

# **UFRB**

Universidade Federal do  
Recôncavo da Bahia

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E  
BIOLÓGICAS  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**JORGE ALBERTO CARDOSO PEREIRA BORGES**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, ATIVIDADE DE ÁGUA E  
UMIDADE EM MÉIS DE ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS  
SEM FERRÃO (APIDAE: MELIPONINAE) DE MUNICÍPIOS  
DO TERRITÓRIO DE IRECÊ – BA**

Cruz das Almas

2012

**JORGE ALBERTO CARDOSO PEREIRA BORGES**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, ATIVIDADE DE ÁGUA E  
UMIDADE EM MÉIS DE ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS  
SEM FERRÃO (APIDAE: MELIPONINAE) DE MUNICÍPIOS  
DO TERRITÓRIO DE IRECÊ – BA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
submetido ao Colegiado de Curso de  
Bacharelado em Ciências Biológicas do  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e  
Biológicas da Universidade Federal do  
Recôncavo da Bahia, como requisito  
parcial para a obtenção do Grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

**Cruz das Almas – BA**

**2012**

## FICHA CATALOGRÁFICA

B732

Borges, Jorge Alberto Cardoso Pereira.

Avaliação microbiológica, atividade de água e umidade em méis de espécies de abelhas sociais sem ferrão (*Apidae: meliponinae*) de municípios do território de Irecê – BA / Jorge Alberto Cardoso Pereira Borges.\_ Cruz das Almas, BA, 2012.

39f.; il.

Orientadora: Geni da Silva Sodré.

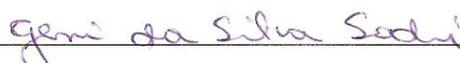
Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Mel – Qualidade. 2.Abelha sem ferrão. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 638.16

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E  
BIOLÓGICAS  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

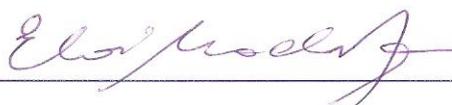
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MONOGRAFIA DE  
CONCLUSÃO DE CURSO DE JORGE ALBERTO CARDOSO  
PEREIRA BORGES



Prof.a. D.Sc. Geni da Silva Sodré  
Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas – UFRB  
(Orientadora)



D.Sc. Cerilene Santiago Machado  
Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas – UFRB



D.Sc. Eloi Machado Alves  
Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas – UFRB

Cruz das Almas

Novembro de 2012.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Jorge (*In Memoriam*), José Raimundo e Marlúcia pela base familiar e apoio sempre, e aos meus irmãos Rejane e Leandro, pelo carinho e atenção;

A Ceci Figuerêdo pelo amor e carinho que tem me dado todos esses anos.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus por ter me dado força e coragem todos esses anos para superar todas as dificuldades.

A minha família, em especial a minha mãe por todo o amor, carinho, dedicação e incentivo, ao meu pai (*In Memoriam*) exemplo de caráter, ao meu padrasto, José Raimundo, pelo companheirismo e força que tem nos dado e aos meus irmãos Leandro e Rejane, pelo amor que existe entre nós, cada qual com sua forma, amo muito vocês.

A todos os meus tios(as), primos(as), sobrinho(as), em especial aos meus avós Maurilha e Alberto, que Deus os tenha em um bom lugar.

A minha amada Ceci Figuerêdo companheira de todas as horas, obrigado por tudo amor.

A UFRB – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, que abriu novas portas para minha formação, contribuindo com toda a estrutura física e de pessoal, em especial ao CCAAB.

Ao Grupo INSECTA, pela oportunidade e confiança que tem me dado, em especial ao professor Carlos Alfredo e a professora Geni Sodré pela orientação, apoio e confiança fundamental no desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Carlos Ledo da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) pela ajuda com os embaraçosos números estatísticos.

A todo o pessoal que faz e fizeram parte do Grupo INSECTA, em especial a Samira quem estabeleceu essa ponte com o grupo, a Daiane amiga de todas as horas, a Luran por deixar os nossos dias mais leves e alegres, a Philipe que, apesar do pouco tempo que passou no grupo, deixou marcas inapagáveis com toda sua irreverência e bom humor, a Polyana por todo o apoio, a Cerilene, Aline, Maiara e todos os outros integrantes.

Aos amigos de sempre, Átila por ter sempre a palavra certa para o momento certo, a Lufe por sempre deixar dois “dedinhos” de suco no copo de liquidificador pra mim (rsrsrsr), mas principalmente pela amizade verdadeira, a Pedro Froes pela grande empatia que existe entre nós.

Ao CNPq e a FAPESB pela concessão de bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) e pelo incentivo financeiro e científico apostado em nossos projetos.

A todos os professores do curso de Biologia da UFRB que tornou isso possível.

A UNEB – Universidade Estadual da Bahia, pela sua contribuição na minha formação.

A todos que direta ou indiretamente fez parte desse processo, deixo os meus sinceros agradecimentos.

## EPÍGRAFE

### ***Todo o Risco***

*“A possibilidade de arriscar  
É que nos faz homens  
Voo perfeito  
no espaço que criamos  
Ninguém decide  
sobre os passos que evitamos  
Certeza  
de que não somos pássaros  
e que voamos  
Tristeza  
de que não vamos  
por medo dos caminhos”*

Damário da Cruz

# **AValiação microbiológica, atividade de água e umidade em méis de espécies de abelhas sociais sem ferrão (APIDAE: MELIPONINAE) de municípios do Território de Irecê – BA**

Autor: Jorge Alberto Cardoso Pereira Borges

Orientadora: Geni da Silva Sodré

**RESUMO:** O mel ao ser comparado com outros produtos de origem animal apresenta uma baixa microbiota, porém não é um alimento estéril e está susceptível a contaminações pela manipulação inadequada. O conteúdo de água é um importante parâmetro para estimativa da estabilidade físico-química e microbiológica de produtos alimentícios, devido a sua influência sobre reações químicas, enzimáticas e microbiológicas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as características microbiológicas e físico-químicas (atividade de água e umidade) em amostras de méis de diferentes espécies de abelhas sociais sem ferrão de municípios do Território de Irecê – BA. Foram coletadas 20 amostras de méis, sendo 5 amostras para cada espécie (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836; *Melipona mandacaia* Smith; *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 e *Scaptotrigona* sp.). As amostras foram encaminhadas para o Núcleo de Estudos dos Insetos (Insecta) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em Cruz das Almas – BA. As amostras foram avaliadas com relação à presença de bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>), coliformes totais e termotolerantes (NMP.g<sup>-1</sup>) e aeróbios mesófilos e psicotróficos (UFC.g<sup>-1</sup>). Quanto aos parâmetros físico-químicos foram analisados o teor de umidade e atividade de água. Não foi verificada a presença de microrganismos do grupo dos coliformes e aeróbios psicotróficos, entretanto, foi constatado em 85,0% das amostras a presença de aeróbios mesófilos. Um total de 65,0% das amostras apresentou contagem padrão para bolores e leveduras. Quanto a umidade e  $a_w$ , foram constatados média geral de  $28,63 \pm 1,55\%$  e  $0,79 \pm 0,03a_w$ , respectivamente. Com base no coeficiente de Pearson, houve correlação entre as variáveis mesófilos e bolores e leveduras. Foi possível verificar que a atividade de água e umidade também apresentam relação positiva. Entretanto, apesar da conhecida influência da quantidade de água sobre o crescimento de microrganismos, a umidade e a atividade de água das amostras de méis não explicaram a contagem de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos encontrada. Estes resultados apontam para a necessidade se levar em conta as análises microbiológicas, associadas às físico-químicas no mel, como forma de se ter uma maior garantia das condições higiênico-sanitárias e do uso de Boas Práticas Apícola (BPA) em todas as etapas do processo produtivo.

**Palavras chave:** abelhas sem ferrão; qualidade do mel, microrganismo, físico-química

# **MICROBIOLOGICAL EVALUATION, WATER ACTIVITY AND MOISTURE IN HONEYS OF SPECIES OF STINGLESS SOCIAL BEES OF MUNICIPALITIES OF THE TERRITORY OF IRECÊ - BA.**

Author: Jorge Alberto Cardoso Pereira Borges

Adviser: Geni da Silva Sodré

**ABSTRACT:** Compared with other products of animal origin, honey has low microbiota, however is not a sterile food and is susceptible to contamination by improper handling. Water content is an important parameter to estimate the physical and chemical stability and microbiological analysis of food products, due to their influence on chemical reactions, enzymatic and microbiological. Thus, this study aimed to evaluate the microbiological and physical-chemical properties (water activity and moisture) in honey samples of different species of stingless social bees from municipalities of the Territories of Irecê - BA. Twenty honey samples were collected with five samples for each species (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836; *Melipona mandacaia* Smith; *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 and *Scaptotrigona* sp.). The samples were sent to the Center for the Study of Insects (Insecta) of the Center for Agricultural Sciences, Environmental and Biological of the Universidade Federal do Recôncavo da Bahia in Cruz das Almas - BA. The samples were evaluated for the presence of yeasts and molds (CFU g<sup>-1</sup>), total and fecal coliforms (NMP.g<sup>-1</sup>) and aerobic mesophilic and psychrotrophic (CFU g<sup>-1</sup>). As for the physical and chemical parameters, moisture content and water activity were analyzed. The presence of the coliform group of microorganisms and aerobic psychrotrophic has not been verified, however it was found in 85.0% of samples the presence of aerobic mesophilic. A total of 65.0% of the samples showed standard counting for yeasts and molds. As moisture and aw, were found overall average of 28.63% ± 1.55 and 0.79 ± 0.03 aw, respectively. Based on Pearson's coefficient, there was correlation between the variables and mesophilic yeasts and molds. It was found that water activity and moisture also exhibit positive relationship. However, [despite the known influence of water on the growth of microorganisms] moisture and water activity of the honey samples did not explain the count of molds and yeasts, and aerobic mesophilic found. These results point to the need to consider microbiological analyzes associated with physicochemical in honey as a way to have a greater guarantee of sanitary conditions and the use of Beekeeping Practice (GAP) in all stages of the production process.

