

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA PPG-BIONORTE

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS MÉIS DE *MELIPONA FASCICULATA*
SMITH COLETADOS NA REGIÃO DA AMAZÔNIA MARANHENSE

MARCOS MOURA SILVA

SÃO LUÍS
2021

MARCOS MOURA SILVA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS MÉIS DE *MELIPONA FASCICULATA*
SMITH COLETADOS NA REGIÃO DA AMAZÔNIA MARANHENSE**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia, área de concentração Biotecnologia.

Orientadora: Professora Dra. Sirlane Aparecida Abreu Santana.

SÃO LUÍS

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Silva, Marcos Moura.

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS MÉIS DE MELIPONA
FASCICULATA SMITH COLETADOS NA REGIÃO DA AMAZÔNIA
MARANHENSE / Marcos Moura Silva. - 2021.

84 f.

Orientador(a): Sirlane Aparecida Abreu Santana.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2021.

1. Atividade antioxidante. 2. Mel. 3. Tiúba. I.
Santana, Sirlane Aparecida Abreu. II. Título.

MARCOS MOURA SILVA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS MÉIS DE *MELIPONA FASCICULATA*
SMITH COLETADOS NA REGIÃO DA AMAZÔNIA MARANHENSE**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia, área de concentração Biotecnologia.

Orientadora: Professora Dra. Sirlane Aparecida Abreu Santana.

Professora Dra. Sirlane Aparecida Abreu Santana (UFMA)
Presidente da Banca

1º Membro da Banca

2ºMembro da Banca

3ºMembro da Banca

4ºMembro da Banca

À Luciana, minha esposa amada e aos
meus filhos Tito, Beatriz e Sarah.

AGRADECIMENTOS

A Deus, criador de todas as coisas por meio do poder de sua palavra, o qual vive eternamente desde a eternidade passada até a futura e sustenta todas as coisas com suas mãos. O maior de todos os cientistas, que cria o mundo e a natureza com detalhes que nos mostram que há um arquiteto por trás de tamanha beleza e complexidade e só nos resta investigá-las e cair de joelhos aos pés daquele cujos pensamentos são maiores que os nossos.

A minha esposa, Luciana Silva de Sousa Moura, por todo cuidado carinho e abnegação, fundamentais para a realização deste projeto. Ela que traz beleza, vida e cores a todos os meus dias. Pessoa com a qual sou um. “Te amo.”

A professora Sirlane Santana pela atenção, paciência, cuidado e orientação durante esses dias de lutas e desafios. A quem admiro tanto como profissional, desde a época de minha graduação, quanto pelo senso de humanidade presente em seu coração, o que a torna mais admirável.

Aos meus pais, Osvaldo e Jaciara por todo estímulo e esforço aos estudos. À minha sogra, Venusia Sousa, por todo sacrifício feito até aqui.

Meus agradecimentos à professora Ivone Garros pelo carinho com o qual me recebeu em seu grupo de pesquisa, conselhos duros, porém necessários, ao entendimento de minha responsabilidade como aluno de pós-graduação e principalmente, ser humano.

Ao amigo, professor Saulo Ribeiro dos Santos, pelo apoio e auxílio no desenvolvimento deste trabalho, desde que tomou conhecimento do seu desenvolvimento. Excelente profissional e a pessoa mais produtiva com quem tive a oportunidade de trabalhar nesta universidade, meu muito obrigado.

A Universidade Federal do Maranhão, lugar onde desenvolvi grande parte do projeto e que foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional. Instituição a qual sou grato por toda transformação promovida em minha vida e carreira profissional, a qual tenho o prazer de fazer parte do quadro de servidores.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia- Rede BIONORTE, pelo suporte e oportunidade de realizar o sonho do doutorado, programa fundamental ao desenvolvimento regional, preservação e conservação da Amazônia.

RESUMO

O consumo de alimentos naturais é uma tendência global. Um desses produtos naturais é o mel de abelha. Este é um produto alimentício complexo composto por uma solução concentrada de açúcares, com predominância de glicose e frutose. A meliponicultura é a atividade de cultivo do mel das abelhas do gênero *Melipona*, ou abelhas sem ferrão. A abelha da espécie *Melipona fasciculata* Smith, popularmente conhecida como “Tiúba”, é considerada uma espécie nativa da região da Baixada Maranhense. Neste sentido, conhecer as possibilidades de aplicação do mel de Tiúba é fundamental para o fortalecimento da cadeia produtiva e o desenvolvimento de novos produtos a partir do mel de abelhas nativas do Maranhão. Assim, o objetivo deste trabalho é Analisar a capacidade antioxidante dos méis de *Melipona fasciculata* Smith e correlacionar com parâmetros físico-químicos em amostras coletadas em diferentes localidades da Baixada Maranhense. Quatorze amostras foram coletadas em diferentes municípios do Estado do Maranhão e avaliados quanto aos parâmetros: umidade (22,13% a 26,89%), pH (3,38 a 4,61), acidez (23,87mEq/kg e 33,03mEq/kg), hidroximetilfurfural (HMF) (25,75 mEq/kg a 80,41 mEq/kg), teor de cinzas (18 a 41%), açúcares redutores (57,99 a 67,49%) e atividade antioxidante (15,99% a 69,32%). Estudos estatísticos apontaram que a forte correlação positiva entre teores de cinzas e inibição de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), indica que os teores de minerais presentes nos méis de Tiúba da região da Baixada Maranhense exercem influência sobre a capacidade antioxidante de tal produto natural.

Palavras-chave: Mel; Tiúba; *Melipona*; Abelha; atividade antioxidante; Maranhão.

ABSTRACT

The consumption of natural foods is a global trend. One of these natural products is bee honey. This is a complex food product composed of a concentrated sugar solution, with a predominance of glucose and fructose. Meliponiculture is an activity for cultivating honey from bees of the genus *Melipona*, or stingless bees. The bee of the species *Melipona fasciculata* Smith, popularly known as “Tiúba”, is considered a species native to the Baixada Maranhense. In this sense, knowing how to apply Tiúba honey is essential for strengthening the production chain and the development of new products based on honey from bees native to Maranhão. The objective of this work is to analyze the antioxidant capacity of *Melipona fasciculata* Smith honeys and correlate with physical-chemical parameters in samples collected in different locations in the Baixada Maranhense. Fourteen samples were collected in different municipalities in the State of Maranhão and evaluated for parameters: humidity (22.13% to 26.89%), pH (3.38 to 4.61), acidity (23.87mEq / kg to 33.03mEq / kg), Hydroxymethylfurfural (HMF) (25.75 mEq / kg to 80.41 mEq / kg), ash content (18 to 41%), reducing sugars (57.99 to 67.49%) and antioxidant activity (15.99% to 69.32%). Statistical studies pointed out that the strong positive correlation between ash contents and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) inhibition, indicates that the mineral contents present in the Tiúba honeys in the Baixada Maranhense region have an influence on the antioxidant capacity of such a natural product.

