al., (2002) avaliaram as alterações de méis *A. mellifera* depois de 10 meses mantidos a temperatura ambiente, e constataram um aumento na acidez de 42,02%, portanto mais próximos dos valores do mel mantido a temperatura de refrigeração no presente estudo (~30% para o mel refrigerado, e ~70% para o mantido a 30 °C).

A acidez do mel de abelhas sem ferrão tende a ser mais elevada do que méis de *A. mellifera*, podendo estar diretamente relacionada com a maior fermentação dos açúcares pelas leveduras, resultando na formação de etanol e dióxido de carbono (Vit 2004, CHIRIFE et al., 2006). Os méis de *Apis* apresentam composição diferente dos méis de abelha sem ferrão, principalmente nos teores de umidade e, portanto, maior estabilidade durante armazenamento.

Constatam-se altas correlações da contagem de bolores e leveduras com os valores de pH ($R^2 = 0,94$) e de acidez total ($R^2 = 0,96$) evidenciando que as alterações podem ser causadas por estes microrganismos. Para Fernández, (2017), em alimentos com pH entre 4,0 a 4,5, a microbiota capaz de se desenvolver é restrita apenas aos bolores e leveduras, dado este que justifica a presença desses microrganismos nas amostras (Tabelas 2 e 3). Além disso, outro fator associado a presença de leveduras osmofílicas (tolerantes ao açúcar) está relacionado ao processo de fermentação, considerando que o mel de abelhas sem ferrão apresenta um teor de umidade elevado, resultando no consumo do açúcar presente no mel pelas leveduras que provocam, como consequência, alterações sensoriais (WHITE JÚNIOR, 1978).

Para os teores de umidade os valores encontrados diminuíram durante os 150 dias de estocagem, de $26,0\% \pm 0,31$ para $25,8\% \pm 0,02$ para os méis mantidos em refrigeração, e de $26,0\% \pm 0,31$ para $23,6\% \pm 0,61$ para os mantidos em temperatura ambiente, constando-se maior declínio na condição de 30°C, com influencia significativa do tempo e da temperatura de estocagem ($p < 0,05$) (Tabela 3). A Portaria N° 207 (ADAB, 2014) estabelece um intervalo de 20 a 35 g.100 g⁻¹ para mel de *Melipona* (Tabela 4). Constata-se que o mel mantido nas duas temperaturas se mantem neste intervalo por até 150 dias de armazenamento. Vit et al., (2004), sugerem que para abelhas nativas sem ferrão do México, Guatemala e Venezuela um máximo de 35% de umidade. Entretanto uma ampla variação de umidade (13,96 a 45,00%) são relatados para méis de *Melipona* (Vit et al., 1994; Grajales et al., 2001; Souza et al., 2004; Alves et al., 2005; Souza et al, 2006; Carvalho et al., 2009; Biluca et al., 2016; Nweze et al., 2017; Sousa et al., 2016; Lemos et al., 2017; Alvarez-Suarez et al., 2018; Fernandes et al., 2018).

Assim, valores elevados de umidade representam a identidade dos méis de abelhas sem ferrão. Esta alta higroscopicidade é consequência da baixa taxa de desidratação do néctar no decorrer do

processo da transformação do mel (ALVES, 2005). A umidade é um critério que exerce grande influência nas características físico-químicas dos méis, estando diretamente relacionada ao nível de maturidade da colmeia, origem botânica e condições de armazenamento do produto (YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013; LAZAREVIC et al., 2012). Teores elevados de umidade podem diminuir a vida útil do produto, devido à contaminação e proliferação de microrganismos (ESCUREDO et al., 2013).

Os valores da atividade de água (A_w) diminuíram de $0,732 \pm 0,040$ a $0,710 \pm 0,020$ para os méis mantidos em refrigeração, e de $0,732 \pm 0,040$ a $0,692 \pm 0,050$ para os mantidos em temperatura ambiente, durante os 150 dias de estocagem, demonstrando que não houve influências estatística significativas do tempo e temperatura de estocagem ($p < 0,05$), (Tabela 3). Conforti et al., (2006), encontraram um intervalo mais amplo, entre 0,520 a 0,710 para 148 amostras de mel de *Apis mellifera* de Buenos Aires. Valores similares são relatados por Gleiter et al., (2006) e Zamora; Chirife, (2006) para méis de *Apis mellifera*, onde a A_w variou (0,599 a 0,579) ao longo do tempo de armazenamento sob refrigeração, havendo também a cristalização dos méis a partir de 60 dias de armazenamento. Normalmente em baixas temperaturas o processo de cristalização é favorecido, em razão dos sólidos solubilizados se associarem na forma de cristais, liberando água livre e tornando a fase líquida menos concentrada, o que faz aumentar a A_w (KUROISHI et al., 2012), fato não observado no presente estudo.

A A_w dos méis mantidos em ambas as condições de estocagem manteve-se praticamente constante (Tabela 3), porém para a AOAC (2010) variações entre 0,52 a 0,80 são considerados valores limites para a deterioração do produto. Cabe salientar que em valores acima de 0,61 pode ocorrer o desenvolvimento de leveduras osmotolerantes, provocando à fermentação e reduzindo a vida útil do produto (MENDES et al., 2006). Esse parâmetro não consta nos critérios das Legislações para méis de abelha com ferrão (*Apis mellifera*), porém essa análise pode ser utilizada para avaliar a qualidade do produto uma vez que valores elevados favorecem alterações do produto (LABUZA, 1980). Serei et al., (2011), ao analisar amostras do mel de *trigoníneos* verificou a ausência de coliformes termotolerantes onde a A_w era inferior a 0,9. Para Bobbio, (2001), a presença desses microrganismos poderia indicar que houve contaminação externa do produto, uma vez que estas bactérias necessitam da A_w superior a 0,91. Para as amostras analisadas no presente estudo, a maior A_w foi de $A_w = 0,732$ verificada no tempo zero (Tabela 3), sendo insuficiente para o desenvolvimento de patógenos enterais.

Os valores médios de hidroximetilfurfural (HMF) durante os 150 dias de armazenamento aumentaram de $6,43 \pm 0,15$ para $11,37 \pm 0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$ para os méis refrigerados (~77%), e de $6,43 \pm 0,15$ para $31,43 \pm 0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ para os méis mantidos em temperatura ambiente (~500%), conforme mostra a Tabela 3. O HMF foi o parâmetro que exibiu efeitos mais acentuados do tempo e da

temperatura, e mostraram alto grau de significância estatística ($p < 0,05$) para ambas variáveis testadas. Na temperatura ambiente houve um considerável aumento do teor de HMF após 90 dias de armazenamento que coincide com a formação de cristais de dextrose (Figura 1, Tabela 1). Os valores obtidos a partir de 90 dias na condição de 30 °C e a partir de 120 dias a 5 °C extrapolam o limite máximo de 10 mg kg⁻¹ estabelecido pela Portaria N° 207 (ADAB, 2014) para mel de *Melipona*, porém em ambas temperaturas e tempos de estocagem estão condizentes com o valor máximo para méis deste gênero estabelecido pela legislação internacional (40 mg.kg⁻¹, CODEX, 2001) e para os originários de espécies de regiões tropicais (80 mg.kg⁻¹), indicando não ter sofrido superaquecimento ou adulteração. Segundo Vit (2004) para méis de abelhas indígenas o valor máximo também deve ser de 40 mg.kg⁻¹, o que condiz com os resultados obtidos.