**Key-words:** stingless bees; honey quality; microorganism; physicochemical

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Procedimentos adotados para a avaliação de bolores e leveduras em mel: (A, B e C) primeira diluição ( $10^{-1}$ ), segunda diluição ( $10^{-2}$ ) e terceira diluição ( $10^{-3}$ ), respectivamente; (D) flambagem da alça de Drigalski; (E) plaqueamento em superfície usando ágar batata dextrose em placa de Petri; e (F) incubação em B.O.D. a 25°C.....25

**Figura 2.** Procedimentos adotados para a avaliação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em mel: (A e B) inóculo das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ; (C) plaqueamento por profundidade em meio de cultura Águar Padrão; (D) incubação a 35°C por 48 horas (aeróbios mesófilos) e 7°C por 10 dias (aeróbios psicrotróficos).25

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Relação dos limites de atividade de água para o crescimento de organismos comuns de deterioração em alimentos. ....22
- Tabela 2.** Contagem padrão de bolores e leveduras ( $\text{UFC.g}^{-1}$ ), número mais provável de coliformes totais e termotolerantes ( $\text{NMP.g}^{-1}$ ), bactérias psicrotróficas e mesófilas ( $\text{UFC.g}^{-1}$ ), atividade de água ( $a_w$ ) e umidade (%) determinados em amostras de méis de diferentes espécies de abelhas sociais sem ferrão de municípios do Território de Irecê – Ba. ....28
- Tabela 3.** Médias, desvio padrão e coeficiente de variação de características físico-químicas e microbiológicas de amostras de méis de espécies de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba. ....30
- Tabela 4.** Comparação de médias pelo teste de Tukey entre bolores e leveduras, mesófilos, umidade e atividade de água ( $a_w$ ) para os méis de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba. ....32
- Tabela 5.** Coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros físico-químicos e microbiológicos analisados: bolores e leveduras, mesófilos, atividade de água ( $a_w$ ) e umidade de méis de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba. ....33

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	12
2.	JUSTIFICATIVA .....	14
3.	OBJETIVOS .....	15
3.1.	Geral .....	15
3.2.	Específico .....	15
4.	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
4.1.	Abelhas sociais sem ferrão.....	16
4.2.	Mel: definição e classificação .....	17
4.3.	Características microbiológicas do mel.....	18
4.4.	Características físico-químicas do mel: $a_w$ e umidade .....	20
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
5.1.	Análises físico-químicas .....	23
5.1.1.	Atividade de água ( $a_w$ ).....	23
5.1.2.	Umidade (%).....	23
5.2.	Características microbiológicas .....	23
5.2.1.	Bolores e leveduras .....	23
5.2.2.	Coliformes totais e termotolerantes .....	24
5.2.3.	Aeróbios mesófilos e psicrotóxicos .....	24
5.3.	Análise dos dados .....	26
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
6.1.	Análises microbiológicas .....	26
6.2.	Análises físico-químicas .....	31
7.	CONCLUSÃO.....	34
8.	REFERÊNCIAS.....	35

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas sociais sem ferrão (meliponíneos) perfazem aproximadamente 300 espécies, sendo que a maioria é produtora de méis de qualidade. Embora produzindo mel em menor quantidade, os meliponíneos fornecem um produto que se diferencia do mel da abelha *Apis mellifera* L., 1758, principalmente no sabor distinto e no aroma, alcançando preços elevados no mercado (Alves et al. 2005a, 2005b).

Segundo o Ministério da Agricultura (2000) entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia.

No Brasil, é a Instrução Normativa 11, de 20 de outubro/2000 (BRASIL, 2000) que regulamenta a padronização do mel para fins de comercialização. Esta regulamentação, baseada em legislações europeias, atende às características do mel de *A. mellifera*, não contemplando o mel das abelhas sociais sem ferrão nativas do país, que apresentam diferenças em alguns parâmetros físico-químicos. De maneira geral, o mel das espécies de meliponíneos tem como principal característica a diferenciação nos teores da sua composição, destacando-se o teor de água (umidade), que o torna menos denso quando comparado ao mel das abelhas africanizadas (*A. mellifera*) (Alves et al. 2005b; Azeredo et al. 2000) exigindo maiores cuidados quanto a sua conservação.

A umidade é um dos principais indicadores de qualidade e maturidade do mel (Wiese, 1986). O valor máximo permitido para o teor de umidade para o mel de *Apis* segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel é de 20% (BRASIL, 2000).

Em decorrência do excesso de umidade o mel pode ser fermentado por vários microrganismos, especialmente os *Zygosaccharomyces* e outros como, *Saccharomyces rouxii*; *S. mellis*; *Leuconostoc dextranicum*; *Aerobacter aerogenes*, que existem nas flores e no solo e que conseguem se desenvolver em altos teores de

açúcar. A fermentação mais comum é a mucínica, resultando glicose, CO<sub>2</sub> e substância mucilaginosa. A alteração sofrida pelo mel pode ser avaliada pelo excesso de ácido láctico produzido. Méis colonizados por esses microrganismos tendem a fermentar mais rapidamente após a cristalização da glicose em função do desequilíbrio água/açúcar provocado (Vidal e Fregosi, 1984).

Além da umidade, também o conceito de atividade de água tem sido utilizado por agências regulatórias para avaliação da estabilidade do alimento durante sua armazenagem, com enfoque no crescimento de microrganismos indesejáveis (Fontana Jr., 2000).

A água presente nos alimentos pode encontrar-se na forma de molécula livre ou ligada ao substrato. A atividade de água ( $a_w$ ) é um dos fatores intrínsecos dos alimentos e é uma medida qualitativa que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre que é susceptível a diversas reações, ao passo que o teor de umidade é uma medida meramente quantitativa, medindo o percentual em peso, de toda a água presente no alimento, tanto livre quanto ligada (Braseq, 2011).

A atividade de água é um dos parâmetros mais importantes na conservação dos alimentos, tanto no aspecto biológico como nas transformações físicas. Desta forma, podem ser previstas reações de oxidação lipídica, escurecimento não enzimático, atividade enzimática, desenvolvimento de microrganismo, assim como o comportamento de misturas de alimentos com diferentes valores de atividade de água e sistema de embalagem (Teixeira Neto et al. 1976).

O mel está associado a uma imagem de produto natural, saudável e limpo (Bogdanov, 2006), sendo atribuídas a ele propriedades medicinais e atividade antimicrobiana, geralmente relacionadas às suas características físicas e químicas (Molan, 1999).

De acordo com Muratori e Souza (2002), a microbiota do mel pode ser dividida em dois grupos. No primeiro se encontram os microrganismos inerentes ao mel e no segundo os de contaminação secundária, que estão diretamente relacionados à extração e ao beneficiamento do alimento. Entre os primeiros são encontrados os bolores e leveduras, que em condições normais de umidade, não interferem na qualidade do mel e não são patogênicos. No segundo grupo estão os

coliformes a 35°C, indicativos de higiene associada à manipulação, e os coliformes a 45°C, que permitem avaliar as condições higiênico-sanitárias, podendo ser causadores de enfermidades.

A colheita, primeiro contato do apicultor com o mel, é um ponto crítico do processo de obtenção, pois nesta etapa inicia-se a exposição a condições que podem interferir na sua qualidade – manipulação, equipamentos, instalações, etc. (Silva et al. 2004). A forma de armazenamento das abelhas permite sua conservação e devem ser tomados cuidados para interferir o mínimo possível na qualidade do mel, garantindo a manutenção de suas características originais (White, 1993).

## 2. JUSTIFICATIVA

Em função do risco à saúde pública que a presença de microrganismos representa em alimentos, estabeleceu-se em diversos países a obrigatoriedade de sua pesquisa e enumeração, como parte das ações de fiscalização sanitária de órgãos governamentais (Matos et al. 1995; Silva et al. 1997). Entretanto, a legislação brasileira (BRASIL, 2000) não exige testes microbiológicos em amostras de mel, sendo estabelecido que sejam seguidas as práticas de higiene adequadas na manipulação do produto. Essa não exigência pode ser falha, uma vez que os indicadores microbiológicos evidenciam a necessidade de um controle higiênico-sanitário efetivo devido às falhas que se observa na manipulação e conservação dos alimentos.