Keywords: honey; Tiúba; *Melipona*; Bee; antioxidant activity; Maranhão.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Gráfico 1. Teores de umidade nas amostras dos méis (%)..... | 31 |
| Gráfico 2. Teores de açúcares redutores das amostras (%)..... | 33 |
| Gráfico 3. Teor de Hidroximetilfurfural no mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 34 |
| Gráfico 4. pH das amostras de mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 36 |
| Gráfico 5. Teor de acidez total nas as amostras de <i>Melipona fasciculata</i> | 37 |
| Gráfico 6. Curva de calibração para o DPPH..... | 38 |
| Gráfico 7. Inibição do radical DPPH pelo mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 39 |
| Gráfico 8: Teores de cinzas no mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 40 |
| Gráfico 9. Comparação entre os teores de umidade no mel de <i>Melipona fasciculata</i> e o valor de referência..... | 43 |
| Gráfico 10. Comparação entre os teores de açúcares redutores no mel de <i>Melipona fasciculata</i> e o valor de referência..... | 44 |
| Gráfico 11. Comparação entre os teores de acidez total no mel de <i>Melipona fasciculata</i> e o valor de referência..... | 44 |
| Gráfico 12. Comparação entre os teores de hidroximetilfurfural no mel de <i>Melipona fasciculata</i> e o valor de referência..... | 45 |
| Gráfico 13. Comparação entre os teores de cinzas no mel de <i>Melipona fasciculata</i> e o valor de referência..... | 45 |
| Gráfico 14. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de umidade das análises do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 49 |
| Gráfico 15. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de açúcares redutores do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 50 |
| Gráfico 16. Análise de Cochran para as variâncias dos níveis de acidez do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 50 |
| Gráfico 17. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de HMF do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 51 |
| Gráfico 18. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de Cinzas do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 52 |
| Gráfico 19. Segundo passo de teste de Grubbs aplicado aos dois valores mínimos (a) e máximos (b) do conjunto de dados..... | 56 |
| Gráfico 20. Correlação linear entre os teores de cinzas e a capacidade de inibição do íon DPPH..... | 59 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Localidades onde foram coletadas as amostras de mel de <i>Melipona fasciculata</i> Smith..... | 30 |
| Tabela 2. Análise estatística das médias e desvios do mel de Tiúba..... | 42 |
| Tabela 3. Teste de Cochran para os teores de umidade nos méis de <i>Melipona fasciculata</i> da Baixada Maranhense..... | 47 |
| Tabela 4. Teste de Cochran para os teores de açúcares redutores nos méis de <i>Melipona fasciculata</i> da Baixada Maranhense..... | 47 |
| Tabela 5. Teste de Cochran para os teores de acidez total nos méis de <i>Melipona fasciculata</i> da Baixada Maranhense..... | 48 |
| Tabela 6. Teste de Cochran para os teores de HMF nos méis de <i>Melipona fasciculata</i> da Baixada Maranhense..... | 48 |
| Tabela 7. Teste de Cochran para os teores de cinzas nos méis de <i>Melipona fasciculata</i> da Baixada Maranhense..... | 49 |
| Tabela 8. Análise de Grubbs para os teores de Cinzas do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 53 |
| Tabela 9. Análise de Grubbs para os teores de Açúcares Redutores do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 53 |
| Tabela 10. Análise de Grubbs para Acidez Total do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 54 |
| Tabela 11. Análise de Grubbs para os teores de Hidroxmeilfurfural do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 55 |
| Tabela 12. Análise de Grubbs para Teores de Cinzas do mel de <i>Melipona fasciculata</i> | 55 |
| Tabela 13. ANOVA análises mel de <i>Melipona fasciculata</i> de diferentes produtores do Maranhão..... | 57 |
| Tabela 14. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis, umidade, açúcares redutores, pH, acidez total, teores de HMF, inibição de DPPH e teores de cinzas..... | 58 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2 OBJETIVOS..... | 15 |
| 2.2 Objetivo Geral..... | 15 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 15 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA..... | 16 |
| 3.1 Mel de abelhas sem ferrão: estudos clássicos..... | 16 |
| 3.2 Caracterização e aplicações dos méis de abelhas sem ferrão..... | 17 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 25 |
| 4.1 Amostras de méis..... | 25 |
| 4.2 Análises Físico-químicas..... | 25 |
| 4.3 Tratamento estatístico dos dados..... | 27 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 30 |
| 5.1 Amostragem e coleta do mel de <i>Melipona fasciculata</i> Smith..... | 30 |
| 5.2 Estudo Físico-químico do o mel de <i>Melipona fasciculata</i> Smith..... | 31 |
| 5.3 Análise estatística dos dados..... | 41 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 60 |
| REFERÊNCIAS..... | 61 |
| ANEXOS..... | 71 |

1 INTRODUÇÃO

Mudanças sociais vêm influenciando vários aspectos da vida das pessoas. Um desses aspectos é a alimentação. Há um forte movimento apontado para hábitos alimentares mais saudáveis. O consumo de alimentos naturais é uma tendência global em resposta à estas alterações sociais. Um desses produtos naturais é o mel (BALEM *et al.*, 2017).

O mel é um produto alimentício complexo produzido e consumido em todo o mundo. Composto por uma solução concentrada de açúcares, com predominância de glicose e frutose. É um alimento natural produzido pelas abelhas a partir do néctar de flores, das secreções das partes vivas das plantas ou das excreções de insetos sugadores de plantas (OLIVEIRA, 2017, p.16). O mel ainda pode conter em sua composição água, proteínas, enzimas, aminoácidos, lipídios, vitaminas, substâncias químicas voláteis, ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides e minerais (BLASA *et al.*, 2006; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010).

O Maranhão vem se destacando neste mercado desde 2013, com uma produção média de aproximadamente 1800 toneladas de mel por ano. O Estado chegou a ser listado entre os dez maiores produtores de mel do país (NORDESTE, 2014). A apicultura maranhense é mais desenvolvida em duas regiões, o Alto Turi e a região dos Campos e Lagos na parte costeira dos manguezais. No Alto Turi o período de produção de mel ocorre nos meses de junho a setembro, com produção estimada de 2.000 toneladas por safra. Já na região dos manguezais, a produção de agosto a dezembro é estimada em aproximadamente 700 toneladas por safra (TENÓRIO, 2016).

A meliponicultura é a atividade de cultivo do mel das abelhas do gênero *Melipona*, ou abelhas sem ferrão. O potencial para o uso desse mel pelas indústrias vem crescendo nos últimos vinte anos. As abelhas sem ferrão são um grande grupo de abelhas sociais distribuídas nos trópicos em todo o mundo (MICHENER, 2013a). Essas abelhas coletam e modificam os néctares florais da flora dos ambientes nativos, com substâncias específicas próprias (CHUTTONG *et al.*, 2016a). O mel é armazenado e deixado para amadurecer no interior das colônias, resultando em um produto singular com grau incomum de acidez, doçura e valor medicinal (CHUTTONG *et al.*, 2016b; ABD JALIL *et al.*, 2017).

A abelha da espécie *Melipona fasciculata* Smith, popularmente conhecida como “Tiúba”, é considerada uma espécie nativa da região da Baixada Maranhense, podendo o gênero *Melipona* ser encontrado em regiões tropicais e subtropicais. Caracterizadas por não possuírem ferrão, estas abelhas são a principal espécie produtora dos meliponários no estado do Maranhão, desempenhando também um importante papel na polinização das flores (LIBERIO et. al., 2011; DUTRA et. al., 2008).

A Baixada Maranhense é considerada um dos principais polos de produção de mel de abelhas *Melipona fasciculata* Smith, dada a alta biodiversidade, proveniente de floradas amazônicas que ocorrem na região e um significativo número de criadores de abelha do gênero *Melipona*. No entanto, apesar da grande produção de mel nesta região, o risco de extinção das espécies, devido ao desmatamento da floresta amazônica maranhense, e o desconhecimento técnico-científico por parte dos produtores, a atividade perde força e a cadeia produtiva do mel de Tiúba não encontra espaço no mercado formal.

A Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense (APABM) está localizada na Amazônia Legal Maranhense com uma extensão de 1.755.035,6 ha (Decreto Estadual 11.900 de 11 de junho de 1991). Esse espaço sofre influência dos ambientes costeiros e marinhos, com terras planas e de baixa altitude, matas de galeria, rios perenes e bacias lacustres (GARROS-ROSA, 2007).

Ao longo do tempo, o homem tem utilizado o mel das abelhas sem ferrão como alimento e para o tratamento de várias doenças, bem como dando uso diverso aos outros produtos delas resultantes (ALVES et al., 2013). Assim, avaliar a capacidade antioxidante do mel de Tiúba é fundamental para o fortalecimento da cadeia produtiva deste produto natural, uma vez que amplia ainda mais as possibilidades de sua aplicação nas indústrias de fármacos, cosméticos e alimentos. Tal propriedade também vai ao encontro das novas tendências sociais na busca por alimentos que promovam maiores benefícios à saúde e bem-estar.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a capacidade antioxidante dos méis de *Melipona fasciculata* Smith pela inibição da atividade do íon 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

2.2 Objetivos Específicos

- a) Correlacionar a atividade antioxidante com os parâmetros físico-químicos em amostras coletadas em diferentes localidades da Baixada Maranhense;
- b) Determinar o teor de cinzas nas amostras de méis;
- c) Analisar outros parâmetros físico-químicos, tais como condutividade elétrica, umidade, sólidos solúveis, pH, acidez e classes de cores;
- d) Aplicar os testes estatísticos em especial a Análise de Pearson aos resultados obtidos para a identificação e exclusão de valores discrepantes;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Mel de abelhas sem ferrão: estudos clássicos

A demanda crescente pelo mel de abelhas sem ferrão, aliada ao seu elevado potencial de mercado fez, crescer o número de estudos na literatura recente sobre parâmetros que atestem sua qualidade e o coloquem em condições de competitividade com os produtos originados dos apiários mundo à fora. Os primeiros trabalhos dizem respeito a estudos de aspectos físico-químicos do mel de espécies das subtribos Trigonina (*Tetragonisca angustula*, *Plebeia droryana* e *Cephalotrigona capitata*) e Meliponina (*Melipona quadrifasciata* e *M. scutellarisi*) (MARCHINI *et al.*, 1998; RODRIGUES *et al.*, 1998; ALMEIDA, 2002).