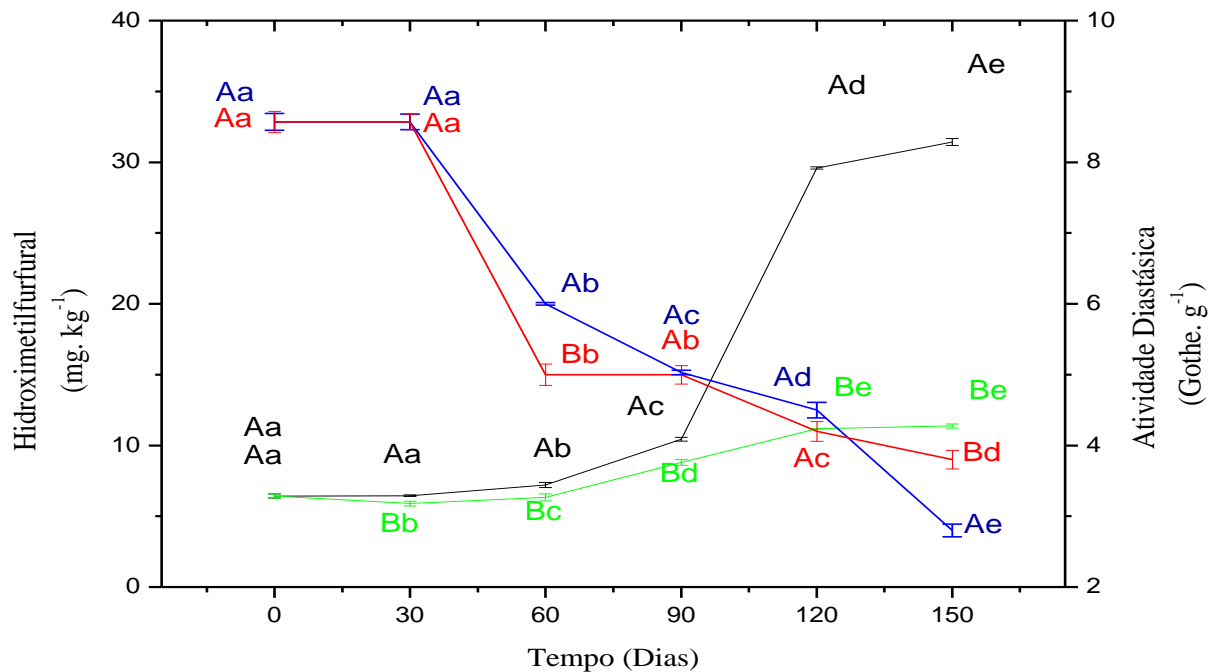


Figura 1 – Comportamento dos teores de hidroximetilfurfural (HMF) e atividade diastásica (A.D.)

de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente e de refrigeração por 150 dias,

(— = HMF na temperatura ambiente, — = HMF na temperatura de refrigeração, — = A.D. na temperatura ambiente, — = AD da temperatura de refrigeração).

Letras maiúsculas diferentes da mesma cor indicam diferença significativa entre dois métodos de conservação no mesmo tempo teste de T ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na mesma cor indicam diferença significativa entre as médias para o mesmo método de conservação nos diferentes tempos analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Teores de HMF de mel de *Melipona* apresentam uma variação bastante ampla, desde menores de 0,31 até 78,50 mg.kg⁻¹ (VIT et al., 1994; GRAJALES et al., 2001; SOUZA et al., 2004; ALVES et al., 2005; SOUZA et al, 2006; CARVALHO et al., 2009; BILUCA et al., 2016; NWEZE et al., 2017; SOUSA et al., 2016; LEMOS et al., 2017; ALVAREZ-SUAREZ et al., 2018; FERNANDES et al., 2018), portanto com um intervalo mais amplo dos valores obtidos (Tabela 3). No tempo inicial,

ou seja, logo após a colheita, o mel analisado já apresentava um teor de $6,43 \pm 0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$. De acordo com os mesmos autores a variação do conteúdo do HMF no mel é também influenciado pelo tempo e temperatura do mel armazenado na colmeia antes colheita. O HMF é formado pela reação de *Maillard* que ocorre quando os açúcares se condensam com aminoácidos livres, levando à formação de uma variedade de pigmentos melanoidínicos marrons (TURHAN et al., 2008). O valor é normalmente baixo em méis recém coletados, porém ao longo do tempo de armazenamento sua concentração tende a aumentar consideravelmente (FINOLA et al., 2007). Essa reação também é favorecida em $\text{pH} \leq 5,0$ (SILVA et al., 2016), como no caso das amostras armazenadas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ após 30 dias (Tabela 3). Para méis *Citrus sp* silvestre os teores de HMF passaram de $4,57 \text{ mg.kg}^{-1}$ no dia zero para $30,40 \text{ mg.kg}^{-1}$ aos 365 dias de armazenamento a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2008), e de *A. mellifer* de $3,30$ para $19,10 \text{ mg.kg}^{-1}$ depois de 12 meses de armazenamento (HAYRULAH, 2001). A partir de 90 dias de armazenamento do mel na temperatura ambiente os valores de HMF aumentam substancialmente comparados a condição de refrigeração, sendo ao final de 150 dias aproximadamente 3 vezes maior (Tabela 3, Figura 1).

Os valores médios da atividade diastásica (A.D.) diminuíram durante os 150 dias de armazenamento de $8,57 \pm 0,49$ para $2,8 \pm 0,09 \text{ Gothe.g}^{-1}$ para os méis refrigerados (67%), e de $8,57 \pm 0,49$ a $3,8 \pm 0,53 \text{ Gothe.g}^{-1}$ para os estavam em temperatura ambiente (56%), com efeito estatístico significativo ($p > 0,05$) tanto do tempo como da temperatura de estocagem (Tabela 3, Figura 1). Valores de A.D. entre 0,90 e 15,63 são relatados para méis de *Melipona* (Vit et al., 1994; Carvalho et al., 2009; Biluca et al., 2016; Nweze et al., 2017; Sousa et al., 2016; Alvarez-Suarez et al., 2018). Constata-se também que o efeito do tempo sobre A.D. em geral é mais acentuado do que o da temperatura de estocagem. Comportamento similar é relatado por Castro-Vázquez et al., (2008), onde A.D. foi reduzida de 13,0 a $2,2 \text{ Gothe.g}^{-1}$ durante o armazenamento de mel de *Melipona* a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 meses.

Vale também destacar, a relação inversa entre os valores da A.D. e HMF em ambas condições de estocagem do mel (Figura 1). A correlação destes dois parâmetros foi maior nos méis mantidos em temperatura ambiente ($R^2 = 0,81$), onde o aumento do HMF foi maior no decorrer do tempo. A enzima diástase é relativamente sensível ao calor, e a ausência total ou parcial indica superaquecimento ou longo período do armazenamento. O HMF é um aldeído cíclico formado a partir da desidratação da frutose em meio ácido, cujo processo é acelerado pelo calor (RADA-MENDOZA et al., 2002). Então temperaturas mais elevadas ou tempo de estocagem provocam simultaneamente a inativação da diástase e o aumento do HMF (SANTOS et al., 2004).

A Portaria ADAB Nº 207 de 21/11/2014 (ADAB, 2014) estabelece valores máximos de 03 na escala Gothe para a atividade diastásica de mel de *Melipona*. Constata-se que os valores obtidos a 5

°C em todo o período de avaliação, e também até 120 dias de estocagem a 30 °C extrapolam este limite (Tabela 4).

Moura et al., (2002) constataram redução de 49,75% na A.D. durante 10 meses de armazenamento de méis de *Apis mellifera*. Da mesma forma que ocorre com o HMF, a A.D. também pode ser empregada como indicador de envelhecimento e da forma de armazenamento de méis (WHITE,1992). Segundo Vit (2004) valores mínimos de A.D. para o mel de meliponíneos do Brasil e mel de *Apis mellifera* devem corresponder a 3,0 e 8,0, respectivamente, na Escala Gothe.