Um dos principais fatores que justifica a análise microbiológica do mel é a possível presença da bactéria *Clostridium botulinum* causadora do botulismo, uma doença que provoca uma neuroparalisia causada pela ação de uma toxina de natureza proteica produzida por essa bactéria. Esta proteína termolábil é capaz de causar a morte no homem com doses de 0,1 a 1,0 mg (Ragazani et al. 2008).

No estado da Bahia são poucas as informações a respeito da qualidade microbiológica do mel de abelha social sem ferrão comercializado na região, sendo

estas informações fundamentais para a garantia da qualidade dos produtos e da segurança alimentar dos consumidores.

O presente trabalho é justificável pela carência de informações sobre a qualidade microbiológica do mel das abelhas sociais sem ferrão, obtendo resultados que servirão de base de dados para a qualificação do mel e de subsídios para a formulação de portarias que regulamentem a comercialização do mel de abelha social sem ferrão no estado da Bahia.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Geral**

- Avaliar as características microbiológicas, atividade de água e umidade em méis de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836; *Melipona mandacaia* Smith; *Melipona scutellaris* Latreille, 1811; *Scaptotrigona* sp., de municípios do Território de Irecê – BA.

#### **3.2. Específico**

- Comparar a atividade de água, umidade e características microbiológicas entre os méis das diferentes espécies de abelha sociais sem ferrão estudadas.

- Determinar a correlação da atividade de água ( $a_w$ ) e umidade no crescimento microbiano do mel de abelhas sociais sem ferrão estudadas.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1. Abelhas sociais sem ferrão

De acordo Proni (2000) atualmente, cerca de 20.000 espécies de abelhas habitam os mais diversos tipos de ecossistemas. Possuem uma diversificação muito rica de comportamentos, tamanhos e formas. A maior parte destas possuem hábitos solitários, contrastando com a minoria que mostra vários níveis de organização social, ou seja, vive em colônias.

As abelhas sociais sem ferrão (meliponíneos) ocupam grande parte das regiões de clima tropical do planeta. Ocupam, também, algumas importantes regiões de clima temperado subtropical. Assim, essas abelhas são tipicamente encontradas na maior parte da América Neotropical, ou seja, na maioria do território Latino-Americano (Nogueira-Neto, 1997). Estas abelhas apresentam o ferrão atrofiado, o qual não pode ser usado como meio de defesa. Por isso são chamadas popularmente de abelhas sem ferrão. Pertencem à subfamília Apoidea, que é subdividida em oito famílias: Colletidae, Andrenidae, Oxaeidae, Halictidae, Melittidae, Megachilidae, Anthophoridae e Apidae. Os Apidae, por sua vez, se subdividem em quatro subfamílias: Euglossinae, Bombinae, Apinae e Meliponinae (Proni, 2000). Os Meliponinae se dividem em duas tribos: Meliponini e Trigonini (Kerr et al. 1996).

A tribo Meliponini possui um único gênero, *Melipona*, com aproximadamente 20 espécies, enquanto a tribo Trigonini possui, na região neotropical, dez gêneros num total de aproximadamente 120 espécies. Assim, no grupo *Melipona*, encontramos *Melipona scutellaris* (uruçu), *M. mandacaia* (a mandaçaia do Nordeste do Brasil), *M. asilvai* (manduri), *M. quinquefasciata* (uruçu do chão), *M. subnitida* (jandaira), entre outras. No grupo das *Trigona*, temos: *Scaptotrigona* sp. (tubi), *Trigona spinipes* (irapuá), *Frieseomelitta doederleini* (abelha branca), *Partamona cupira* (cupira) e outras (Sakagami, 1982).

Entre as abelhas tropicais presentes no Brasil, as abelhas sociais sem ferrão merecem destaque especial, sendo apreciadas e criadas em todo o país. No entanto, são pouco conhecidas e estudadas. As abelhas sociais nativas

compreendem cerca de 300 espécies, das quais aproximadamente 10%, são criadas racionalmente e principalmente no Norte e Nordeste do Brasil, e ainda há muito trabalho de pesquisa a ser realizado para conhecer essa diversidade (Silva, et al. 2009).

No Brasil o uso sustentável da meliponicultura (o manejo racional de abelhas sociais sem ferrão) representa um mercado promissor de produtos das abelhas, a ser ocupado pelas comunidades regionais de diversas áreas do país. Esta atividade vem se desenvolvendo principalmente no Nordeste brasileiro, onde as abelhas jandaíra (*Melipona subnitida*) e a uruçú (*Melipona Scutellaris*) são manejadas há bastante tempo com técnicas consagradas popularmente, porém muitas espécies de abelhas sociais sem ferrão estão seriamente ameaçadas de extinção em consequência das alterações de seus ambientes, causados principalmente pelo desmatamento, uso indiscriminado de agrotóxico e pela ação predatória de meleiros (Keer et al. 1996).

#### **4.2. Mel: definição e classificação**

O mel é um produto natural elaborado por abelhas a partir do néctar das flores, que é coletado e transformado por elas por meio de dois processos básicos, um físico, evaporação da água e outro químico, adição de enzimas (Komatsu et al. 2002), portanto, trata-se de um produto biológico muito complexo, cuja composição varia notadamente dependendo da flora visitada, das condições climáticas e edafológicas da região onde for produzido, bem como do manejo do apicultor (Silva et al. 2009). O mel é um dos produtos da colmeia mais usados, tanto *in natura* quanto em diversas formas industrializadas.

Segundo Catalan (1981) o mel puro deve apresentar aspecto líquido, denso, viscoso e translúcido, e cor que poderá variar do amarelo ao amarelo-avermelhado, com cheiro próprio, sabor doce e característico.

O mel pode ser classificado em função da matéria prima usada pelas abelhas na sua elaboração. O mel de flores ou floral é obtido dos néctares das flores. O mel

de melato é formado a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas. O mel também pode ser classificado de acordo com o procedimento de extração do favo em: mel escorrido, mel prensado e mel centrifugado, bem quanto a sua apresentação comercial em: mel líquido, cristalizado ou semi-cristalizado, mel em favos, mel com pedaços de favo e mel filtrado (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001).

#### **4.3. Características microbiológicas do mel**

Dentre os perigos aos quais o mel está exposto, o biológico é o mais importante por estar relacionado à alteração por fermentação causada por leveduras, até a presença de bactérias esporuladas como o *Clostridium botulinum*, que podem causar doenças e morte para o consumidor (Ragazani et al. 2008).

Por ser um produto usualmente consumido *in natura* os cuidados durante a colheita e extração do mel devem ser observados considerando que não haverá nenhum processo capaz de eliminar ou reduzir microrganismos patogênicos ou deteriorantes, se estiverem no produto. A falta de cuidados pode comprometer a qualidade do mel de forma irreversível e inviabilizar a sua comercialização (BRASIL, 1985).

É conferido ao mel certa atividade antimicrobiana. Esta característica está associada a vários fatores, destacam-se, a alta concentração de açúcares que leva ao aumento da pressão osmótica do meio; a baixa atividade de água; o meio ácido; a presença de agentes antibacterianos como o peróxido de hidrogênio, lisozima, ácidos fenólicos e substâncias voláteis acarretam em condições desfavoráveis para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos (Molan, 1992; Bastos, et al. 2002). Apesar desta característica ainda é possível observar a ocorrência de microrganismos no mel, que se constituem em um dos principais critérios de qualidade do produto. Em relação aos méis de meliponíneos, devido à elevada umidade e atividade de água, as leveduras presentes adquirem grande importância

por serem responsáveis pela ocorrência de processos fermentativos no produto (Souza, 2010).

Os bolores que normalmente são encontrados no mel pertencem aos gêneros *Penicilium*, *Mucor* e *Aspergillus*. Estes podem sobreviver, mas não se reproduzem no mel, por isso contagens elevadas podem indicar uma contaminação recente pelo ambiente ou por equipamentos durante o processamento (Finola et al. 2007; Snowdon e Cliver, 1996).

O grupo dos coliformes são microrganismos indicadores, que fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, além de visualizar condições inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Os coliformes a 35°C ou totais compõem as bactérias Enterobacteriaceae, são bacilos gram-negativos, não formadores de esporos e capazes de fermentar a lactose com produção de gás (Franco e Landgraf, 2008). Por outro lado os coliformes a 45°C correspondem aos coliformes termotolerantes que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás. Dentre os demais gêneros, a mais estudada é a *Escherichia coli* (Jay, 2005; Franco e Landgraf, 2008).

A presença de *Escherichia coli* em um alimento é um fato alarmante. Por ser uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae e uma vez detectada no alimento, indica contaminação bacteriana de origem fecal e, portanto está em condições higiênicas insatisfatórias (Franco e Landgraf, 2008).