Em um dos estudos clássicos, Souza *et al.* (2004) determinaram as características físico-químicas de amostras de mel de *M. asilvai* do semi-árido do Estado da Bahia, contribuindo para o conhecimento das características do mel e fornecendo condições para a sua exploração racional. Dessa forma, onze amostras de mel de *M. asilvai* foram obtidas de colônias provenientes dos municípios de Tucano (10°58'S / 38°47'W, altitude 200 metros) e Itaberaba (12°32'S / 40°18'W, altitude 280 metros), nos meses de abril e maio de 2002. As amostras apresentaram valores adequados ao consumo humano de acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2000).

A legislação anteriormente citada, apesar de importante, regulamenta a padronização do mel para fins de comercialização somente para as características do mel de *Apis*, não contemplando o mel das abelhas nativas do Brasil, o que levantou a necessidade de estudos de diferentes méis para a sua padronização e uma futura Legislação Brasileira (AZEREDO *et al.*, 2000). Assim, em 2005 foi publicado um trabalho que teve como objetivo a determinação das características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* provenientes de comunidades rurais da região semi-árida do Estado da Bahia, contribuindo para o conhecimento das características do mel e fornecendo subsídios para a exploração desse meliponíneo. O estudo evidenciou que a maioria dos parâmetros físico-químicos medidos apresentou valores adequados para o consumo humano, exceto o teor de umidade. O estudo também demonstrou que o mel de *M. mandacaia* possui características físico-químicas

distintas do mel de *Apis mellifera*, o que assegura um nicho de mercado como produto diferenciado (ALVES *et al.*, 2005).

Estes estudos levaram o Grupo de Pesquisa Insecta do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais/UFBA, em parceria com outras Instituições de Ensino e Pesquisa, a lançar o quarto número da Série Meliponicultura - Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química, fornecendo subsídios para a discussão e elaboração de um futuro e necessário padrão de qualidade do mel dos meliponíneos. O objetivo foi divulgar os conhecimentos relacionados à criação das abelhas sem ferrão e divulgar os resultados obtidos com os estudos até então (CARVALHO, *et al.* 2005).

3.2 Caracterização e aplicações dos méis de abelhas sem ferrão

O mel de abelha nativa (*Meliponinae*) era pouco conhecido em termos de composição, muitas vezes, sendo associado às características do mel das abelhas africanizadas. Assim, os estudos desse produto, cresceram a partir de então. Como se sabe, os hábitos das abelhas nativas se diferenciam das abelhas africanizadas, podendo alterar também a composição do produto (NOGUEIRA-NETO, 1997). Nesta perspectiva, Evangelista-Rodrigues *et al.* (2005) desenvolveram um estudo objetivando a determinação da composição físico-química de 3 tipos de méis, sendo o mel de *A. mellifera* obtido em 2 regiões diferentes (Cariri e Brejo Paraibano) e o mel de abelha nativa *Melipona scutellaris*, obtido na região do Brejo Paraibano visando a comparação das características entre os méis das diferentes espécies de abelhas como também a comparação entre as distintas regiões. Os estudos concluíram que os méis de abelhas nativas e africanizadas, mesmo produzidos na mesma região, apresentam diferenças significativas em sua composição.

Com o passar do tempo os estudos evoluíram para a tentativa de se buscarem aplicações para o uso do mel em diferentes segmentos. Alves *et al.* (2008) apresentaram um estudo cujo objetivo era avaliar efeitos do uso tópico do mel da abelha silvestre *Melipona subnitida* na evolução de feridas infectadas de pele. Este estudo sugeriu que a eficácia do mel de *Melipona subnitida* quanto à cicatrização e tratar a infecção em feridas deve-se a um incremento na defesa imunológica orgânica e tecidual, além de sua atividade antimicrobiana.

Outro estudo referente à aplicação dos parâmetros físico-químicos foi desenvolvido por Freitas *et al.* (2010). Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tratamento térmico sobre os parâmetros de qualidade do mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*), coletado em Limoeiro-CE. O aumento da temperatura é frequentemente utilizado para se evitar a cristalização, bem como inibir a fermentação (Singh *et al.*, 1988). Estudos anteriores indicavam que no processamento térmico de mel de abelha, de diferentes origens polínicas, houve aumento de HMF bem como de acidez total (FALLICO *et al.*, 2004). Apesar do HMF, os demais parâmetros físico-químicos, tais como: umidade, acidez total e açúcares redutores, avaliados no mel de jandaíra, permaneceram dentro das especificações sugeridas para o controle de qualidade.

O interesse pelas peculiaridades do mel produzido pelas abelhas sem ferrão levou a estudos comparativos entre os produtos das abelhas africanizadas e o das abelhas nativas. Oliveira e Santos (2011) apresentam as análises comparativas realizadas entre a composição físico-química de amostras de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) e amostras de mel de abelhas sem ferrão (*Scaptotrigona bipunctata* H.). O mel de *S. bipunctata* foi coletado em Mauriti-CE e o de *A. mellifera* em Limoeiro do Norte-CE. As amostras em questão apresentaram diferenças significativas em alguns parâmetros avaliados, tais como a umidade, açúcares redutores e HMF. Os maiores teores de açúcares redutores, sólidos insolúveis, acidez e HMF foram encontrados em méis de *A. mellifera*, já os teores mais elevados de cinzas e sacarose aparente foram apresentados pelos méis de *S. bipunctata*. Isto já apontava para a necessidade de implementação de legislação, ou legislações, específicas que tratem da qualidade dos méis de abelhas nativas, pois foram verificadas diferenças significativas em relação a parâmetros físico-químicos entre os méis analisados.

Estudos semelhantes apontaram a necessidade de se definirem normas específicas para qualidade do mel de abelhas nativas. Lage *et al.* (2012) apresentaram um trabalho onde análises físico-químicas foram realizadas para avaliar amostras de mel de três espécies do gênero *Melipona* (*M. capixaba*, *M. rufiventris* e *M. mondury*) coletadas nos Estados do Espírito Santo e de Minas Gerais. O estudo apontou que as características do mel dessas amostras foram muito similares às do mel de outras espécies de *Melipona*. Entretanto, para o mel

de *Apis* apenas os valores de pH foram semelhantes, o que reforça a tese da necessidade de legislação específica para o mel de abelhas sem ferrão no Brasil.

Outro trabalho buscou avaliar a qualidade microbiológica quanto à presença de coliformes a 30°C e coliformes termotolerantes, Salmonella, Fungos e Leveduras. Também foram determinadas as características físico-químicas identificando sólidos insolúveis em água, minerais, acidez, hidroximetilfurfural, umidade, açúcares redutores, sacarose aparente, fermentos diastásicos, determinação de pH, índice de formal, sólidos solúveis, reação de lugol e reação de Lund e estabeleceu-se o perfil microscópico quanto à presença de sujidades. Todas as amostras de méis apresentaram baixa contagem microbiana de coliformes a 30°C e apresentaram valores para os demais parâmetros de qualidade em desacordo com a legislação estabelecida para o mel de *Apis*, ratificando a necessidade de legislação específica para o produto produzido pelas abelhas nativas sem ferrão (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Como a composição do mel de abelha nativa é pouco conhecida, embora a análise das suas propriedades físico-químicas esteja associada com os méis de abelhas africanas, estudos comparativos continuaram a ser desenvolvidos, de modo a se preencher as lacunas da literatura sobre o tema. Assim, Lira *et al.* (2014) desenvolveram um estudo cujo objetivo foi realizar análises físico-químicas, determinar o teor de fenólicos e flavonoides totais e a atividade antioxidante de 10 méis de meliponíneos. O estudo indicou que os méis de *A. melífera* apresentaram menor teor de fenólicos totais em comparação aos méis de meliponíneos, enquanto o teor em flavonoides foi superior para os méis de abelha africanizada. Os méis de meliponíneos apresentaram os melhores resultados para atividade antioxidante *in vitro*. O estudo levou a conclusão de que o mel de abelhas indígenas sem ferrão possui características diferenciadas do mel de *Apis melífera*. Isso leva à necessidade de se intensificar os estudos de diferentes méis de abelhas nativas a fim de estabelecer um padrão coerente e uma futura legislação brasileira que possa assegurar a qualidade e identidade deste produto. Além disso, a diversidade de espécies sugere a necessidade de se estudar o grupo dos meliponíneos individualmente.

As peculiaridades do mel de abelhas sem ferrão (melíponas) levaram a comunidade científica contemporânea a estudar estas características

sob a perspectiva de suas aplicações. Assim, um trabalho de revisão apresentado por Cauich Kumul, *et al.* (2015) projetaram algumas tendências de pesquisa sobre aspectos nutracêuticos relacionados aos compostos bioativos presentes no mel de *Melipona beecheii*, reconhecida por suas características medicinais, na Península de Iucatã. O mel de *M. beecheii* possui compostos bioativos como proteínas, flavonóides e polifenóis, com alta atividade antioxidante. As evidências científicas obtidas tornam o mel desta espécie de abelha sem ferrão, uma alternativa de obtenção de compostos bioativos com atividade antioxidante na Península de Yucatán, e ser proposto como alimento natural para reduzir alguns tipos de câncer. No entanto, ainda faltam informações que explicam essa atividade antioxidante.