Para o teor de cinzas, os valores médios obtidos variaram $0,52\% \pm 0,05$ a $0,58\% \pm 0,18$ para os méis que estavam refrigerados, e de $0,52\% \pm 0,05$ a $0,54\% \pm 0,17$ para os que estavam em temperatura ambiente, sem diferença estatística entre o tempo e as duas condições de estocagem (Tabela 3). Observa-se que em ambas temperaturas os valores de cinzas são inferiores ao estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e Portaria N° 207 (ADAB, 2014) para méis de *Melipona*, que limitam um máximo de 0,60% (Tabela 4). Esse parâmetro expressa a riqueza do mel em minerais, e, portanto, serve como indicador da qualidade do mel. O teor de cinzas inicial no mel pode estar diretamente relacionado com o tipo do solo, condições climáticas, origem floral e espécie de abelhas (ALVES, 2005). Finola et al., (2007) afirmam que baixos teores de cinzas é característico de méis florais, e elevados que não há uniformidade nas técnicas de manejo e/ou colheita por parte dos produtores. Holanda et al., (2015), para mel de *Melipona fasciculata* armazenado por 120 dias, encontraram valores de 0,036 a 0,158% de cinzas, com um aumento durante o período.

As concentrações de sacarose, glicose, e frutose obtidos por CLAE-IR nas duas condições de estocagem, estão apresentados na Tabela 5. Glicose e frutose são os açúcares predominantes, variando entre 70,10 a 75,42 g.100 g⁻¹ em ambas temperaturas. A sacarose foi detectada em concentrações muito menores. As concentrações iniciais de sacarose diminuíram com 150 dias de estocagem do mel em ambas condições de estocagem, de $3,68 \pm 0,06$ a $2,78 \pm 0,01$ na refrigeração (8,42%), e de $3,68 \pm 0,06$ a $3,37 \pm 0,06$ na temperatura ambiente (24,44%). O perfil de açúcar do mel de *Melipona scutellaris* tem sido estudado em todo o mundo. Em geral para todos os açúcares observa-se efeitos estatisticamente significativos ($p > 0,05$) tanto do tempo como da temperatura de estocagem.

Muitos açúcares foram detectados, como os monossacarídeos (frutose e glicose), os dissacarídeos (sacarose, maltose, maltotetraose, maltotriose), trissacarídeos (erlose, isopanose, panose, maltotriose) e outros (OUCHEMOUKH et al., 2010; DA COSTA et al., 2000; NAYIK & NANDA, 2015). Frequentemente glicose e frutose são os açúcares predominantes em méis de *Melipona scutellaris* (OUCHEMOUKH et al., 2015).

Devido aos altos teores de glicose e água, estes méis geralmente tem uma rápida cristalização (EL SOHAIMY et al., 2015; SANZ et al., 1995). A relação frutose/glicose (F/G) e glicose/água (G/A) são parâmetros indicativos da cristalização de méis (SOHAIMY et al., 2015). Quando G/A é menor

do que 1,7, como no presente estudo (Tabela 5), a cristalização é maior a 5 °C onde a relação F/G se mantem < 1,0 durante todo o armazenamento, ao contrário do que acontece a 30 °C que é de aproximadamente 1,0, apesar deste comportamento ser fortemente afetado pelas condições de temperatura e tempo de armazenamento.

Tabela 5 - Teores de sacarose, glicose e frutose de mel de *Melipona scutellaris* submetido as duas condições de estocagem determinados por CLAE-IR.

Temperatura de estocagem	Tempo (dias)	Sacarose (g.100 ⁻¹)	Glicose (g.100 ⁻¹)	Frutose (g.100 ⁻¹)	Glicose + Frutose	Frutose/ Glicose	Glicose/ Água
Ambiente (30 °C)	0	3,68±0,06 ^{Aa}	38,14±0,03 ^{Aa}	37,28±0,06 ^{Aa}	75,42±0,03 ^{Aa}	0,98	1,47
	60	2,82±0,13 ^{Ab}	36,74±0,01 ^{Ab}	37,38±0,09 ^{Aa}	74,12±0,12 ^{Ab}	1,02	1,41
	150	2,78±0,01 ^{Ab}	34,58±0,04 ^{Ac}	35,52±0,03 ^{Ab}	70,10±0,07 ^{Ac}	1,03	1,47
Refrigeração (5 °C)	0	3,68±0,06 ^{Aa}	38,14±0,03 ^{Aa}	37,28±0,06 ^{Aa}	75,42±0,03 ^{Aa}	0,98	1,47
	60	3,70±0,07 ^{Ba}	37,44±0,13 ^{Bb}	36,35±0,01 ^{Bb}	73,79±0,05 ^{Ab}	0,97	1,44
	150	3,37±0,06 ^{Bb}	37,64±0,02 ^{Bb}	35,91±0,02 ^{Bc}	73,55±0,11 ^{Bb}	0,95	1,46

Concentrações em g.100g⁻¹. Os valores são médias ± Desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre dois métodos de conservação no mesmo tempo teste de T (p <0,05). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias para o mesmo método de conservação nos diferentes tempos analisados pelo teste de Tukey (p <0,05).

A Portaria N° 207 (ADAB, 2014) estabelece para méis de *Melípona*, teores de sacarose aparente máxima de 6,0 g.100⁻¹, e açúcares redutores de no mínimo 60,0 g.100⁻¹ (Tabela 4). Constatase, portanto, que tanto os valores de sacarose com variação entre 3,68 a 2,78 g.100⁻¹ a 30 °C e entre 3,68 a 3,37 g.100⁻¹ a 5 °C, como os teores de açúcares redutores (75,42 a 70,10/30 °C e 75,42 a 73,55/5 °C) apresentam conformidade nas duas temperaturas por até 150 dias de estocagem (Tabela 5). Em ambas temperaturas o conteúdo de açúcares se encontram também dentro dos padrões estabelecidos pelas legislações brasileira e internacional (BRASIL, 2000, CODEX 2001), que também limitam um valor de frutose + glicose ≥ 60 g.100 g⁻¹ para mel de *A. melífera*.

As amostras do mel mantidas à temperatura de refrigeração apresentaram uma diminuição nos teores de frutose + glicose, assim como as amostras mantidas na temperatura ambiente, sendo esta mais acentuada no período de 150 dias (Tabela 5). Entretanto, pode ocorrer também uma transformação equimolar da sacarose em glucose e frutose, provocada pela atividade da enzima invertase. A inativação desta enzima se dá pelo aquecimento do mel (PAIVA et al., 2012). Rybak-Chmielewska (2007) estudando a composição de carboidratos do mel de *Apis Melífera* durante o

armazenamento por 24 meses, observou que nas amostras mantidas a 4 °C, o conteúdo de sacarose manteve-se estável durante toda estocagem.

A fermentação do mel também é um fator que causa a degradação dos açúcares uma vez que esse processo é ocasionado pela ação das leveduras osmofílicas que consomem a glicose e frutose, formando álcool e gás carbônico. O álcool na presença de oxigênio é convertido em ácido acético, deixando o meio propício para o desenvolvimento e atuação de microrganismos que aceleram o processo de fermentação deteriorando assim a qualidade do mel (SILVA et al, 2017).

Os teores de HMF (Tabela 3) apresentam tendência a um comportamento inversamente proporcional aos teores de açúcares simples, especialmente frutose (Tabela 4), associados também com os teores de acidez total (comportamento linear com $R^2 = 0,73/5\text{ }^\circ\text{C}$, e polinomial $y = 0,1149x^2 - 9,223x + 186,12$ com $R^2 = 0,84/30^\circ\text{C}$). Portanto, é consenso na literatura a correlação entre todos estes parâmetros. Os açúcares podem sofrer reações com outros componentes do mel durante o armazenamento. A diminuição do teor de dissacarídeos pode ser atribuída à atividade de certas enzimas, e a de monossacarídeos a decomposições e reações. As pentoses e hexoses do mel se decompõem em lenta enolização e uma rápida eliminação de três moléculas de água para formar compostos como furanos, acentuados pelo aquecimento ou durante armazenamento por longos períodos. O principal furano é o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) derivado de hexoses como a glicose. A ocorrência é indesejável e relacionada com reações de escurecimento químico e alterações da cor, consequência da reação de *Maillard*, degradação de açúcar em meio ácido, e polimerizações (LEÓN-RUIZ et al., 2011; SILVA et al., 2016).