Quanto aos psicotróficos, são microrganismos deteriorantes que apresentam capacidade de multiplicação em temperatura de refrigeração (entre 0 e 7°C), independentemente da sua temperatura ótima de multiplicação (Maziero et al. 2010). Por outro lado, os mesófilos são microrganismos que se multiplicam em temperaturas entre 30-35°C (Garcia-Cruz, 1999), correspondem à maioria das bactérias de interesse em alimentos e ainda inclui a maioria das bactérias patogênicas (Franco e Landgraf, 2005). A presença desses microrganismos em alimentos pode ser indicativa de deficiente qualidade higiênica da matéria-prima devida à aplicação de processo tecnológico inadequado, manipulação higiênica incorreta ou manutenção em condições impróprias (BRASIL, 2001). No mel a presença também é decorrente do processamento inadequado.

#### 4.4. Características físico-químicas do mel: $a_w$ e umidade

O mel dos meliponíneos é um produto que tem apresentado uma demanda crescente de mercado, obtendo preços mais elevados que o das abelhas do gênero *Apis*. Mesmo assim, ainda são poucos os estudos sobre as suas características físico-químicas, que auxiliem na definição de padrões de qualidade para sua comercialização, sendo que a maioria dos trabalhos que objetivam ao maior conhecimento deste produto leva em consideração padrões e características estabelecidas para o mel de *A. mellifera* (Souza et al. 2009b).

Recentemente vêm-se realizando análises físico-químicas de méis, objetivando a sua padronização, como também, obtendo subsídios para garantir a qualidade desse produto. Essa caracterização se faz necessária à qualidade do mel, pois é um alimento bastante usado no dia-a-dia de muitas famílias, principalmente, na alimentação de crianças e idosos, devido à riqueza de vitaminas e sais minerais, além de possuir propriedades antibacterianas e anticéptica, usado também na área terapêutica em tratamentos profiláticos (Melo et al. 2003). Padrões internacionais são utilizados para comparação e classificação do mel, onde diferentes variáveis experimentais são consideradas, dentre elas está a umidade.

O teor de umidade no mel tem um papel decisivo sob o ponto de vista da qualidade e estabilidade. A quantidade de água presente no mel afeta propriedades físicas e sensoriais como cor, viscosidade, sabor, peso específico, solubilidade, determinando, dessa forma, seu valor comercial (Aparna e Rajalakshmi, 1999).

Normalmente, amostras de mel apresentam teores de umidade no intervalo de 13 a 25% que estão relacionados às suas origens botânica e geográfica e as condições climáticas as quais esse produto foi submetido durante sua elaboração. Por outro lado, o mel de meliponíneos tem como principal característica a diferenciação no teor de umidade, que pode variar entre 19,9 e 41,9 %, e isso o torna menos denso que o mel das abelhas africanizadas (Souza et al. 2009a).

A legislação brasileira para determinação da identidade e qualidade do mel estabelece um valor máximo de umidade de 20% para méis de *Apis mellifera* (BRASIL, 2000).

Embora a umidade seja o parâmetro oficial adotado para estabelecer a qualidade do mel e haja informações técnicas que correlacione a umidade com o potencial fermentativo do produto, a atividade de água ( $a_w$ ) tem sido muito utilizada pela indústria para prever a estabilidade dos produtos, como parâmetro de crescimento microbiológico no qual cada microrganismo apresenta um valor ideal para o seu crescimento, visando o controle microbiológico dos alimentos concentrados e semi-úmidos (Garcia, 2004).

O teor de água existente no produto ocorre como atividade de água e água ligada, resultando assim no conteúdo total de água que é o teor de umidade. A água ligada às moléculas constituintes do produto não pode ser desassociada ou utilizada em qualquer tipo de reação química. Porém nos alimentos existe uma fração de água que fica disponível para reações físicas (como a evaporação), química e microbiana, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto. Essa quantidade de água é chamada de atividade de água, e é medida para determinar a suscetibilidade do produto à degradação (Correia-Oliveira et al. 2008), podendo ainda ser utilizada para determinar o tempo de prateleira, tipos de embalagens e condições de armazenamento adequadas.

O princípio da atividade de água consiste na pressão parcial de água na amostra (P) ou a pressão de vapor da solução (soluto+solvente), sobre a pressão de vapor na água pura (solvente), em temperatura constante ( $P^\circ$ ), ambos à mesma temperatura (Scott, 1957). Em temperatura constante, existe uma relação entre  $a_w$  de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio (URE) do ar (expresso em porcentagem) no ambiente fechado em que se encontra e, portanto é sempre cem vezes maior que o valor de  $a_w$  ( $a_w = ERH/100$ ).

Visto que as leveduras, bolores e bactérias exige uma certa quantidade de água disponível para favorecer o seu crescimento, a criação de um produto com uma atividade de água abaixo de 0,6 proporciona um controle eficaz (Decagon, 2006). Alguns organismos de deterioração comuns e os seus limites de atividade de água são listados na Tabela 1.

Tabela 1. Relação dos limites de atividade de água para o crescimento de organismos comuns de deterioração em alimentos.

<b>Grupo Microbiológico</b>	<b>Exemplo</b>	<b>a<sub>w</sub></b>	<b>Produtos afetados</b>
Bactérias normais	<i>Salmonella species</i> <i>Clostridium botulinum</i>	<b>0.91</b>	Carne fresca, leite
Leveduras normais	<i>Torulopsis species</i>	<b>0.88</b>	Suco de frutas concentrado
Bolores normais	<i>Aspergillus flavus</i>	<b>0.80</b>	Compotas, geléias
Bactérias halofílicas	<i>Wallemia sebi</i>	<b>0.75</b>	mel
Bolores xerofílicos	<i>Aspergillus echinulatas</i>	<b>0.65</b>	Farinha
Leveduras osmofílicas	<i>Saccharomyces bisporus</i>	<b>0.60</b>	Frutas secas

Fonte: Decagon, 2006.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho foram utilizadas 20 amostras de méis de abelhas sociais sem ferrão, sendo cinco amostras para cada espécie, produzidos pelas seguintes espécies: *M. quadrifasciata anthidioides*, *M. mandacaia*, *M. scutellaris* e *Scaptotrigona* sp. As amostras foram coletadas nos meses de maio de 2011 a janeiro de 2012 nas cidades de Canarana e Uibaí que fazem parte do Território de Irecê.

As amostras foram obtidas diretamente com meliponicultores do município de Canarana e Uibaí, e colhidas por meio de sucção com seringas descartável, sendo armazenadas em potes de plástico estéril de polietileno de aproximadamente 200 mL, de fechamento hermético e mantidas sob refrigeração de aproximadamente 5,0 °C, até a realização das análises – em triplicata – que foram conduzidas no Laboratório do Núcleo de Pesquisa Insecta do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

## **5.1. Análises físico-químicas**

### **5.1.1. Atividade de água ( $a_w$ )**

A avaliação da atividade de água ( $A_a$  ou  $A_w$  – activity water) foi feita com o aparelho AquaLab<sup>®</sup> da marca Decagon, modelo Pa<sub>w</sub>Kit, que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medir a atividade de água de um produto. Esta técnica é originária da medida de umidade relativa aprovada pelo AOAC (Associação de Químicos Analistas), 1990.

### **5.1.2. Umidade (%)**

A umidade das diferentes amostras de méis foi determinada por meio de um refratômetro manual ATAGO (luz natural, temperatura ambiente) específico para mel. Este aparelho foi adaptado a partir do refratômetro Abbe e possui um alto contraste no campo de visão (ATAGO Co., 1988).

## **5.2. Características microbiológicas**

### **5.2.1. Bolores e leveduras**

As amostras foram analisadas para contagem total de bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>) em ágar batata dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico a 10% até pH 3,5.

A partir de 25 g de mel foi realizada a primeira diluição em 225 mL de água peptonada. As preparações das diluições decimais subsequentes ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL do mesmo diluente. Em seguida foram inoculado 0,1 mL das diluições por plaqueamento em superfície usando BDA (batata dextrose ágar) em placa de Petri. Com o auxílio de uma alça de Drigalski, o inóculo

foi espalhado cuidadosamente por toda superfície dos meios, até sua completa absorção. A incubação foi realizada em B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25°C, por cinco dias (Figura 1), em seguida realizadas as contagens das colônias e os resultados expressos em UFC.g<sup>-1</sup> (Unidades Formadoras de Colônia por grama) (BAM/FDA, 1998).

### **5.2.2. Coliformes totais e termotolerantes**

A metodologia do Número Mais Provável foi utilizada para levantar a estimativa do número de coliformes totais e coliformes termotolerantes (45°C). Foi utilizado o teste de diluição única, inoculando-se seis alíquotas de 10 mL da amostra em seis tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração dupla. Em cada tubo foi introduzido um tubo de Durham invertido para confirmação da presença de gases. Em seguida os tubos de ensaio com as amostras foram incubados a 35°C por 48 horas.