Ainda quanto à aplicação das características dos méis de abelhas sem ferrão, Nunes (2017) fez um estudo com o objetivo de avaliar o perfil físico-químico e biológico em pólen coletado pela abelha *Melipona fasciculata* da região da Amazônia Maranhense. A pesquisa abrangeu um estudo experimental descritivo, onde foram coletadas 11 amostras em 5 municípios (São Bento, Palmeirândia, São Vicente de Ferrer, Bequimão e Perimirim) da Baixada maranhense. Determinou-se os teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, carboidratos, valor calórico, pH e acidez, fenólicos totais e flavonóides totais, capacidade antioxidante pelo método 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) e capacidade antimicrobiana pela técnica de difusão em ágar. O pólen coletado pela tiúba na Amazônia maranhense apresentou um alto valor nutricional e ação antioxidante o que potencializa o seu uso como complemento alimentar e funcional, além de apresentar efeito contra o crescimento de bacteriano.

Nessa perspectiva, trabalhos recentes buscam aplicações do mel e pólen de abelhas sem ferrão tanto na medicina quanto na nutrição. Assim, Silva *et al.* (2018) desenvolveram um estudo para analisar como o processo de desumidificação forçada por banho-maria provoca alterações nos teores de Hidroximetilfurfural (HMF) do mel de *Melipona flavolineata*. Constatou-se que o método utilizado para desumidificação dos méis de abelhas *Melipona flavolineata* neste estudo não provocaram alterações no HMF acima do estabelecido na legislação brasileira. Isso indica a possibilidade de utilização da técnica para

reduzir a atividade de água nestes méis para adequar o produto à legislação vigente no Brasil, garantido maior potencial de conservação do produto.

Pinheiro (2018) apresenta uma análise da qualidade microbiológica do mel da abelha sem ferrão jandaíra (*Melípona subnitida*) da região semiárida do Brasil. Trinta e cinco amostras foram avaliadas e todas foram positivas para bactérias mesofílicas, coliformes a 45°C, fungos e leveduras *Staphylococcus spp.* O trabalho revelou uma grande diversidade de microrganismos no mel produzido por jandaíra. O estudo revelou um perfil microbiológico mais amplo do mel de SB comparado ao mel de *A. mellifera*, que chama a atenção para a necessidade de legislação específica para este produto e a adoção de medidas para reduzir o número de contaminantes (SILVA *et al.*, 2008). Boas práticas de apicultura associadas a técnicas de conservação são importantes para garantir um produto de alta qualidade. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar os efeitos de tais práticas sobre as características físicas e químicas do mel do SB, especificamente o mel de jandaíra (SOUZA *et al.*, 2009; MOURA *et al.*, 2014).

Estudos de diferentes derivados do mel também ganharam relevância e destaque na literatura atual. Um desses é o geoprópolis, um tipo diferente de própolis, que apresenta uma mistura de resina e exsudato, contendo partículas de cera, silte e areia. Este produto foi objeto de interesse de pesquisa por suas propriedades físico-químicas, importância econômica e provável monitoramento ambiental. A determinação de metais tóxicos em produtos nas colmeias tem sido relatada como um indicador eficiente para o monitoramento ambiental. Como a produção de mel, sobretudo de melíponas, é comum em ambientes urbanos, um estudo teve como objetivo determinar a concentração de metais tóxicos nas geoprópolis da Região Metropolitana de Salvador, no estado da Bahia. Amostras de geoprópolis e solo foram coletadas de sete importantes colméias entre junho de 2015 e julho de 2016. Após a digestão com ácido, os metais foram determinados por espectroscopia de plasma indutivamente acoplado. Como a geoprópolis é parcialmente feita do solo, os valores de Cr e Fe foram extremamente mais elevados do que os valores identificados em própolis, cera e mel encontrados em outros estudos. Ele confere características diferentes a esse produto e o caracteriza como um eficiente indicador da poluição do solo. O estudo determina se os solos ao redor do meliponário são, ou não, poluídos por Cu, Cr,

Ni, Pb e Zn. Os resultados sobre as proporções de metal litogênico e metal antropogênico indicam que alguns metais têm uma origem externa (cerca de 20% para Ni e Cu). Assim, o geoprópolis pode ser considerado um bom indicador ambiental, mesmo em áreas com baixa contaminação (BONSUCESSO *et al.*, 2018).

Ainda nesse sentido, pode-se inferir que o próprio mel, tem potencial como indicador de contaminação ambiental. Assim, alguns estudos foram realizados com este objetivo nos últimos anos. Segundo Nascimento *et al.* (2018) o mel de *M. scutellaris* como um indicador para avaliar os níveis de metais nos locais de amostragem sujeitos a um amplo espectro de poluentes ambientais, principalmente metais. *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini) é uma das principais espécies de abelhas sem ferrão utilizadas na apicultura no Nordeste do Brasil. Foram realizadas coletas na área urbano-industrial de Salvador, Bahia e região metropolitana. As amostras foram submetidas ao procedimento de digestão nitroperclórica e foram analisadas via ICP-OES para determinar a concentração de metais (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn). Os metais estudados apresentaram níveis toleráveis de concentração, de acordo com a legislação brasileira vigente e recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), com exceção do Cr, que apresentou valores médios superiores ao limiar para todos os locais de amostragem. A detecção dos metais analisados indica que o mel de *M. scutellaris* é uma ferramenta útil para avaliar a presença de contaminantes ambientais; portanto, pode ser considerado um bom indicador de contaminação ambiental para monitorar uma região específica e evitar problemas devido à liberação de metais no meio ambiente.

Os méis de abelhas sem ferrão, tem alta acidez, menores níveis de carboidratos totais e alta higroscopicidade, capacidade de absorção de água, devido a sua alta umidade e altos valores de atividade de água. As principais dificuldades para o estabelecimento de padrões para os méis dessas espécies são a grande diversidade de abelhas sem ferrão e origem botânica, bem como variações na composição química desses méis. Por esta razão, Avila (2019) investiga a viabilidade da análise multivariada para a discriminação da qualidade do mel de diferentes gêneros de abelhas sem ferrão (*Melipona bicolor*, *quadrifasciata*, *marginata* e *Scaptotrigona bipuncata*). O Estudo demonstrou que

méis pertencentes às mesmas origens florais apresentam propriedades semelhantes, o que tornou possível organizar o mel em grupos com predominância de família botânica.

Numa perspectiva local, o mel de abelhas sem ferrão tem um papel importante na região amazônica, principalmente no Maranhão. Porém, a ausência de parâmetros de qualidade para esse tipo de mel é um obstáculo ao aumento da produção e comercialização. Assim, Fernandes *et al.* (2018) apresentam um estudo de determinação das características microbiológicas e físico-químicas de diferentes méis de Tiúba (*Melipona fasciculata*) com o objetivo de subsidiar a elaboração de legislação específica. Os méis das duas bacias hidrográficas do estado foram analisados quanto aos padrões de qualidade e apresentaram diferenças em algumas características físico-químicas, o que pode ser atribuído à diversidade botânica, do solo e climática das duas áreas. Ainda assim, essas amostras de mel não se enquadram na legislação brasileira para o mel *Apis mellifera* por algumas das características físico-químicas e, portanto, não são adequadamente regulamentadas, reforçando a necessidade de legislação específica para esse tipo de mel.

A proposição de padrões das abelhas, quanto a visitação de espécies botânicas, é importante para a compreensão das interações naturais entre abelhas e flora. Estas interações são os principais mecanismos influenciadores da composição físico-química dos méis. Neste sentido, Martins *et al.* (2011) apresentam um estudo do espectro polínico do mel de *Melipona fasciculata* Smith, analisado com o objetivo de identificar os recursos nectaríferos utilizados por essa espécie. A identificação das plantas visitadas foi realizada com base na análise dos tipos polínicos encontrados em 12 amostras de mel coletadas, no município de Palmeirândia, na área da Baixada Ocidental Maranhense.

Em outro estudo proposto por Ávila *et al.* (2019) as propriedades físico-químicas de amostras de mel de diferentes regiões foi comparada segundo análise multivariada. Por meio deste estudo foi possível discriminar a qualidade do mel de abelha sem ferrão de diferentes gêneros (*Melipona bicolor*, *quadrifasciata*, *marginata* e *Scaptotrigona bipunctata*) por conteúdo mineral, propriedades físico-químicas e microbiológicas investigadas. A análise dos componentes principais explicou 72,12% da variância total dos dados e foi

observada a separação em dois grupos. O grupo 2 foi formado pelo gênero *Scaptotrigona*, que apresentou os maiores valores de pH, cinzas e sólidos solúveis. O potássio foi o mineral mais abundante seguido de cálcio e sódio para ambos os grupos quantificados por espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado. Este mel tem maior acidez e umidade do que o de *Apis mellifera*. As amostras de mel avaliadas apresentaram as bactérias do ácido láctico, que são consideradas benéficas. A análise estatística multivariada foi eficiente em discriminar o mel de abelha sem ferrão, contribuindo para abordagens que podem ser usadas para padronização e regulação por espécie ou região.