Como consequência destas reações, observa-se na Tabela 6 alterações nos valores de L^* , a^* , b^* e $\Delta E^* ab$, com influências estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em todos os parâmetros analisados entre os tempos na mesma temperatura, e entre os valores das duas temperaturas de estocagem. Os parâmetros cromáticos das amostras se localizam dentro do primeiro quadrante, com valores positivos de a^* e b^* , ou seja, entre as cores vermelha e amarela, respectivamente. Para o parâmetro b^* , houve uma tendência ao amarelo (valores positivos) principalmente para as amostras armazenadas em temperatura ambiente. Nas amostras refrigeradas o valor de b^* apresentou uma tendência a diminuir na condição de refrigeração, de 70,59 a 46,40, em detrimento da formação dos cristais nos méis.

Em relação à luminosidade, as amostras de mel mantidas refrigeradas apresentaram uma tendência linear decrescente, ou seja, redução nos valores em relação ao tempo, atingindo maior cromaticidade direcionada a intensidade vermelho (a^*) ao final do período de estocagem (Tabela 6). A diferença de cor ($\Delta E^* ab$) não apresentou comportamento semelhante em todos os tempos de análise, onde detecta-se o aumento nos valores medidos, representando que ocorreram alterações significativas da cor das amostras em relação os valores obtidos no tempo zero. Holanda et al., (2015),

também detectaram uma variação na coloração dos méis de *Melipona fasciculata*, onde no tempo 0 o mel foi classificado como extra âmbar, e após 180 dias, âmbar claro, demonstrando que houve uma diminuição nesse parâmetro ao longo do tempo de armazenamento. O aumento da coloração de méis pode estar relacionado também com a reação de compostos fenólicos com sais minerais, como o cálcio e o ferro. Além disso, a instabilidade da frutose em solução ácida potencializada pela atividade enzimática e a ação da luz também intensifica essa medida.

Tabela 6 - Parâmetros L*, a*, b* e ΔE^*_{ab} de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração por 150 dias.

Temperatura de estocagem	Tempo (dias)	Cor			
		L*	a*	b*	ΔE^*_{ab}
Ambiente (30°C)	0	78,94 ± 0,04 ^{Aa}	2,25 ± 0,03 ^{Aa}	70,59 ± 0,03 ^{Aa}	105,92 ± 0,02 ^{Aa}
	30	83,05 ± 0,47 ^{Ab}	1,61 ± 0,05 ^{Ab}	71,01 ± 0,58 ^{Aa}	109,28 ± 0,08 ^{Ab}
	60	73,00 ± 0,55 ^{Ac}	2,53 ± 0,01 ^{Ac}	66,43 ± 0,16 ^{Ab}	98,73 ± 0,01 ^{Ac}
	90	81,84 ± 0,57 ^{Ad}	2,66 ± 0,05 ^{Ad}	67,82 ± 0,06 ^{Ac}	106,33 ± 0,08 ^{Ad}
	120	53,93 ± 0,47 ^{Ae}	9,74 ± 0,15 ^{Ae}	79,90 ± 0,17 ^{Ad}	70,33 ± 0,01 ^{Ae}
	150	38,76 ± 0,15 ^{Af}	11,05 ± 0,25 ^{Af}	80,15 ± 0,09 ^{Ad}	61,46 ± 0,05 ^{Af}
Refrigeração (5°C)	0	78,94 ± 0,04 ^{Aa}	2,25 ± 0,03 ^{Aa}	70,59 ± 0,03 ^{Aa}	105,92 ± 0,02 ^{Aa}
	30	86,42 ± 0,42 ^{Bb}	1,33 ± 0,05 ^{Bb}	72,08 ± 0,18 ^{Bb}	112,54 ± 0,01 ^{Bb}
	60	72,70 ± 0,15 ^{Ac}	2,11 ± 0,01 ^{Bc}	65,82 ± 0,09 ^{Bc}	98,09 ± 0,08 ^{Bc}
	90	74,19 ± 0,17 ^{Bd}	2,66 ± 0,05 ^{Ad}	67,82 ± 0,06 ^{Ad}	100,55 ± 0,03 ^{Bd}
	120	86,02 ± 0,31 ^{Bb}	2,91 ± 0,12 ^{Be}	44,08 ± 0,54 ^{Be}	117,44 ± 0,02 ^{Be}
	150	82,00 ± 0,46 ^{Be}	5,80 ± 0,17 ^{Bf}	46,40 ± 0,25 ^{Bf}	114,81 ± 0,11 ^{Bf}

Os valores são médias, ± Desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre dois métodos de conservação no mesmo tempo teste de T ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias para o mesmo método de conservação nos diferentes tempos analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os dados ainda permitiram constatar uma relação inversa entre os teores de HMF (Tabela 3) e o parâmetro (a*) (Tabela 6) ao longo do tempo, com $R^2 = 0,64$ para a estocagem a 5 °C, e $R^2 = 0,99$ a 30 °C, indicando que o teor do furano resulta na formação de compostos poliméricos que interferem no escurecimento do mel, principalmente na maior temperatura. Entretanto, diversos são os fatores que influenciam a coloração dos méis, dentre eles destacam-se as condições climáticas no período da coleta do produto, temperatura de maturação interna da colmeia, condições de pós-colheita, processamento, e também as condições de armazenamento. No entanto a origem botânica é o fator principal que define a coloração inicial do produto (NASCIMENTO, 2018).

As especificações da legislação brasileira (BRASIL, 2000) estabelecem os limites de variação de cor, das categorias “quase incolor” a “âmbar escuro” para mel de *A. mellifera*, mas não indicam valores instrumentais para os parâmetros de cor.

3.2. Compostos bioativos e atividade antioxidante

Os valores de compostos bioativos e da atividade antioxidante ao longo do armazenamento constam do mel constam na Tabela 7. Os valores médios dos teores de fenólicos totais variaram de $368,50 \pm 0,68$ a $103,35 \pm 0,01$ mgEAG.100 g⁻¹ para os méis mantidos sob refrigeração por até 150 dias (72,5%), e de $368,50 \pm 0,41$ a $217,60 \pm 0,57$ mgEAG.100 g⁻¹ para os méis em temperatura ambiente (41,3%). Os resultados médios para os teores de flavonóides totais também sofreram reduções, de $91,16 \pm 0,23$ a $32,90 \pm 0,18$ mg EQ.100g⁻¹ para os méis mantidos na refrigeração (64%), e de $91,16 \pm 0,23$ a $81,56 \pm 0,11$ mg EQ.100g⁻¹ para os mantidos em temperatura ambiente (10,5%). Ambos compostos bioativos sofreram influências com efeitos estatísticos significativos ($p < 0,05$) tanto do tempo como da temperatura de estocagem.

Tabela 7 - Propriedades antioxidantes de mel de *Melipona scutellaris* estocados em temperatura ambiente e temperatura de refrigeração por 150 dias.