Após o período de incubação, dos tubos positivos, que apresentarem formação de gás, as culturas foram repicadas com alça de platina para os tubos de caldo lactose bile verde brilhante (LBVB), incubados a 37°C/48 horas e EC incubados a 45°C em banho-maria, por 24 horas. Os tubos positivos nos caldos LBVB confirmam a presença de coliformes totais e no caldo EC coliformes termotolerantes (45°C). A estimativa do número de coliformes foi realizada com base em tabela do NMP (Silva et al. 2010).

### **5.2.3. Aeróbios mesófilos e psicrotróficos**

Para as análises de aeróbios mesófilos e psicrotróficos foram utilizados 25 g de amostra diluída em 225 mL de água peptonada a 0,1%. A partir dessa diluição foram realizadas as diluições de 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>. Alíquotas de 1 mL foram utilizadas para realizar o plaqueamento por profundidade em meio de cultura Águar Padrão para

Contagem (PCA) e incubadas a 35°C por 48 horas (aeróbios mesófilos) e 7°C por 10 dias (aeróbios psicotróficos) (Figura 2) (BAM/FDA, 1998).

Figura 1. Procedimentos adotados para a avaliação de bolores e leveduras em mel: (A, B e C) primeira diluição ( $10^{-1}$ ), segunda diluição ( $10^{-2}$ ) e terceira diluição ( $10^{-3}$ ), respectivamente; (D) flambagem da alça de Drigalski; (E) plaqueamento em superfície usando ágar batata dextrose em placa de Petri; e (F) incubação em B.O.D. a 25°C.

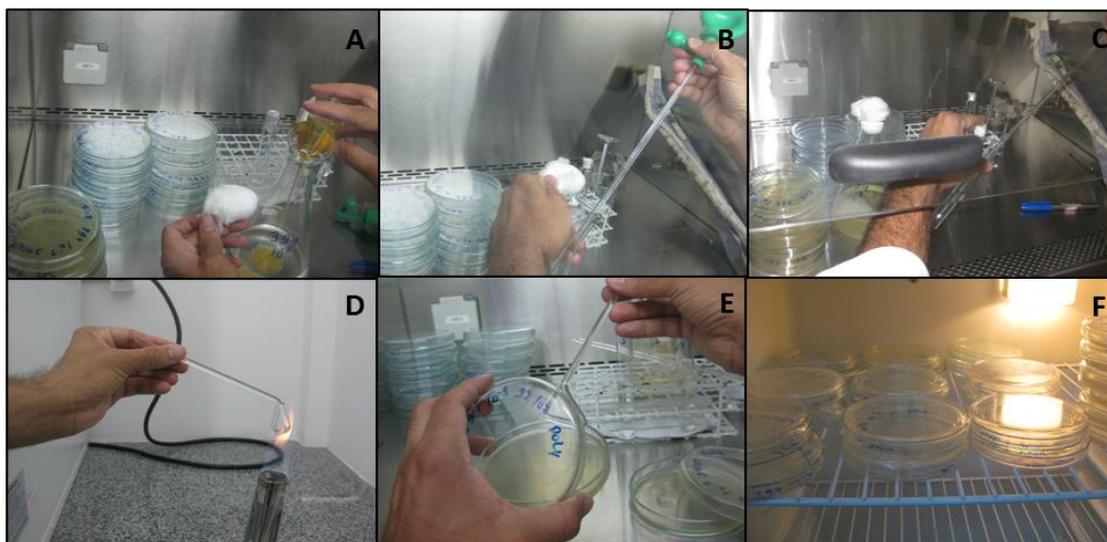
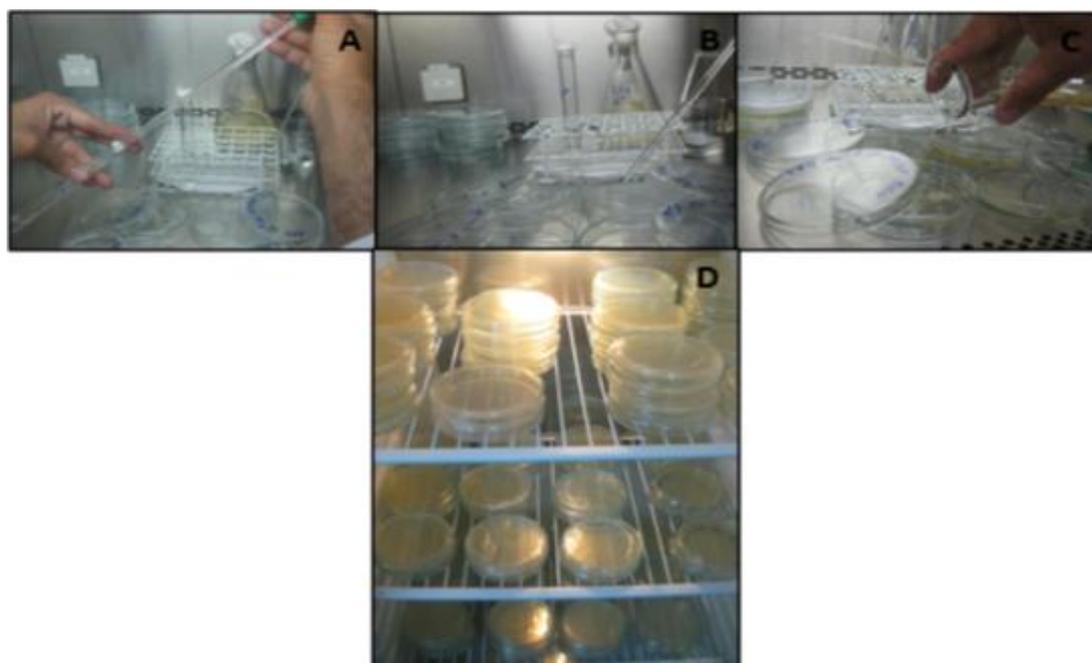


Figura 2. Procedimentos adotados para a avaliação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos em mel: (A e B) inóculo das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ; (C) plaqueamento por profundidade em meio de cultura Ágar Padrão; (D) incubação a 35°C por 48 horas (aeróbios mesófilos) e 7°C por 10 dias (aeróbios psicotróficos).



### 5.3. Análise dos dados

Os resultados da avaliação foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), ao Teste de Tukey a 5% de significância para comparação entre as médias e ao coeficiente de correlação de Pearson, utilizando o programa SAS (1990).

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Análises microbiológicas

Os resultados encontrados para as contagens padrão de bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>), microrganismo psicrófilos e mesófilos (UFC.g<sup>-1</sup>), número mais provável para coliformes totais e termotolerantes (NMP.g<sup>-1</sup>), umidade e atividade de água das amostras são apresentados na Tabela 2.

Para pesquisas de coliformes todas as amostras apresentaram resultado negativo, não necessitando realizar a prova para *Escherichia coli* (EC). A presença destes microrganismos indica contaminação externa durante a manipulação e processamento, comprometendo, assim, a qualidade final do produto (Silva et al. 2010).

Conforme a Tabela 2, em nenhuma das amostras de méis analisadas, verificou-se a presença de microrganismos do grupo coliformes, sendo considerado a contagem de coliformes menor que 3,0 NMP.g<sup>-1</sup>, o que indica boas práticas de manipulação do mel em relação à colheita, processamento e manipulação do produto. Esses valores corroboram com os valores encontrados por Souza et al. (2009a) para amostras de méis de trigoníneos (*Frieseomelitta* sp., *Nannotrigona* sp., *Partamona* sp., *Scaptotrigona* spp., *Tetragonisca* spp.), do estado da Bahia. Também estão de acordo com os resultados encontrados por Alves et al. (2011) para amostras de méis de espécies de *Melipona* (*M. subnitida*, *M. scutellaris* e *M. fasciculata*) do Nordeste Brasileiro. Entretanto Matos et al. (2011) avaliando amostras de méis de *Melipona* spp. obtiveram valores positivos em quatro amostras

(n=15) para o grupo dos coliformes, com valores variando de 23 a 1.100 NMP/mL, tanto para o grupo dos coliformes totais quanto para os coliformes termotolerantes.

Sereia et al. (2011), obtiveram valores <3 NMP/mL para o grupo dos coliformes em amostras de mel (n=33) de *Apis mellifera*, coletadas no alto Rio Paraná.

Avaliando a contagem padrão de bolores e leveduras (Tabela 2), foram encontrados valores máximo de  $2,3 \times 10^4$  e mínimo de  $2,0 \times 10^1$  UFC.g<sup>-1</sup>. Houve presença destes microrganismos em 65,0% dos méis avaliados. Para os méis de trigoníneos avaliados por Souza et al. (2009a), os valores máximo e mínimo foram de  $4,4 \times 10^3$  e  $<1,0 \times 10^1$  UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Valores inferiores foram encontrados por Alves et al. (2011) em amostras de méis de espécies de *Melipona* do Nordeste Brasileiro, apresentando resultado à  $<1,0 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>.

Garcia-Cruz et al. (1999) avaliando a qualidade microbiológica de vinte amostras de méis de *Apis* comercializados por feirantes da região de São José do Rio Preto – SP, obteve contagem de bolores e leveduras variando entre  $0,5 \times 10^1$  e  $2,8 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>.