O mel é a fonte natural mais antiga de compostos bioativos, particularmente de compostos antioxidantes, utilizada pelo homem. Os antioxidantes são substâncias que reduzem os efeitos oxidativos de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos causados pelos radicais livres. Os antioxidantes reagem com estes radicais e diminuem seus efeitos nocivos ao corpo humano (Macedo *et al.*, 2019). São substâncias extras nutricionais presentes em baixas quantidades no mel, provenientes do néctar de plantas, que se consumidas com frequência reduzem o risco de doenças cardíacas, câncer e garantem o fortalecimento do sistema imunológico (ALVAREZ-SUAREZ *et al.*, 2011).

Muitos compostos fenólicos têm propriedades captadoras de radicais livres, o que confere a atividade antioxidante a estes. Os componentes oxidantes têm sido considerados como agentes causadores de isquemias cerebral e cardíaca, doenças de Parkinson, distúrbios gastrointestinais, envelhecimento, entre outros (ALVES *et al.* 2012). Entre os antioxidantes presentes no mel estão incluídas as enzimas catalase e glicose oxidase e as substâncias não enzimáticas como ácidos orgânicos, produtos da reação de Maillard, aminoácidos, proteínas, flavonóides, polifenóis, tocoferol, flavonóis, catequinas, ácido ascórbico e carotenoides (Cauich Kumul, *et al.* 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras de méis

As 14 amostras de mel de *Melipona fasciculata* Smith foram coletadas na região da Baixada Maranhense, compreendendo os municípios São Bento, São Vicente Férrer, Viana, Cajapió, Arari, Vitória do Mearim, São João Batista, Palmeirândia, Anajatuba e também no município de São José de Ribamar, região metropolitana de São Luís-MA durante os meses de novembro de 2017 a março de 2018.

Os méis foram extraídos diretamente dos potes de cerume operculados no interior das colmeias por aspiração com seringas descartáveis de 60 mL. A perfuração dos potes de cerume para extração do mel, foi realizada com palitos de madeira. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro com volume de 250 a 500 mL com tampas rosqueáveis de polietileno, esterilizados em autoclave (GARROS-ROSA *et al.*, 2013).

4.2 Análises Físico-químicas

Teor de umidade

Para a determinação dos teores de umidade de mel, a legislação brasileira adota o método refratométrico proposto pela AOAC. Assim, a umidade foi determinada por refratometria. Foi utilizado o refratômetro Abbé de bancada, modelo Q767B (Quimis). As amostras de mel foram colocadas no prisma do refratômetro, aguardou-se a estabilização da temperatura à 20°C. A leitura foi realizada, convertendo-se o resultado obtido para percentagem a partir da Tabela de Chataway empírica, método oficial (MAPA) (AOAC, 2000; BILUCA *et al.*, 2016). Vale destacar que estudos apontam que a cristalização interfere na medição do índice de refração quando a amostra de mel se encontrava cristalizada, o que superestima os valores de umidade (CANO *et al.*, 2007).

Teor de açúcares redutores

A quantificação do teor de açúcares redutores foi realizada pelo método titulométrico, recomendado pelo Instituto Adolf Lutz (2005). Assim, foram pesados

2g da amostra, transferidas para um béquer de 100mL com água destilada, mantida em agitação até completa dissolução (solução de mel). Em um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados, com auxílio de pipetas volumétricas, 40 mL de água destilada, 10 mL do reagente de Fehling A, 10 mL do reagente Fehling B e colocou-se para aquecimento. Para a titulação foram utilizadas três gotas de azul de metileno a 1%, como indicador.

Teor de Hidroximetilfurfural (HMF)

O Teor de Hidroximetilfurfural foi definido pela a técnica também descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2005), onde em um béquer, foram adicionados 5,00 g de mel e cerca de 25 mL de água deionizada, solubilizando a amostra. Foram adicionados 0,50 mL da solução de Carrez 1 (ferrocianeto de potássio trihidratado), homogeneizando, e mais 0,50 mL de solução de Carrez 2 (acetato de zinco dihidratado), homogeneizando e completando o volume do balão de 50 mL com água destilada. A solução foi filtrada em papel, descartando-se os primeiros 10 mL filtrados. Da solução filtrada, foram pipetados 5 mL em quatro tubos de ensaio. No primeiro, foram adicionados 5 mL da solução de Bissulfito de sódio 0,2%, sendo este o tubo de referência. Nos demais foram adicionados 5 mL de água deionizada, sendo chamados de “soluções teste” (Bissulfito + água destilada). As soluções foram homogeneizadas e medidas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 284nm e 336nm em cubetas de quartzo.

Estudo do pH

O pH das amostras foi determinado segundo descrito pela metodologia Adolf Lutz, 2005 pelo método potenciométrico por meio da utilização de um pHmetro digital de bancada (modelo 827 da METROHM).

Acidez

A acidez foi determinada pelo método titulométrico. Foram dissolvidos 10g de cada amostra em erlenmeyers de 250 mL e adicionados 75 mL de água destilada, agitando-se. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,05 mol/L.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi medida como descrito por Rufino *et al.* (2007) e Sousa *et al.* (2007). Segundo o método, o DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, que possui cor púrpura, é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres.

Teores de cinzas

Os teores de cinzas foram determinados pela relação linear existente entre a condutividade elétrica e as cinzas, conforme a Equação 2:

$$CE = 0,14 + 1,74 A \quad (2)$$

Onde CE representa o valor da condutividade elétrica em miliSiemens cm^{-1} e A é o conteúdo de cinzas em g/100 g de mel (BOGDANOV *et al.*, 1999).

4.3 Tratamento estatístico dos dados

Para o tratamento adequado dos dados foram aplicadas as seguintes ferramentas estatísticas:

Teste T – Student

O teste t de Student, ou somente teste t, é utilizado como ferramenta estatística para comparação de resultados entre grupos distintos de dados ou entre um grupo de dados e um resultado padrão. Este teste consiste em medir o quanto o valor medido difere do valor real de um determinado parâmetro, a um nível de significância previamente definido. Neste trabalho foi utilizado o nível de significância de 95%. Este teste foi aplicado com o objetivo de se comparar os valores encontrados para os parâmetros físico-químicos do mel deste estudo e os valores de referência da legislação, seja média após exclusão de valores discrepantes, sejam outros valores de referência propostos na literatura para amostras semelhantes, ou até mesmo para a comparação entre amostras de mel de uma mesma região colhidas em meliponários (BITTAR *et al.*, 2018).

Testes de Cochran e Grubbs

Os testes de Cochran e Grubbs são utilizados para a exclusão de outliers ou valores discrepantes (CHUI *et al.*, 2009). A aplicação dos testes de exclusão de outliers é importante, pois elimina valores discrepantes das extremidades dos conjuntos de dados de cada conjunto de resultados. Além disso, é possível se excluir os resultados emitidos por grupo de amostras que apresentam elevada variabilidade.

O teste de Cochran é utilizado para a exclusão de conjunto de dados que apresentarem variância significativamente maior que os demais (CHUI *et al.*, 2009). Cabe destacar que o teste de Cochran é um teste unilateral, pois só avalia o valor máximo (FARRANT, 1997). Este teste avalia o maior valor, quando se relaciona a variância mais alta com a soma total das variâncias. A hipótese nula é verificada pelo coeficiente de Cochran (C) (LOPES, 2013).

Já o teste de Grubbs tem o objetivo de se rejeitar os valores discrepantes de um conjunto total de resultados. Diferente do teste de Cochran, este teste não é unilateral, pois avalia os resultados nas duas extremidades do conjunto de dados, ou seja, tanto os valores máximos quanto os valores mínimos gerados pelos testes são avaliados (CHUI *et al.*, 2009).

A exclusão de valores discrepantes é fundamental para se determinar um perfil de qualidade para o mel. Esta etapa evita que os valores de referência propostos para uma futura legislação sejam influenciados por valores muito altos ou muito baixos, causando grandes desvios e, conseqüente, falta de precisão. Assim, com a aplicação destas ferramentas o trabalho apresentará um perfil de qualidade mais próximo do real para as amostras estudadas.

Análise de variâncias fator único

A técnica da análise de variâncias fator único (ANOVA) é uma metodologia robusta e confiável utilizada em comparações múltiplas como nos testes realizados em análises para determinação de um perfil de qualidade do mel (ZUCCHINI *et al.*, 2003). Esta técnica é basicamente empregada para se testar diferenças significativas entre as médias de vários conjuntos de resultados,

separar e estimar as variabilidades associadas com fontes definidas (MARTINS; NETO, 1998).