Temperatura de estocagem	Tempo (dias)	Fenólicos (mg EAG.100g ⁻¹) ¹	Flavonoides (mg EQ.100g ⁻¹) ²	DPPH (IC ₅₀ mg.mL ⁻¹)	FRAP (mM sulfato ferroso.100g ⁻¹)	ABTS (μM trolox. 100g ⁻¹)
Ambiente (30°C)	0	$368,51 \pm 0,41$ Aa	$91,16 \pm 0,13$ Aa	$131,59 \pm 0,86$ Aa	$203,13 \pm 0,16$ Aa	$0,74 \pm 0,06$ Aa
	30	$366,70 \pm 0,14$ Ab	$90,63 \pm 0,28$ Ab	$143,86 \pm 0,09$ Bb	$206,24 \pm 0,64$ Ba	$0,78 \pm 0,08$ Aa
	60	$298,70 \pm 0,46$ Ac	$91,54 \pm 0,13$ Ac	$180,58 \pm 0,79$ Bc	$183,52 \pm 0,64$ Ab	$0,72 \pm 0,07$ Aa
	90	$270,01 \pm 0,50$ Ad	$84,46 \pm 0,31$ Ad	$231,46 \pm 0,29$ Bd	$176,87 \pm 0,83$ Bc	$0,62 \pm 0,02$ Bb
	120	$221,39 \pm 0,95$ Ae	$81,56 \pm 0,11$ Ae	$235,78 \pm 0,43$ Be	$166,37 \pm 0,83$ Bd	$0,63 \pm 0,02$ Bb
	150	$217,69 \pm 0,57$ Af	$74,48 \pm 0,24$ Af	$303,53 \pm 0,05$ Bf	$131,87 \pm 0,05$ Be	$0,57 \pm 0,02$ Bc
Refrigeração (5°C)	0	$368,50 \pm 0,68$ Aa	$91,16 \pm 0,13$ Aa	$131,59 \pm 0,86$ Aa	$203,13 \pm 0,16$ Aa	$0,74 \pm 0,03$ Aa
	30	$364,50 \pm 0,45$ Bb	$88,96 \pm 0,86$ Bb	$146,7 \pm 0,61$ Ab	$182,67 \pm 0,28$ Ab	$0,73 \pm 0,02$ Aa
	60	$252,41 \pm 0,52$ Bc	$86,46 \pm 0,63$ Bb	$208,53 \pm 0,16$ Ac	$182,84 \pm 0,87$ Ab	$0,68 \pm 0,01$ Ab
	90	$119,40 \pm 0,31$ Bd	$38,81 \pm 0,15$ Bc	$488,86 \pm 0,52$ Ad	$67,16 \pm 0,45$ Ac	$0,30 \pm 0,04$ Ac
	120	$110,35 \pm 0,12$ Be	$36,27 \pm 0,02$ Bd	$493,18 \pm 0,83$ Ae	$61,19 \pm 0,59$ Ad	$0,29 \pm 0,05$ Ac
	150	$103,35 \pm 0,01$ Bf	$32,90 \pm 0,18$ Be	$502,68 \pm 0,12$ Af	$64,93 \pm 0,15$ Ae	$0,27 \pm 0,05$ Ac

Os valores da tabela são médias, \pm Desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre dois métodos de conservação no mesmo tempo teste de T ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias para o mesmo método de conservação nos diferentes tempos analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹GAE: Equivalentes de Ácido Gálico, ²EQ: Equivalentes de Quercetina.

A maior capacidade dos flavonóides resistirem à degradação pode estar associada à estrutura mais estável quando comparadas aos compostos fenólicos, mas também depende substancialmente de outros fatores, como a presença de oxigênio ou agentes oxidantes (MAKRIS & ROSSITER, 2000).

Para a atividade antioxidante, Rufino et al., (2007), coloca que os métodos mais utilizados são ABTS, FRAP, DPPH e ORAC, e que é recomendado pelo menos três destes ensaios combinados para fornecer uma informação mais confiável. Neste contexto, três métodos foram utilizados para acompanhar o tempo de estocagem do mel de *Melipona scutellaris* durante estocagem (Tabela 7). As relações entre os resultados de fenólicos totais, flavonoides totais, e valores de FRAP e DPPH são mostradas na Figura 2. Segundo Alonso et al., (2002) os métodos antioxidantes geram resultados diferentes devido à diversidade e conceitos diferentes de reações, o que gera a dificuldade em compará-los. Salienta-se que para o método do DPPH (IC₅₀), quanto menor o valor obtido maior é a capacidade antioxidante, ao contrário dos métodos FRAP e ABTS que são diretamente proporcionais a atividade antioxidante.

Dentre os três métodos utilizados para análise de atividade antioxidante do mel estocado nas duas temperaturas distintas, apenas o método de ABTS não apresentou efeito significativo das variáveis tempo e temperatura ($p < 0,05$), porém corrobora com a análise dos resultados (Tabela 7). Portanto, os valores médios para os métodos de DPPH e FRAP entre o início e final de 150 dias de armazenamento variaram de $131,59 \pm 0,86$ a $502,68 \pm 0,12$ mg.mL⁻¹, e $203,13 \pm 0,64$ a $64,93 \pm 0,15$ mM sulfato ferroso.g⁻¹, para os méis mantidos sob refrigeração; e de $131,59 \pm 0,86$ a $203,05 \pm 2,05$ mg.mL⁻¹, e $206,24 \pm 0,16$ a $131,87 \pm 0,05$ mM sulfato ferroso.g⁻¹ para os méis mantidos em temperatura ambiente, respectivamente.

Os compostos bioativos e a atividade antioxidante de mel de *Melipona* apresentam amplas variações, com intervalos de 23,71 a 386,09 mg EAG.100g⁻¹ para fenólicos totais, de 3,61 a 82,78 mg EQ.100g⁻¹ para flavonóides totais, e de 3,94 a 188,90 mg.mL⁻¹ para IC₅₀DPPH (Silva et al., 2013a, b; Silva et al., 2014; Oliveira et al., 2012; Biluca, 2016; Ruiz-Ruiz et al., 2017; Nweze et al., 2017; Duarte et al., 2018). O mel de *Melipona* testado apresentava logo após a coleta um valor de 368,51 mg EAG.100g⁻¹ para fenólicos totais, 91,16 EQ.100g⁻¹ para flavonoides totais e DPPH de 131,59 mg.mL⁻¹ de IC₅₀ (Tabela 7), indicando que estes teores são similares aos maiores relacionados na literatura, entretanto sofrem decomposição dependendo do tempo e temperatura de estocagem.

Com relação ao efeito do tempo e temperatura de estocagem, ao contrário do que se observou com a maioria dos parâmetros físico-químicos (Tabela 3, Figura 1), composição de açúcares (Tabela 5), e os índices de cor (Tabela 6), onde as alterações foram menores nas amostras de mel mantidas sob refrigeração, para os valores de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante constatam-se declínios ao longo da estocagem em ambas temperaturas, sendo entretanto muito mais acentuados nas amostras mantidas a 5 °C (Tabela 7, Figura 2).