Em amostras de mel de trigoníneos produzido por cinco espécies de abelhas sem ferrão no estado de São Paulo (*T. angustula*, *S. bipunctata*, *N. testaceicornis*, e *Tetragona clavipes*), Almeida-Anacleto (2007) verificou contagem de bolores e leveduras em 20 amostras, correspondendo a 64,5% do total analisado, com valores variando entre  $1,50 \times 10^2$  e  $1,58 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>.

O maior problema relacionado com a presença de bolores e leveduras é a fermentação, que resulta do consumo dos açúcares pelas leveduras, com produção de numerosos subprodutos que alteram o paladar e o aroma do mel. Os fungos são trazidos pelas abelhas para a colmeia, sendo o seu habitat normal os nectários das flores. Muitos deles não sobrevivem quando se eleva a concentração dos açúcares à medida que o néctar é transformado em mel, mas outros podem resistir e se multiplicar (Santos et al. 2010). A presença de leveduras osmofílicas quando em grandes quantidades podem levar o produto a fermentar, deixando-o impróprio para o consumo. Por outro lado, a origem dos fungos e leveduras no mel muitas vezes é de ocorrência natural. Muitos destes microrganismos naturalmente associados às

Tabela 2. Contagem padrão de bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>), número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP.g<sup>-1</sup>), bactérias psicotróficas e mesófilas (UFC.g<sup>-1</sup>), atividade de água (a<sub>w</sub>) e umidade (%) determinados em amostras de méis de diferentes espécies de abelhas sociais sem ferrão de municípios do Território de Irecê – Ba.

Amostra	Município	Espécie	Coliformes Totais (NMP.g <sup>-1</sup> )	Coliformes Termotolerantes (NMP.g <sup>-1</sup> )	Bolores e Leveduras (UFC.g <sup>-1</sup> )	Psicotróficos (UFC.g <sup>-1</sup> )	Mesófilos (UFC.g <sup>-1</sup> )	Atividade de água (a <sub>w</sub> )	Umidade (%)
01	Uibaí	<i>M. mandacaia</i>	<3	<3	3,0 x 10 <sup>2</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	0,86	>30
02	Uibaí	<i>M. mandacaia</i>	<3	<3	2,5 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,9 x 10 <sup>2</sup>	0,84	>30
03	Uibaí	<i>M. mandacaia</i>	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	0,84	>30
04	Uibaí	<i>M. mandacaia</i>	<3	<3	2,3 x 10 <sup>4</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	2,9 x 10 <sup>4</sup>	0,77	>30
05	Uibaí	<i>M. mandacaia</i>	<3	<3	2,2 x 10 <sup>4</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,1 x 10 <sup>4</sup>	0,77	28,9
06	Uibaí	<i>M. scutellaris</i>	<3	<3	4,5 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	0,81	28,7
07	Uibaí	<i>M. scutellaris</i>	<3	<3	7,0 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	3,5 x 10 <sup>2</sup>	0,79	28,7
08	Uibaí	<i>M. scutellaris</i>	<3	<3	2,0 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,6 x 10 <sup>2</sup>	0,78	28,5
09	Uibaí	<i>M. scutellaris</i>	<3	<3	2,3 x 10 <sup>4</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	3,6 x 10 <sup>2</sup>	0,77	28,5
10	Uibaí	<i>M. scutellaris</i>	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	0,77	29,6
11	Canarana	<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	<3	<3	2,8 x 10 <sup>2</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	3,8 x 10 <sup>2</sup>	0,83	>30
12	Canarana	<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	<3	<3	1,1 x 10 <sup>3</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,7 x 10 <sup>3</sup>	0,79	>30
13	Canarana	<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	<3	<3	7,7 x 10 <sup>2</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	2,2 x 10 <sup>2</sup>	0,80	>30
14	Canarana	<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	0,81	28,4
15	Canarana	<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	<3	<3	8,5 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,2 x 10 <sup>2</sup>	0,79	28,8
16	Uibaí	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,8 x 10 <sup>2</sup>	0,79	25,7
17	Uibaí	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,9 x 10 <sup>2</sup>	0,75	25,9
18	Uibaí	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,9 x 10 <sup>2</sup>	0,72	25,0
19	Uibaí	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<3	<3	<10 x 10 <sup>1</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	2,8 x 10 <sup>2</sup>	0,78	28,7
20	Uibaí	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<3	<3	3,6 x 10 <sup>2</sup>	<10 x 10 <sup>1</sup>	1,6 x 10 <sup>2</sup>	0,75	27,2

NMP = Número Mais Provável; UFC = Unidade Formadora de colônia

abelhas representam uma microflora não patogênica (Gilliam, 1997), sendo muitos ainda desconhecidos.

Nas amostras avaliadas não foi constatado a presença de aeróbios psicrotróficos, entretanto, foi verificada em dezessete das vinte amostras avaliadas a presença de aeróbios mesófilos, com valores variando de  $1,2 \times 10^2$  a  $2,9 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>, o que corresponde a 85% das amostras. Valores inferiores foram constatados por Garcia-Cruz et al. (1999) para méis comercializados por feirantes da região de São José do Rio Preto – SP, com contagens de bactérias aeróbias mesófilas variando de  $0,5 \times 10^1$  a  $2,2 \times 10^3$  UFC/g<sup>-1</sup>.

Iurlina e Fritz (2005) avaliando 70 amostras de méis poliflorais não-pasteurizados de *Apis* da Argentina, sendo 23 méis comerciais de supermercados locais (33%), 37 méis colhidos diretamente de apiários (53%) e 10 méis comprados em grandes quantidades para uso industrial (14%), verificou a presença de aeróbios mesófilos em todas as amostras, com valores que variaram entre 30-1200 UFC/g e 60-1100 UFC/g, para méis comerciais e de apiários, respectivamente.

Em outro trabalho Carvalho (2011) avaliou 205 amostras de méis produzidas por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*), adquiridas em estabelecimentos da região metropolitana do Rio de Janeiro, sendo estas distribuídas em 173 amostras de municípios do estado do Rio de Janeiro e 32 amostras de municípios de outros Estados. Pode-se observar uma média para o estado do Rio de Janeiro de  $20,355 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> e para os demais Estados a média foi de  $3,385 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>.

A presença de microrganismos aeróbios mesófilos tem relação direta com as condições gerais da coleta, temperatura e armazenamento do mel e é completamente indesejável nos alimentos, pois provocam deterioração, gerando características organolépticas indesejáveis e reduzindo a vida útil do produto (Franco e Lanfgraf, 2005). A contagem desses microrganismos se justifica pela grande maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar fazerem parte deste grupo.

De acordo a legislação nacional, a Resolução de Decisão Colegiada 012 (RDC 012), de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano direto, não considera critérios de qualidade microbiológica para o mel em seus anexos.

Os valores elevados de coeficiente de variação para bolores e levedura (232,08%) e microrganismos aeróbios mesófilos (281,21%) apresentados na Tabela 3, podem ser considerados normais, visto que, alguns méis não apresentaram crescimento microbiológico. Entretanto, outros méis apresentaram elevado grau de contaminação, na ordem de  $2,3 \times 10^4$  para bolores e leveduras e  $2,9 \times 10^4$  para aeróbios mesófilos.

Tabela 3. Médias, desvio padrão e coeficiente de variação de características físico-químicas e microbiológicas de amostras de méis de espécies de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba.

<b>Características</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>CV (%)</b>
<b>Bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>)</b>	0,00	23000,00	3552,75	8245,18	232,08
<b>Mesófilos (UFC.g<sup>-1</sup>)</b>	0,00	29000,00	2389,00	6718,09	281,21
<b>a<sub>w</sub></b>	0,72	0,86	0,79	0,03	4,33
<b>Umidade (%)</b>	25,00	30,00	28,63	1,55	5,41

atividade de água (a<sub>w</sub>), coeficiente de variação (CV)

A ausência de contaminantes característicos dos alimentos, tais como os coliformes totais e termotolerantes e de microrganismos aeróbios psicrotróficos, provavelmente é decorrência do fato do produto ser considerado antibacteriano. Segundo Silva et al. (2008), o mel é considerado um produto estável no sentido que não se deteriora pelas bactérias e fungos normalmente responsáveis pela deterioração dos alimentos. A atividade antibacteriana dos méis se deve a diversos fatores: alta concentração de açúcares e baixa porcentagem de água (efeito osmótico), acidez (pH relativamente baixo), presença de peróxido de hidrogênio em certos níveis e fatores antibacterianos diversos (Nogueira-Neto, 1997).