Como existem vários conjuntos de amostras de regiões diferentes e da mesma região, são consideradas a variância dentro do grupo, variância de repetitividade e a variância entre os grupos ou variância da reprodutibilidade (FARRANT, 1997).

A ANOVA auxilia a pesquisa no que se refere à comparação das propriedades físico-químicas entre as diferentes regiões estudadas no Estado do Maranhão. Assim, foi possível observar se existem diferenças significativas entre cada conjunto de amostras de mel coletadas.

Análise de Pearson

O coeficiente de correlação de Pearson (r) ou r de Pearson mede a correlação linear entre duas variáveis quantitativas. É um índice com valores situados entre -1 e 1, que reflete a intensidade de uma relação linear entre dois conjuntos de dados. Assim, valores de r iguais a 1, significam uma correlação perfeita positiva entre as duas variáveis. Já para valores de r iguais a -1, indicam uma correlação negativa perfeita entre as duas variáveis, ou seja, se uma aumenta, a outra sempre diminui. Por fim, para valores de r iguais a 0, as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra. No entanto, pode existir uma outra dependência que seja "não linear". Assim, o resultado $r = 0$ deve ser investigado por outros meios (LACERDA *et al.*, 2010). Esta análise será importante para a avaliação de dependência entre cada parâmetro físico-químico estudado e a capacidade antioxidante dos méis do estado do Maranhão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Amostragem e coleta do mel de *Melipona fasciculata* Smith

As 14 amostras de mel de *Melipona fasciculata* Smith foram coletadas nos municípios da Baixada Maranhense (São Bento, São Vicente de Férrer, Viana, Cajapió, Arari, Vitória do Mearim, São João Batista, Palmeirândia, Anajatuba e também no município de São José de Ribamar durante os meses de novembro de 2017 a março de 2018. A Tabela 1 apresenta a identificação de cada amostra segundo a localidade onde foi coletada.

Tabela 1. Localidades onde foram coletadas as amostras de mel de *Melipona fasciculata* Smith.

| Localidade | Sigla |
|-----------------------|-------|
| São João Batista | SJB |
| Arari / Barreiros | BAR 1 |
| Lago do Mato | L.MAT |
| Arari | ARA |
| Vitória do Mearim | V.MEA |
| São Vicente de Férrer | S.VIC |
| Arari/ Barreiros | BAR 2 |
| São Vicente de Férrer | S.VIC |
| Cajapió | CAJ |
| Anajatuba | ANA |
| São Bento | S.BEN |
| Palmeirândia 1 | PAL 1 |
| Palmeirândia 2 | PAL 2 |
| São José de Ribamar | SJR |

A Baixada Maranhense, inserida entre as Bacias Hidrográficas do Rio Mearim, Rio Turiaçu e o Sistema Hidrográfico do Litoral Ocidental, possui a maior produção de mel de Tiúba do estado (SILVA, 2006) e o maior número de criadores. A região possui formações vegetais abertas, pioneiras aluviais em áreas planas com fisionomia campestre, vegetação secundária da floresta ombrófila e ocorrência de Savana arbórea a leste da região. A classificação climática, seguindo a modelagem de Koppen e Thornthwaite, é do tipo Clima Úmido (B1 e B2), temperaturas constantes, com nenhuma, pequena ou moderada deficiência hídrica (GEPLAN, 2002).

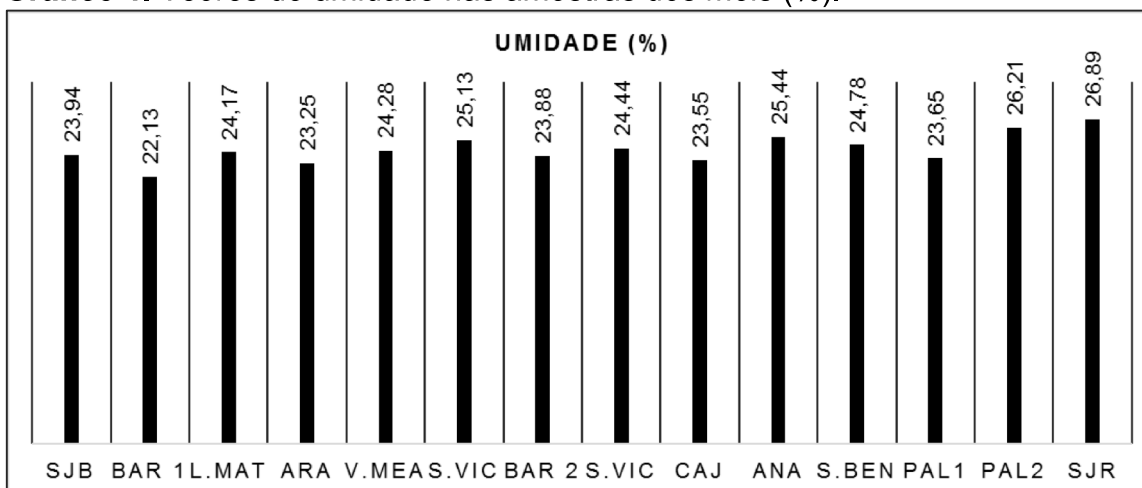
Vale destacar que o plano de coleta desta pesquisa adotou critérios higiênicos sanitários básicos, utilizados por Garros-Rosa *et al.* (2013), como forma de garantir a integridade e a qualidade do mel destinado às análises de pesquisa.

5.2 Estudo Físico-químico do o mel de *Melipona fasciculata* Smith

Teor de umidade das amostras o mel de *Melipona fasciculata* Smith

As 14 amostras apresentaram teores de umidade que variaram de 22,13% a 26,89%. O maior percentual de umidade foi identificado na amostra do município de São José de Ribamar (26,89%) e o menor, no município de Arari – localidade Barreiros com 22,13 % de umidade, conforme Gráfico 1.

Gráfico 1. Teores de umidade nas amostras dos méis (%).



A umidade é um parâmetro importante na determinação da qualidade do mel. Esta importância está associada ao fato da umidade influenciar de maneira direta parâmetros físico-químicos tais como viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor e conservação do produto. A higroscopicidade dos méis de abelhas nativas, associada aos elevados índices de umidade na região amazônica são a explicação para faixas de umidade tão amplas no mel de *Melipona fasciculata* Smith (BERTOLDI *et al.*, 2007). A região da baixada maranhense apresenta clima típico da amazônia, com precipitação pluviométrica e umidades relativas médias anuais mais elevadas (GEPLAN, 2002).

Sousa *et al.*, (2016) ao caracterizarem méis produzidos por abelha sem ferrão de alguns estados do Nordeste brasileiro detectaram valores de umidade

na faixa de 23,9% a 28,9%. Os teores de umidade deste estudo corroboram com essa proposta, pois a região apresenta ambiente úmido e alagado a maior parte do ano, devido ao período chuvoso e formação de lagos. Segundo estudo proposto por Oliveira *et al.* (2006) os valores de umidade para os meses do estado do Maranhão variam de acordo com a região: mínimo de 21,44% e máximo de 27,51% para os meses do cerrado maranhense; mínimo de 22,60% e máximo de 32,60% para os meses da baixada maranhense. Os valores observados no presente trabalho aproximaram-se dos resultados obtidos para o estudo em questão.

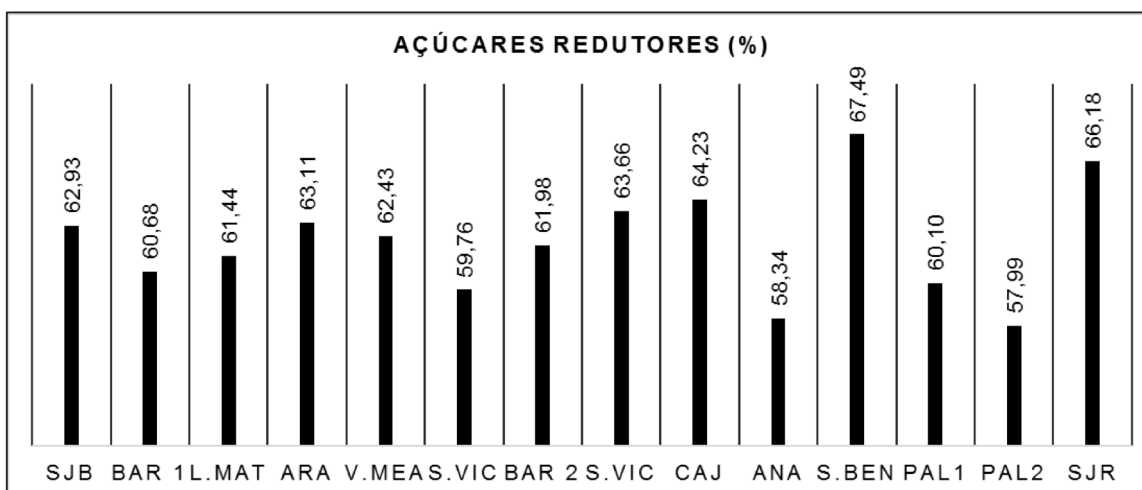
Um estudo comparativo entre meses de duas bacias hidrográficas do Maranhão apontou teores de umidade elevados para o mel de Tiúba. No estudo, as amostras de meses de *M. fasciculata* (Tiúba) provenientes da Bacia de Pericumã, na baixada maranhense, apresentaram valores médios maiores em relação aos meses da Bacia do Munim. A faixa de variação e os valores médios para a umidade encontrados foi de 24,1 a 29,13%, com média de 27,24%, muito próximos dos resultados obtidos neste trabalho (FERNANDES, 2017, p.84).