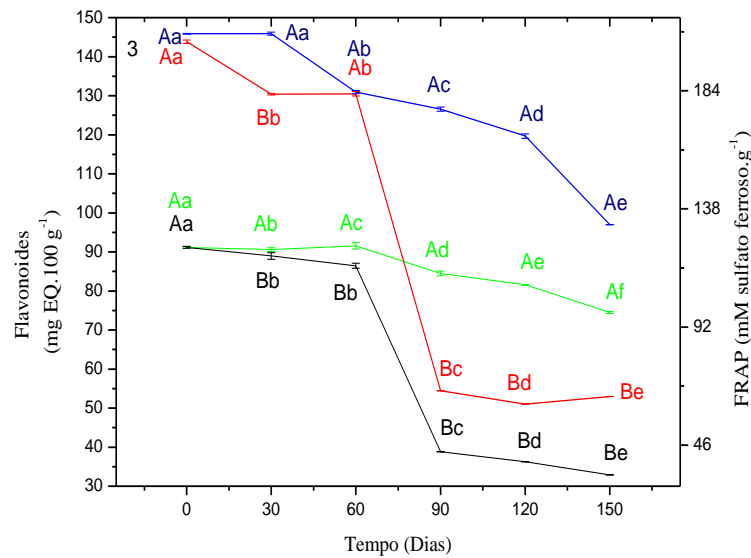
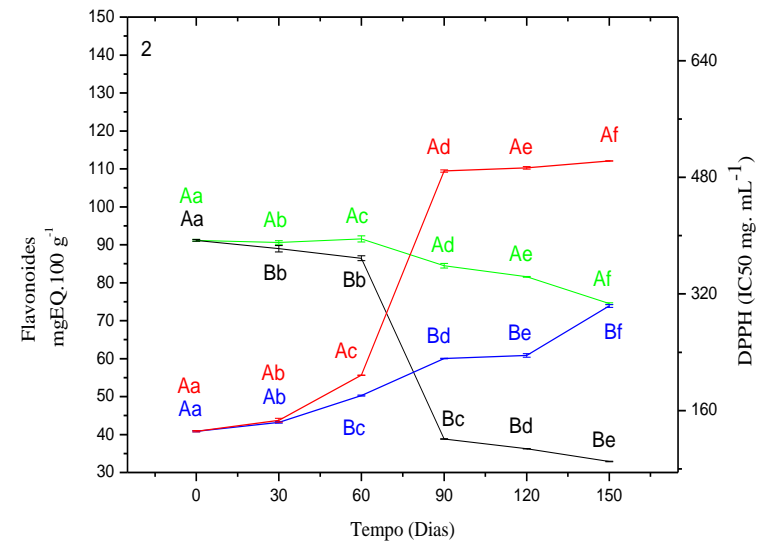
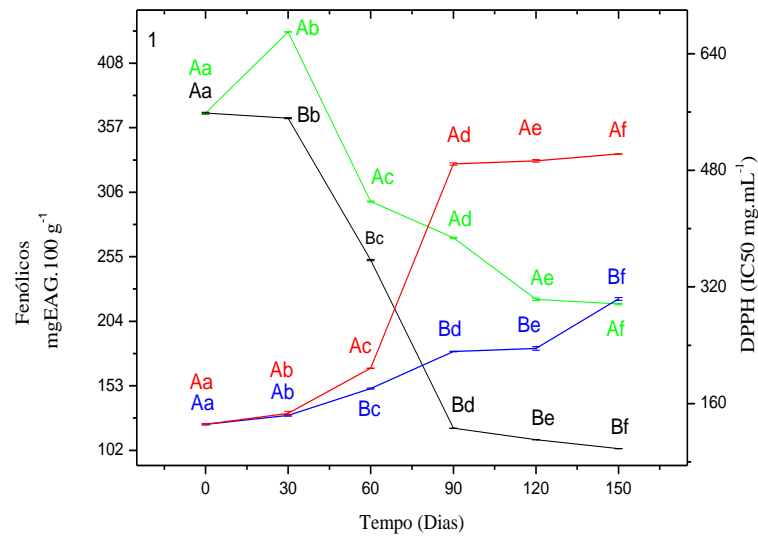


Figura 2 – Comportamento dos compostos bioativos e da atividade antioxidante do mel de *Melipona scutellaris* estocado em duas temperaturas por 150 dias.

Compostos bioativos:

- = temperatura de refrigeração,
- = temperatura ambiente,

Atividade antioxidante:

- = temperatura de refrigeração,
- = temperatura ambiente.

Letras maiúsculas distintas de mesma cor indicam diferença estatística para os dois métodos de conservação no mesmo tempo analisado a um nível de significância de 5%. Letras minúsculas distintas de mesma cor indicam diferença estatística para o mesmo método de conservação em tempo diferente analisado a um nível de significância de 5%.

As reduções da atividade antioxidante depois de 150 dias de armazenamento do mel, medida pelo DPPH, foram de ~230 %/30 °C e ~384%/5 °C. Os compostos fenólicos de méis multiflorais da Croácia durante um ano sofreram redução de 88,6%, e a atividade antioxidante (FRAP) de 72,5% (Saric et al. 2012).

Quando cristais de dextrose (glicose) são formados no mel, o conteúdo da fase líquida é maior do que o mel tinha antes da cristalização. Quando dextrose forma cristais a partir de 60 dias nos méis mantidos em refrigeração (5 °C, Figura 1), a composição dos cristais é de hidrato de dextrose, podendo estar associada a uma maior decomposição dos compostos fenólicos e flavonoides totais. Por isto os méis granulados ou cristalizados fermentam e sofrem reações de degradações mais rapidamente do que méis líquidos (CONFORTI et al 2006; GLEITER et al., 2006; KUROISHI et al., 2012). Escriche et al. (2010), afirmam que dependendo das condições ambientais, os teores de fenólicos totais sofrem degradação durante o processamento ou armazenamento do mel, e que a oxidação enzimática é o mecanismo mais relevante para a deterioração desses compostos, porém, outras degradações, devido fermentações e reações químicas podem ocorrer (GONZÁLEZ AGUILAR, 2010). A maior atividade diastásica nas amostras de mel mantido a 5 °C ao final de 150 dias de estocagem (Tabela 3) realmente pode ser um indicativo da manutenção de uma maior ação enzimática nas amostras mantidas sob refrigeração. Entretanto, sabe-se que os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples a mais complexas (alto grau de polimerização) e que estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligadas a açúcares (BRAVO, 1998; KING, YOUNG, 1990). Portanto, não pode-se excluir a possibilidade de que o processo de cristalização propiciou um meio favorável para que os fenólicos ficassem indisponíveis, ou seja, ligados aos cristais de dextrose, diminuindo assim os teores nos méis que estavam a 5 °C.

Constatam-se pela Figura 2 para os valores de DPPH apresentam correlações inversamente proporcionais com os valores de fenólicos totais para as amostras mantidas sob refrigeração ($R^2 = 0,96$) e a 30 °C ($R^2 = 0,88$), e com flavonoides totais ($R^2 = 0,99/5^\circ\text{C}$ e $R^2 = 0,91/30^\circ\text{C}$), demonstrando que a capacidade antioxidante dos méis possui associação com o quantitativo destes compostos em ambas temperaturas (Figura 2). Também observa-se correlações diretamente proporcionais entre flavonóides totais e os valores de FRAP ($R^2 = 0,98/5^\circ\text{C}$, $R^2 = 0,89/30^\circ\text{C}$), uma vez que está fortemente relacionado com a maior representatividade da capacidade antioxidante decorrente destes compostos presentes no mel.

A redução da atividade antioxidante do mel está associada as perdas dos compostos bioativos, e a estocagem na menor temperatura é um fator que contribui para a diminuição de ambos, pois o mel armazenado sob refrigeração apresenta uma atividade antioxidante inferior, quando comparado as perdas do mel mantido a temperatura ambiente. Segundo Manzocco (2001), quando o mel é armazenado por longos períodos em temperaturas que podem variar entre 25 °C e 45 °C, a concentração e composição dos compostos bioativos e as propriedades antioxidantes podem mudar. Isso ocorre, pois, o armazenamento pode provocar polimerização progressiva de compostos fenólicos para a formação de produtos macromoleculares de cor castanha, relacionadas a alterações da coloração do produto. Para uma avaliação mais detalhada é necessário fazer o monitoramento da composição de compostos fenólicos ao longo da estocagem.