## 6.2. Análises físico-químicas

A umidade (%) para as 20 amostras de méis analisadas apresentou média de  $28,63 \pm 1,5\%$  (Tabela 2), o que demonstra que 100% das amostras estão acima dos limites especificados nas legislações nacional e internacional para o mel de *Apis*, que geralmente varia de 15 a 20%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação (Almeida-Anacleto, 2007). Estes elevados valores para umidade podem ser considerados como regra para mel de meliponíneos, influenciando outras características como viscosidade, fluidez e conservação. A quantidade de água nos méis de meliponíneos é considerada o grande diferencial deste produto em relação ao mel das abelhas *Apis mellifera*. Desta forma é proposto que até 35% de água seja permitido para o comércio de mel das abelhas sociais sem ferrão no Brasil (Villas-Bôas e Malaspina, 2005).

Esta umidade elevada já foi constatada em diversos trabalhos como os de Souza et al. (2009a), (*Frieseomelitta* sp., *Nannotrigona* sp., *Partamona* sp., *Scaptotrigona* spp. e *Tetragonisca* spp.); Souza et al. (2009b), (*M. scutellaris*, *M. quadrifasciata anthidioides*, *M. asilvai* e *M. mandacaia*); Alves et al. (2011), (*M. subnitida*, *M. scutellaris* e *M. fasciculata*); Souza et al (2004), (*M. seminigra merrillae*, *M. compressipes manaosensis* e *M. rufiventris paraenses*); Alves et al. (2005b), (*M. mandacaia* Smith) e Campos et al. (2010), (*M. scutellaris*). Os valores de umidade dos trabalhos citados variaram desde 21% a 42%, para diferentes espécies de abelhas sociais sem ferrão. Entretanto Silva et al. (2009) encontrou média de 19,60% de umidade para o mel de *Frieseomelitta varia*, o qual está de acordo com as normas do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000), estabelecidas para o mel de *Apis*.

Os valores encontrados para atividade de água variaram de 0,72 a 0,86<sub>a<sub>w</sub></sub> com uma média de  $0,79 \pm 0,03a_w$ , sendo o menor valor registrado para mel de *Scaptotrigona* sp. e o maior para o de *M. mandacaia*, esses valores não asseguram a estabilidade do produto, pois, segundo Mendes et al. (2006) valores críticos de atividade de água (valores acima de 0,61) contribuem para o desenvolvimento de leveduras osmotolerantes, as quais poderiam conduzir o mel à fermentação, prejudicando sua vida de prateleira. Entretanto, estes valores são desfavoráveis ao desenvolvimento de microrganismos patógenos. De acordo com Bobbio e Bobbio

(2001), estes microrganismos necessitam de uma atividade de água superior a  $0,91a_w$  para seu desenvolvimento.

Valores próximos foram encontrados por Souza et al. (2009b), para méis de espécies do gênero *Melipona*, onde obteve-se uma variação de  $0,662$  e  $0,851a_w$ . Contudo, a amplitude encontrada neste trabalho é expressivamente maior à apresentada por Souza et al. (2009a), em méis de trigoníneos, cuja variação foi de  $0,598$  a  $0,729a_w$ , assim como para méis de meliponíneos (*M. capixaba*, *M. rufiventris* e *M. mondury*), constatadas por Lage et al. (2012), com valores que variaram de  $0,59$  a  $0,79a_w$ .

Os valores para atividade de água obtidos por Almeida-Anacleto (2007), nas 31 amostras de méis analisadas de cinco espécies de meliponíneos (*T. angustula*, *S. bipunctata*, *N. testaceicornis*, *F. varia* e *T. clavipes*), apresentaram variação de  $0,58$  a  $0,82a_w$  (média de  $0,67a_w$ ). A atividade de água é um parâmetro de recente abordagem no mel, não constando na legislação atual e também sem sugestões de limites para amostras de méis de abelhas sociais sem ferrão do Brasil.

Aplicando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação entre médias (Tabela 4), para bolores e leveduras e aeróbios mesófilos constatou-se que não houve, estatisticamente, diferenças significativas entre os méis das diferentes espécies de abelhas sociais sem ferrão estudadas.

Tabela 4. Comparação de médias pelo teste de Tukey entre bolores e leveduras, mesófilos, umidade e atividade de água ( $a_w$ ) para os méis de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba.

<b>Espécies<sup>(2)</sup></b>	<b>Bolores e leveduras (UFC.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Mesófilos (UFC.g<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>Umidade (%)</b>
<b>MM</b>	9065,00 a	8038,00 a	0,82 a	29,78 a
<b>MQA</b>	447,00 a	484,00 a	0,80 ab	29,44 a
<b>MS</b>	4627,00 a	834,00 a	0,78 ab	28,80 a
<b>SCP</b>	72,00 a	200,00 a	0,76 b	26,50 b

<sup>(1)</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

<sup>(3)</sup>*Melipona mandacaia* (MM), *Melipona quadrifasciata anthidioides* (MQA), *Melipona scutellaris* (MS), *Scaptotrigona* sp. (SCP).

Ainda de acordo a Tabela 4, é possível observar diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre os méis analisados para atividade de água, sendo que *Melipona mandacaia* e *Scaptotrigona* sp. apresentaram diferenças entre si, mas não divergente das demais espécies. Para umidade a *Scaptotrigona* sp. divergiu das demais espécies analisadas. Isso demonstra a influência das características específicas de cada espécie de abelha sociais sem ferrão na produção de mel, tendo em vista que os méis estudados foram produzidos e colhidos sob as mesmas condições de local, época e armazenamento. Verifica-se ainda que *M. mandacaia* apresentou maior média de atividade de água, o que pode estar associado ao alto nível de contaminação por bolores e leveduras (média = 9065,00) e aeróbios mesófilos (média = 8038,00).

Explorando as relações mútuas significativas entre as variáveis analisadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson (Tabela 5), é possível verificar que a atividade de água e umidade apresentam relação positiva. O conteúdo de umidade pode ser utilizado como fator indicativo de propensão à deterioração ou contaminação do alimento. Entretanto, tem sido observado que diferentes alimentos com o mesmo conteúdo de umidade podem apresentar diferenças na estabilidade. Assim, o valor da umidade é insuficiente para indicar a perecibilidade do produto, que não leva em conta a interação da água com outros componentes do alimento (Welti e Vergara, 1997).

Tabela 5. Coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros físico-químicos e microbiológicos analisados: bolores e leveduras, mesófilos, atividade de água ( $a_w$ ) e umidade de méis de abelhas sociais sem ferrão do Território de Irecê – Ba.

	Mesófilos	$a_w$	Umidade
<b>Bolores e leveduras</b>	0,71**	-0,25 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>
<b>Mesófilos</b>		-0,20 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>
<b><math>a_w</math></b>			0,66**

\*\* significativo a 1% de significância pelo teste de t. <sup>ns</sup> não-significativo a 5% de significância.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, o coeficiente de correlação de Pearson para as variáveis bolores e levedura e mesófilos apresentaram correlação positiva, indicando possível contaminação primária e/ou secundária das amostras. Após ter sido contaminado, o mel serve como meio para o crescimento de microrganismos, podendo até mesmo ter suas características físicas, químicas e sensoriais alteradas e, por fim, deteriorar-se (Pelczar et al. 1997).

Apesar da conhecida influência da quantidade de água sobre o crescimento de microrganismos, a umidade e a atividade de água das amostras de mel não explicaram a contagem de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos encontrada (Tabela 5). Este resultado pode estar relacionado ao fato da quantificação destes microrganismos no mel representarem dados pontuais sobre esta quantidade e não o seu crescimento neste meio. Silva et al. (2004) destaca que esta contaminação também, pode estar associada à veiculação de microrganismos pelas próprias abelhas, ao seu beneficiamento ou à manipulação inadequada, além de más condições de armazenamento e acondicionamento. Resultados semelhantes foram constatados por Souza et al. (2009a), avaliando a influencia da  $a_w$  e umidade sobre o crescimento microbiológico em méis de trigoníneos.

## **7. CONCLUSÃO**

Os méis de abelhas sociais sem ferrão apresentou um alto teor de umidade, apresentando-se fora dos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Considerando que o conteúdo de água presente no alimento representa o principal fator intrínseco relacionado com a estabilidade do produto, o mel das abelhas sociais sem ferrão requer cuidados importantes de boas práticas de higiene e programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) durante as etapas de produção, manipulação e armazenamento. O não uso destas práticas pode tornar o mel como veículo de microrganismos, inclusive patogênicos e, conseqüentemente, proporcionar prejuízos à saúde de seus consumidores.