Apesar dos dados observados no presente estudo estarem alinhados e em conformidade com a literatura, tanto recente quanto passada, tais valores ainda são elevados quando comparados com a legislação vigente no Brasil, para qualidade do mel de *Apis*, que estabelece valor máximo de umidade de 20%. Tal observação coaduna para a necessidade do estabelecimento de legislação específica para os meses de abelhas nativas, dado o potencial de aplicação e a aceitação deste produto natural junto ao mercado consumidor.

Teor de açúcares redutores

Na avaliação da concentração de açúcares redutores nas amostras, segundo o Gráfico 2, verificou-se valores em percentual que variaram entre 57,99 e 67,49%. A amostra com o valor mais elevado foi a do município de São Bento (67,49%) e a menor, no município de Palmeirândia (57,99%).

Gráfico 2. Teores de açúcares redutores das amostras (%).



Alves *et al.*, 2011, analisando méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro constatou que o conteúdo de açúcares redutores obtidos nas amostras analisadas variaram entre 51,23% a 61,17%. Já os teores mínimos, para méis de *melipona*, propostos por Carvalho *et al.* (2013) e Villas-Bôas e Malaspina (2005) foram 60% e 50%, respectivamente.

Em trabalho desenvolvido por Sousa *et al.* (2006), amostras de mel de diferentes espécies de meliponíneos, apresentaram valores de açúcares redutores variando entre 58,00% e 75,7%. Já amostras de mel de *M. subnitida*, no estado da Paraíba, apontaram valores entre 50,50% e 72,77% (SILVA *et al.*, 2013). Estes resultados corroboram com os valores encontrados nos méis de meliponíneos da baixada maranhense.

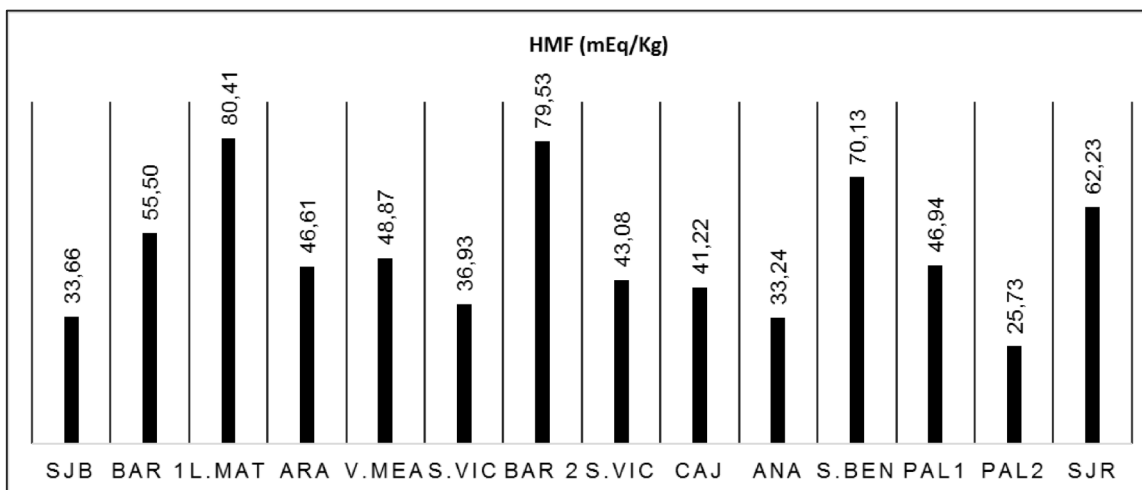
Açúcares redutores avaliados por Aroucha *et al.* (2019) para o mel de *Melipona* subnitida desumidificado apresentaram teores médios de 64,35% e valores no mel *in natura* em torno de 60,48%, apontando a desumidificação como um caminho alternativo à elevação dos teores de umidade. Apesar disso, o teor reduzido de açúcar ainda foi inferior ao observado no mel de *Apis mellifera L.* (71,15%). No mel de 11 espécies de abelhas do grupo *Melipona na Tailândia*, Chuttong *et al.*(2016) também observaram baixos valores de açúcares redutores (29,80%). Em geral, a composição dos açúcares do mel é influenciada por tipo floral, condições climáticas e condições geográficas, ratificando, inclusive, a necessidade de parâmetros locais de qualidade (TORNUK, *et al.*, 2013).

Um estudo com mel de abelha *Scaptotrigona bipunctata* H, apontou teores de açúcares redutores de 58,1 a 61,4% (OLIVEIRA; SANTOS, 2011), e em méis de vários meliponíneos, os teores para o referido parâmetro variaram de 63,1 a 74,8% (SOUZA *et al.*, 2009). A legislação brasileira estabelece que o valor mínimo de açúcares redutores para méis é de 65%. Vale destacar que este parâmetro é um indicador da maturidade do mel. Porém a técnica de amostragem deste estudo (FERNANDES, 2017) garantiu que as amostras coletadas estavam maduras, tendo em vista que os potes coletados estavam todos operculados, ou seja, fechados.

Teor de Hidroximetilfurfural (HMF)

O Hidroximetilfurfural (HMF) é produto da desidratação de hexoses em meio ácido, após armazenamento prolongado sob condições inadequadas como superaquecimento ou adulteração causada pela adição de açúcar invertido. Os teores de HMF encontrados nas 14 amostras variou de 25,75 mEq/kg a 80,41 mEq/kg. O maior valor foi identificado na amostra da localidade Lago do Mato. Já o menor, foi detectado na amostra 2 de Palmeirândia, indicados no Gráfico 3, a seguir.

Gráfico 3. Teor de Hidroximetilfurfural no mel de *Melipona fasciculata*.



Para o teor de Hidroximetilfurfural de *Melipona fasciculata*, 28,7% das amostras apresentaram valores de HMF acima de 60 mEq/kg estipulado pela legislação nacional e internacional para méis de *Apis mellífera*, não havendo padronização para méis de abelha sem ferrão. Carvalho *et al.* (2009) indicam que essas diferenças podem estar relacionadas a um aumento na concentração de

mel causado pela perda de água, além de um possível efeito da exposição do mel a uma temperatura acima de 35,5 ° C.

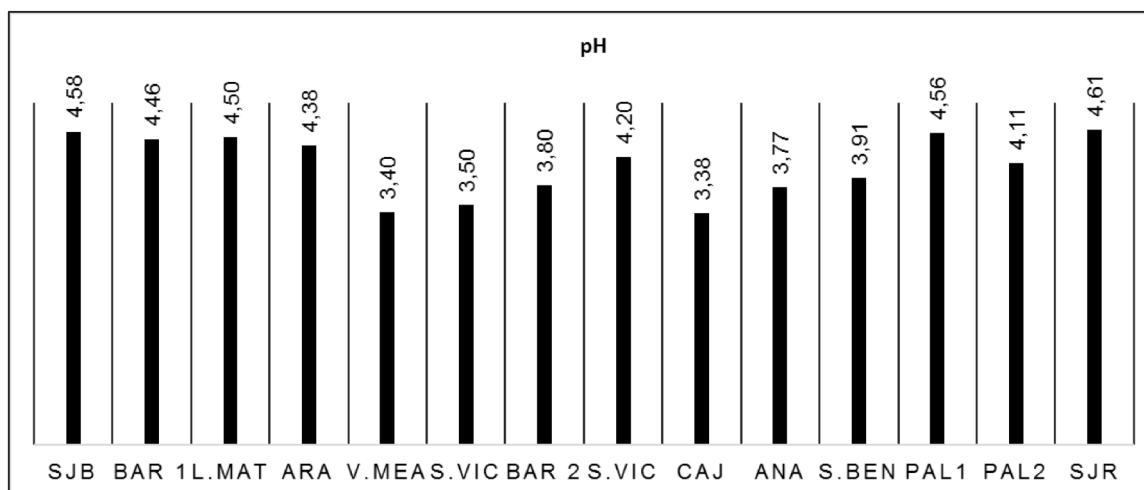
Já o Codex Alimentarius recomenda um valor máximo de 80 mg.kg-1 de HMF para méis de países tropicais, uma vez que em países quentes o HMF tende a aumentar mais rapidamente durante o armazenamento prolongado (BOGDANOV; MARTIN, 2001). Neste caso, as amostras de mel de Tiúba, analisadas neste estudo apresentam valores adequados, considerando as condições climáticas da baixada maranhense.