4. CONCLUSÃO

A qualidade do mel diminui com a temperatura e o tempo de estocagem, afetando assim as propriedades físico-químicas, cor, compostos bioativos, atividade antioxidante e qualidade microbiológica. Dos parâmetros analisados, os teores da acidez total e hidroximetilfurfural (HMF) aumentaram, enquanto a atividade diastásica (A.D.) diminuiu, ao longo do tempo e dependendo da temperatura testada, sendo mais acentuados na temperatura ambiente (30° C). Estes três parâmetros apresentaram maiores incorformidades com os valores estabelecidos (Portaria N° 207, ADAB 2014), principalmente HMF e A.D. a 30 °C. Ao contrario, os compostos bioativos sofreram reduções proporcionais a atividade antioxidante, porém mais acentuadas a partir de 60 dias a 5 °C, onde começou o processo de cristalização da dextrose, favorecendo a degradação e/ou indisponibilidade dos fenólicos e flavonóides, diminuindo assim a atividade antioxidante. Apesar desta degradação, o mel ainda apresenta qualidade e propriedades funcionais para os consumidores.

Sugere-se que a forma mais adequada para a estocagem do mel de abelha sem ferrão de *Melipona scutellaris* seja a temperatura de refrigeração, no entanto quando o processo de cristalização iniciar-se, deve-se mante-lo em temperatura ambiente, visando uma maior manutenção das propriedades antioxidantes.

REFERÊNCIAS

ABD JALIL, M. A.; KASMURI, A. R.; HAID, H. Stingless bee honey, the natural wound healer: a review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 30, p. 66–75, 2017.

ADAB. **Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha social sem ferrão, gênero *Melipona* (pp. 1-9), Bahia, Brasil: Portaria ADAB N° 207 DE 21/11/2014, 2014.

ALMEIDA- MURADIAN, L. B.; SOUSA, R. J.; BARTH, O. M.; GALLMANN, P. Preliminary data on Brasil monofloral honey from the northeast region using FTIR ATR spectroscopic, palynological, and color analysis. **Química Nova**, v. 37, p. 716-719, 2014.

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

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; BRENCIANI, A.; MAZZONI, L.; GASPARRINI, M., GONZÁLEZPARAMÁS, A. M. Apis mellifera vs melipona beecheii cuban polifloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 87, p. 272–279, 2018.

ALVES, R. M. de; CARVALHO, C. A. de; SOUZA, B. de A.; SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 25, p. 644-650, 2005.

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

ALONSO, A. M.; GUILLÉN, D. A.; BARROSO, C. G.; PUERTAS B.; GARCÍA A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 50, p. 5832-5836, 2002.

APHA: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4^a ed., 2001. 676p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **969.38**: moisture in honey. Washington: AOAC, 2010.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-33, 1998.

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

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento dos alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 144 p., 2001.

BRASIL. Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro. Estabelecer as definições, a classificação e as características do mel, bem como as regras relativas ao seu acondicionamento e rotulagem, adotando as disposições da Diretiva nº 74/409/CEE, do Conselho, de 22 de Julho, relativa à aproximação das legislações dos Estados membros respeitantes ao mel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, nº 216 – 1ª Série-A. Brasília, DF. Disponível em: <http://www.segurancalimentar.com/leg_desc1.php?id=880> Acesso em 26 de jun. 2018.

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

CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; GONZÁLEZ-VIÑAS, M. A. F. E.; PÉREZ-COELLO, M. S. Influence of Storage Conditions on Chemical Composition and Sensory Properties of Citrus Honey. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 6, p. 1999–2006, 2008.

CODEX STAN 12. **Codex Alimentarius Comission. Codex Standard for Honey**, v. 11, n. 12, p. 1-8, 2001.

CONFORTI, P. A.; LUPANO, C. E.; MALACALZA, N. H.; ARIAS, V.; CASTELLS, C. B. Crystallization of honey at -20°C. **International Journal of Food Properties**, v. 9, n. 1, p. 99-107, 2006.

CORBELLA, E.; COZZOLINO, D. Classification of the Floral Origin of Uruguayan Honeys by Chemical and Physical Characteristics Combined with Chemometrics. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 534-539, 2006.

COSTA JUNIOR, M. P. Integração especial dos mercados exportadores de mel natural no Brasil. **Read**, v. 86, n. 1, p. 31-33, 2017.

CHAIKHAM, P.; KEMSAWASD, V.; APICHARTSRANGKON, A. Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. **Food Bioscience**, v. 15, 19–26, 2016.

CHIRIFE, J.; ZAMORA, M. C.; MOTTO, A. The Correlation Between Water Activity and % Moisture in Honey: fundamental aspects and application to Argentine honeys. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 3, p. 287-292, 2006.

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

CRANE, E. **O livro do mel**. 2ª edição. São Paulo: Nobel, 1985. 226 p.

DA COSTA L. J. M.; TRUGO, L. C.; COSTA, L. S. M.; QUINTEIRO, L. M. C.; BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L. Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. **Food Chemistry**, v. 70, p. 93–98, 2000.

DIONISIO, A. P.; WURLITZER, N. J.; PINTO, C. O.; GOES, T. S.; BORGES, M. F.; ARAÚJO, I. M. S. Processing and stability of a beverage composed of cashew apple and yacon under refrigerated storage. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 018.

DUARTE, A. W. F.; VASCONCELOS, M. R. dos S.; ODA-SOUZA, M.; OLIVEIRA, F. F. de; LÓPEZ, A. M. Q. Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology**, p. 1-11, 2018.

EL SOHAIMY, S. A.; MASRY, S. H. D.; SHEHATA, M. G. Physicochemical characteristics of honey from different origins. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 2, p. 279–287, 2015.

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

ESCRICHE, I.; KADAR, M.; JUAN-BORRÁS, M.; DOMENECHA, E. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 142, p. 135–143, 2014.

EVANGELISTA-RODRÍGUES, A.; SILVA, E. M.; BESERRA, E. M.; RODRÍGUES, M. L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado de Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1166–1171, 2005.

FERNÁNDEZ, L. A.; GHILARDI, C.; HOFFMANN, B.; BUSSO, C.; GALLEZ, L. M. Microbiological quality of honey from the Pampas Region (Argentina) throughout the extraction process. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 49, n. 1, p. 55–61, 2017.

FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, p. 2-8, 2018.

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

- FINCO, F. D. B. A.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Food Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 706-712, 2010.
- FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterizations of honey from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1649-1653, 2007.
- GONZALEZ-AGUILAR, G. A.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; YAHIA, E. M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments Trends. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 475-482, 2010.
- GLEITER, R. A.; HORN, H.; ISENGARD, H. D. Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. **Food Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 441-445, 2006.
- GRAJALES, C. J.; RINCÓN, R. M.; VANDAME, R.; SANTIESTEBAN, N. A.; GUZMÁN, D. **Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de Meliponinos y Apis mellifera de la región Soconusco, Chiapas**. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Agujón, Mérida, Mexico, pp. 61-66, 2001.
- HAYRULLAH, I. k. Composition of honeys collected from eastern and south-eastern Anatolia and effect of storage on hydroxymethylfurfural content and diastase activity. **Turkish Journal of Agriculture and Forestr**, v. 25, p. 347-349, 2001.
- HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 55-58, 2012.
- HOOPER, T. **Guia do Apicultor**. S.I.: Publicações Europa-América, p. 223-266, 1976.
- KING A, YOUNG G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 50, n. 2, p. 213-8, 1990.
- KIRNPAL-KAUR, B. S.; TAN, H. T.; BOUKRAA, L.; GAN, S. H. Different solid phase extraction fractions of Tualang (*Koompassia excelsa*) honey demonstrated diverse antibacterial properties against wound and enteric bacteria. **Journal of Api Products and Apimedical Science**, v. 3, p. 59-65, 2011.
- KUROISHI, A. M., QUEIROZ, M.B; ALMEIDA, M. M. de; QUAST, L. B. Evaluation of honey crystallization from the colour and water activity parameters. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 84-91, 2012.
- KHALIL, M. I., SULAIMAN, S. A., BOUKRAA, L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. **The Open Nutraceuticals Journal**, v. 3, p. 6-16, 2010.
- LABUZA, T. P. The effect of water activity on reactiokinetics of food deterioration. **Food Technology**, v. 34, n. 4, p. 36-41, 1980.