## 8. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-ANACLETO, D. de. **Recursos alimentares, desenvolvimento das colônias e características físico-químicas, microbiológicas e polínicas de mel e cargas de pólen de meliponíneos, do município de Piracicaba**, Estado de São Paulo. Piracicaba, 2007. 133 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- ALVES, R. M. de O. et al. **Custo de produção de mel: uma proposta para abelhas africanizadas e meliponíneos**. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI. 2005a. 14p. (Série Meliponicultura - 02).
- ALVES, R. M. O. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaiá* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25 n.4, p.644-650, out./dez. 2005b.
- ALVES, T. T. L. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do Nordeste Brasileiro. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.6, n.3, p.91-97 jul./set. 2011.
- APARNA, A. R.; RAJALAKSHMI, D. Honey: its characteristics, sensory aspects, and applications. **Food Reviews International**, v.15, n.4, p.455-471, 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL COUNCIL (A.O.A.C.) **Official methods of Analysis**. 15 th. Supl 2. Ed. 1990.
- ATAGO Co. Refratômetro para mel. **Abelhas**, v. 31, n. 362/363, p.9, 11-12, 41,44, 1988.
- AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; BESER, L. B. de O. Características físico-químicas de amostras de méis de meliponas coletadas no estado de Tocantins. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, 2000. **Anais...** Florianópolis: Confederação Brasileira de Apicultura, 2000. 1 CD-ROM.
- BAM/FDA. Bacteriological Analytical Manual/Food and Drug Administration. 8th, Arlington: **Association of Official Analytical Chemists**. 1998.
- BASTOS, D. H. M. et al. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v.22, n.2, p.122-129, mai./ago. 2002.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento dos alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2001. 144 p.
- BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidologie**, Versailles. v.37, n.1, p.1-18, jan./fev. 2006.
- BRASEQ. BOLETIM TÉCNICO INFORMATIVO BRASEQ: Entendendo a atividade de água (Aa) e sua importância para a qualidade de alimentos e outros produtos em geral. **BrasEq** – Brasileira de Equipamentos Ltda. 2011. Disponível em: <<http://www.bra-seq.com.br/site/pdf/decagon.pdf>> Acesso em: 15 de junho de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.** Diário Oficial, Brasília, 20 de outubro de 2000, Seção 001, p.16-17.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 06, de 25 de julho de 1985.** Aprova as normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para mel, cera de abelhas e derivados. Brasília, DF: MAPA, 1985. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDR&tipo=POR&numeroAto=00000006&seqAto=000&valorAno=1985&orgao=SIPA/MAPA&codTipo=&desItem=&seqNota=>> Acesso em 10 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)> Acesso em: 15 ago. de 2012.

CAMPOS, F. S.; GOIS, G. C.; CARNEIRO, G. G. Parâmetros físico-químicos do mel de abelhas *Melipona scutellaris* produzido no estado da Paraíba. **FAZU em Revista**, Uberaba, n.7, p.186-190, 2010.

CARVALHO, B. O. **Monitoramento de bactérias de importância para a saúde pública em méis produzidos e comercializados no Estado do Rio de Janeiro e investigação dos pontos críticos da produção apícola.** 2011. 52p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

CATALAN, J. M. B. **Relatório de atividades.** Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Piauí. Teresina, 1981. 27p.

CODEX ALIMENTARIUS. **Revised codex standard for honey codex stan 12-1981**, Rev.2 [2001].24<sup>th</sup> session of the Codex Alimentarius in 2001. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/download/standards/310/CX12.pdf>. Acesso em 19 de ago. de 2012.

CORREIA-OLIVEIRA, M. E. et al. Atividade de água (Aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do estado de Sergipe. **Revista da Fapese**, Aracaju. v.4, n.2, p.27-36, jul./dez. 2008.

DECAGON. **Fundamentals Of Water Activity.** Washington: Decagon Devices, 2006. Disponível em: <<http://www.aqualab.com/assets/Newsletters/Fundamentals-of-Water-Activity.pdf>> Acesso em 11 de ago. de 2012.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, London, v.100, n.4, p.1649-1653, jan. 2007.

FONTANA Jr., A. J. Understanding the importance of water activity in food. **Cereal Foods World**, v.45, p.7-10, 2000.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Ed. Atheneu, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Ed. Atheneu, 2005.182p.

- GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**. 2004. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- GARCIA-CRUZ, C. H. et al. Determinação da qualidade do mel. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.10, p.23-35, 1999.
- GILLIAM, M. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. **FEMS Microbiology Letter**, Amsterdam. v.155, n.1, p.1-10, out. 1997.
- IURLINA, M. O.; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentina honeys from different sources. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam. v.105, p.297-304, mar. 2005.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte – MG: Acangaú, 1996. 144 p., (Coleção Manejo da vida silvestre; 2).
- KOMATSU, S. S., MARCHINI, L. C., MORETI, A. C. de C. C. Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) no estado de São Paulo. 2. Conteúdo de açúcares e de proteína. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.2, p.143-146, mai./ago. 2002.
- LAGE, L. G. A. et al. Honey physicochemical properties of three species of the brazilian *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro. v.84, n.3, p.605-608, abr. 2012.
- MATOS, I. T. S. R. et al. Qualidade microbiológica do mel de *Melipona* sp. produzido na Amazônia Central (Parintins – AM – Brasil). **Revista Verde**, Mossoró – RN. v.6, n.4, p.91–95 out./dez. de 2011.
- MATOS, J. E. S.; HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E. Lecithinase reaction of *Staphylococcus aureus* strains of different origin on baird parker medium. **Letters in Applied Microbiology**, v.21, p.334-335. nov. 1995.
- MAZIERO, M. T.; VIANA, C; BERSOT, L. S. Microrganismos psicrotóxicos lipolíticos em produtos lácteos durante o prazo comercial. **Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, MG: Epamig, v.65, n.372, p.10-17, jan./fev. 2010.
- MELO, Z. F. N. et al. Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.5, n.1, p.89-99, 2003.
- MENDES, J. C.; CANO, C. B.; FELSNER, M. L. Avaliação da qualidade de méis produzidos no Pantanal pela atividade de água e umidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16. CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 2., Aracaju. **Anais...** Aracaju: 2006. 1 CD-ROM.
- MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World**, v.73, p.5-28, 1992.

MOLAN, P. C. Why honey is effective as a medicine. I. Its use in modern medicine. **Bee World**, v.80, n.2, p.80-92, 1999.

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, 2002, p.77.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas sem ferrão**. Editora Nogueirapis. 446p. 1997.

PELCZAR, M. J. Jr.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. v.1 e 2. São Paulo: Makron Books, 1997.

PRONI, E. A. Biodiversidade de abelhas indígenas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae) na Bacia do Rio Tibagi, estado do Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.3 n.2, p.145-150, ago./dez. 2000.

RAGAZANI, A. V. F.; et al. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados Brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria. v.38, n.2, mar./abr. 2008.

SAKAGAMI, S. F. Stingless bees. In: HERMANN, H. R. **Social insects**. New York, Academic Press, p.361-423, 1982.

SANTOS, D. C.; MARTINS, J. N.; SILVA, K. F. N. L. Aspecto Físico-químicos e microbiológico do mel comercializado no município de Tabuleiro do Norte-Ceará. **Revista Verde**, Mossoró - RN. v.5, n.1, p.79-85, jan./mar. 2010.

SCOTT, W. J. Water relation of food spoilage microorganisms. **Advances in Food Research**, San Diego. v.7, p.83-127, 1957.

SEREIA, M. J. et al. Microbial flora in organic honey samples of Africanized honeybees from Parana River islands. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.2, p.462-466, abr./jun. 2011.

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

SILVA, E. V. C. et al. Avaliação microbiológica e sensorial de méis de abelhas *Apis mellifera* (africanizadas) e *Melipona fasciculata* (uruçu cinzenta) *in natura* e pasteurizado. **Higiene Alimentar**, São Paulo. v.22, n.162, p.83-87, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 296p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, São Paulo: Livraria varela, 2010, 295p.

SILVA, R. A. et al. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.4, n.4, p.70-75 out./dez. de 2009.

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

SOUZA, B. A. et al. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do estado da Bahia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29 n.4, p.798-802, out./dez, 2009a.

SOUZA, B. A. et al. Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona illiger*, 1806 (Apidae: Meliponini) da região nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, São Paulo. v.32, n.2, p.303-308, fev. 2009b.

SOUZA, B. de A. Caracterização dos méis de meliponíneos no Brasil: situação atual e perspectivas. In: CONGRESSO IBEROLATINOAMERICANO DE APICULTURA, 10. Natal, 2010. **Anais...** Natal: FILAPI: CBA: SEBRAE: FARN, 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25372/1/BRUNO-SOUZA.pdf>> Acesso em: 15 de ago. de 2012.

SOUZA, R. C. S. et al. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. **Acta Amazônica**, v.34, n.2, p.333-336, abr./jun. 2004.

STATISTICAL ANALISYS SISTEM. SAS/STAT: User's guide. [S. l.]: SAS Institute Inc., 1990. (Version 6.4).

TEIXEIRA NETO, R. O.; DENIZO, N.; QUAST, D. G. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. v.7, p.191-206, 1976.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V. de. **Mel**: características, análises físico-químicas, adulterações e transformações. Barretos: Instituto Tecnológico Científico "Roberto Rios", 1984. 95p.

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

WELTI, J.; VERGARA, F. Atividade de água / Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: AGUILERA, J. M. **Temas en Tecnología de Alimentos**. Santiago – Chile, v.1, p.11-26, 1997.

WHITE, J. W. Jr. Honey. In: GRAHAN, J.M. **The hive and the honey bee**. Illinois: Dadant & Sons, Cap.21, p.871-925, 1993.

WIESE, H. **Nova apicultura**. Porto Alegre: 7 ed. Agropecuária, 1986.