LAZAREVIC, K. B.; ANDRIĆ, F.; TRIFKOVIĆ, J.; TEŠIĆ, Ž.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D. Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. **Food Chemistry**, v. 132, p. 2060–2064, 2012.

LEMOS, M.; VENTURIERI, G.; DANTAS FILHO, H.; DANTAS, K. Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the amazon region. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 135–144, 2018.

LEÓN-RUIZ, V.; VERA, S.; GONZÁLEZ-PORTO, A. V.; ANDRÉS, M. P. S. (2011). Vitamin C and Sugar Levels as Simple Markers for Discriminating Spanish Honey Sources. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, p. 356-361, 2011.

MAKRIS, D. P.; ROSSITER, J. T. Heat-induced, metalcatalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (quercetin 3-O-rhamnosylglucoside) in aqueous model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3830-3838, 2000.

MANZOCCO, L., CALLIGARIS, S., MASTROCOLA, D., NICOLI, M. C., & LERICI, C. R. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 340–346, 2001.

MOURA, S. G. de; CARNEIRO, J. G. de M.; SOUZA, D. C. Variação das características físico-químicas de méis em função do tempo de armazenamento nas condições de Teresina-PI. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPI, 11, 2002, Teresina (PI), **Resumos...** Teresina: Universidade Federal do Piauí, p. 4, 2002.

NASCIMENTO, K.S. do; SATTLER, J. A. G.; MARCEDO, L. F. L.; González, C. V. S.; MELOA, I. L. P. de; ARAÚJO, E. da S.; Granato, D.; Sattler, A.; Almeida-Muradian, L. B. de. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, p. 85–94, 2018.

NAYIK, G.A.; NANDA, V. Characterization of the volatile profile of unifloral honey from Kashmir valley of India by using solidphase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **European Food Research and Technology**, v. 240, p. 1091–1100, 2015

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

NWEZE, J. A.; OKAFOR, J. I.; NWEZE, E. I.; NWEZE, J. E. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: a comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka. Niger. **BMC Research Notes**, v. 10, p. 2-6, 2017.

ODDO, L.P., HEARD, T.A., RODRIGUEZ-MALAVAR, A., PEREZ, R.A., FERNANDEZ-MUINO, M., SANCHO, M.T., SESTA, G., LUSCO, L., VIT, P. Composition and antioxidant activity of trigona carbonaria honey from Australia. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 4, p. 789–794, 2008.

OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. da C. Physical-chemical analysis of honeys from africanized and native bees. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 2, p. 132-8, 2011.

- OUCHEMOUKH, S., SCHWEITZER, P., BACHIR BEY, M., DJOUDAD-KADJI, H., & LOUAILECHE, H. HPLC sugar profiles of Algerian honeys. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 561–568, 2010.
- PAIVA, C. A.; TOMAZ, H. V. Q.; AROUCHA, E. M. M.; NUNES, H. S.; OLIVEIRA, A. J. F. Vida de prateleira do mel produzido por abelhas africanizadas. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 2, p. 151-159, 2012.
- PEDRO, S. R. M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61, p. 348-354, 2014.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa, 2007.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PEREZ-JIMENEZ, E. S. J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
- RYBAK-CHMIELEWSKA, H. Changes in the carbohydrate composition of honey undergoing during storage. **Journal of Apicultural Science**, v. 51, n. 1, p. 39-47, 2007.
- VINSON, J. A.; SU, X.; ZIBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits, **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-21, 2001.
- VIT, P.; MEDINA, M.; ENRIQUEZ, M. E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. **Bee World**, v. 85, n 1, p. 2-5. 2004.
- VIT, P.; PERSANO, O. L.; MARANO M. L.; MEJIAS E. S. Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. **Apidologie**, v. 29, p. 377-389, 1998.
- RADA-MENDOZA, M; OLANO, A; VILAMIEL, M. Determination of hydroxymethylfurfural commercial jams and in fruit based infant foods. **Food Chemistry**, v. 79, p. 513-51, 2002.
- RUIZ-RUIZ, J. C.; MATUS-BASTO, A. J.; ACERETO-ESCOFFIÉ, P.; SEGURA-CAMPOS, M. R. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. **Food and Agricultural Immunology**, p. 1-14, 2017.
- SANZ, S.; GRADILLAS, G.; JIMENO, F.; PEREZ, C.; JUANI T. Fermentation Problem in Spanish North-Coast Honey. Fermentation Problem in Spanish North-Coast Honey. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 5, p. 515-518, 1995.

SEREIA, M. J.; ALVES, E. M.; TOLEDO, V. de A. A. de; MARCHINI, L. C.; FAQUINELLO, P.; SEKINE, E. S.; WIELEWSKI, P. Microbial flora in organic honey samples of africanized honeybees from Parana river islands. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 462–466, 2011.

SILVA, I. A. A. da; SILVA, T. M. S. da; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; NOVAIS, J. S. de; SOLEDADE, L. E. B.; LIMA, E. de O.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3552–3558, 2013.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol**, v. 299, p. 152–78, 1999.

SILVA, I. A. A.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; QUEIROZ, N.; MAGNANI, M.; NOVAIS, J. S.; SOLEDADE, L. E. B.; OLIVEIRA, L. E.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3552–3558, 2013a.

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

SILVA, T. M. G.; SILVA, P. R., CAMARA, C. A.; SILVA, G. S.; DOS SANTOS, F. A. R. SILVA, T. M. S. Análises químicas e potencial antioxidante do mel de Angico produzido pelas abelhas sem-ferrão Jandaíra. **Revista Virtual Química**, v. 6, n. 5, p. 1370–1379, 2014.

SILVA, M. S.; RABADZHIEV, Y.; ELLER, M. R.; ILIEV, I.; IVANOVA, I.; SANTANA, W. C. **Microorganisms in Honey**. Agricultural and biological Science “Honey Sciences”, book edited by Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, 2017.

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

SOLAYMAN, M.; ISLAM, M. A.; PAUL, S.; ALI, Y.; KHALIL, M. I.; ALAM, N.; GAN, S. H. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 219–233, 2016.

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

SOUZA, B. A.; ROUBIK, D. W.; BARTH, O. M.; HEARD, T. A.; ENRÍQUEZ, E.; CARVALHO, C.; VILLAS-BÔAS, J.; MARCHINI, L.; LOCATELLI, J.; PERSANO-ODDO, L.; ALMEIDA-MURADIAN, L.; BOGDANOV, S.; VIT, P. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. **Interciencia**, v. 31, n. 12, p. 867–875, 2006.

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

SOUZA, J. M.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, Â. T. de M.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by *Meliponini* in the Brazilian semiarid region. **Food Research International**. v. 84, p. 61-68, 2016.

SUNTORNUSUK, L. Capillary electrophoresis of phytochemical substances. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 27, p. 679–698, 2002.

VIANA, J. L; FRANCISCO, A. K; CARVALHO, C. A. L; WALDSCHMIDT, A. M. Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Recôncavo, Bahia, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3444-54, 2013.

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

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

WHITE JÚNIOR, J.W. Quality evaluation of honey: role of HMF and diastase assays. Part II. **American Bee Journal**, v. 132, n. 12, p. 792-794, 1992.

WHITE JÚNIOR, J.W. Honey. **Advances in Food Research**, v. 22, p. 287-374, 1978.

YÜCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience I**, v. 1, p. 16–25, 2013.

ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. **Food Control**, v. 17, n. 1, p. 59-64, 2006.