Em pesquisa desenvolvida por Duarte *et al.* (2018) méis de *M. asilvai* e *Plebeia sp.*, apresentaram, respectivamente, teores médios de HMF de 61 e 72 mg.kg-1, valores considerados adequados para as condições climáticas adversas da região onde foram coletados. Assim, como mencionado para outros parâmetros, critérios e limites específicos para o controle de qualidade de méis de abelhas sem ferrão devem ser propostos considerando as diferenças da fisiologia da meliponina.

Estudo do pH

As estimativas dos valores de pH são importantes para a caracterização do mel. O Gráfico 4 apresenta este parâmetro variando entre 3,38 e 4,61. O menor foi identificado na amostra do município de Cajapió, enquanto o maior, no município de São José de Ribamar.

Gráfico 4. pH das amostras de mel de *Melipona fasciculata*.



Em um estudo realizado por Sant'ana (2017) para a qualidade físico-química e microbiológica, dos méis de *Melipona subnitida* e *Melipona fasciculata*, do estado do Piauí, foram verificados valores de pH que variaram entre 2,99 a 4,37. Alves *et al.* (2013) ao analisarem amostras de mel de Portugal, de diferentes origens florais, relataram valores de pH entre 3,3 e 4,4. Assim, os resultados com *Melipona fasciculata* do Maranhão estão em concordância com os valores descritos na literatura.

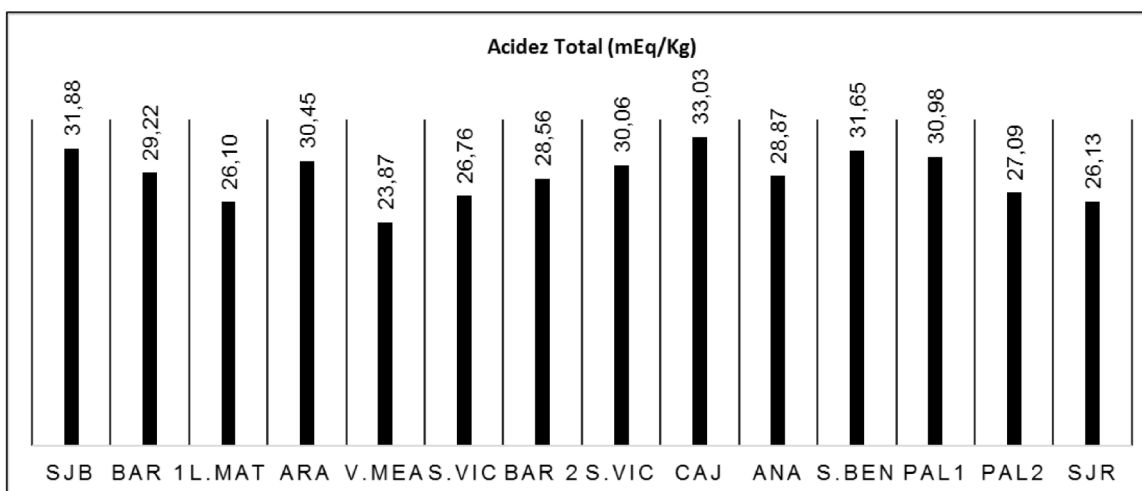
O pH do mel pode sofrer influência de diferentes fatores, tais como: o pH do néctar ou do solo, composição de vegetais para a formação do mel (CRANE, 1985). Outra condição para a alteração do pH do mel são as substâncias mandibulares da abelha acrescentadas ao néctar quando do transporte até a colméia (EVANGELISTA-RODRIGUES *et al.*, 2005). Além disso, o pH do mel é importante por influenciar na velocidade de formação do HMF (SOUZA; BASLEN, 1998). A legislação brasileira não contempla valores de referência para pH como parâmetro no controle do mel, mas o pH e a acidez têm relação com a maior ou menor susceptibilidade de desenvolvimento de deteriorantes microbianos (FERNANDES, 2017).

Acidez

O teor de acidez total variou entre 23,87mEq/kg e 33,03mEq/kg para as 14 amostras analisadas. A amostra do município de Cajapió apresentou maior

grau de acidez de 33,03 mEq/kg e município de Vitória do Mearim, a menor de 23,87 mEq/kg, conforme o Gráfico 4.

Gráfico 5. Teor de acidez total nas as amostras de *Melipona fasciculata*.



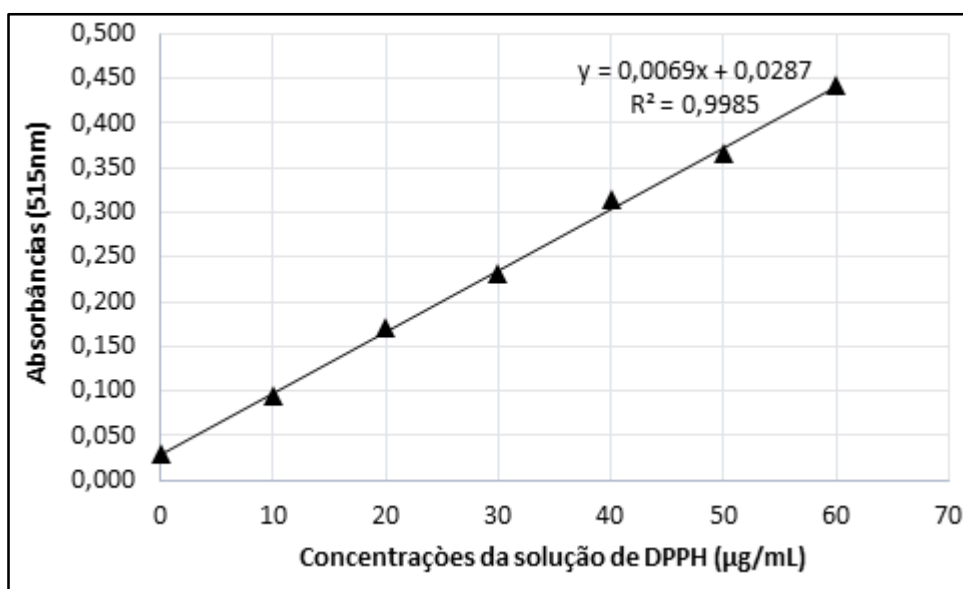
Os ácidos orgânicos são responsáveis pela acidez do mel. O principal deles é o ácido glucônico, resultante da ação da glucose-oxidase sobre a glicose, produzindo peróxido de hidrogênio, que possui ação antibacteriana (COUTO; COUTO, 1996). Em estudos com méis de *M. fasciculata* a acidez variou de 22,8 a 42,7 meq.kg⁻¹ (HOLANDA *et al.*, 2012). Outro trabalho desenvolvido com méis de *Melipona subnitida* apresentou acidez variando de 31,8 a 33,2 meq.kg⁻¹ (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2013), todos os valores abaixo do valor de 50 meq.kg⁻¹ estabelecido pela legislação.

Em estudo sobre as características físico-químicas dos méis de Tiúba do Maranhão, Lima (2017) detectou a faixa de 36,12 mEq/kg a 43,01 mEq/kg para acidez total. Amostras de mel de *M. subnitida*, coletadas no Estado da Paraíba, apresentaram valores entre 24,66 e 59,66 mol/Kg (SILVA *et al.*, 2013). Valores de acidez, no geral, estão ligados às características próprias do mel, da região e à composição do néctar das flores; porém valores muito elevados de acidez podem indicar proliferação microbiana (BERTOLDI, *et al.*, 2007). Desse modo, os valores obtidos neste estudo coadunam com as referências apresentadas na literatura para espécies de abelhas nativas.

Atividade antioxidante

Para análise da atividade antioxidante das amostras do mel de Tiúba da região da baixada maranhense construiu-se uma curva de calibração para o DPPH. Assim, preparou-se uma solução etanólica de DPPH a 120µg/mL. Em seguida diluiu-se essa solução para obtenção de diferentes concentrações 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5 e 1 µg/mL. Posteriormente, foram realizadas as leituras das absorvâncias das soluções em triplicata, utilizando-se a absorvância do etanol como o branco. Por fim, construiu-se a curva padrão para o DPPH utilizando a média das absorvâncias obtidas em função da concentração da solução, conforme o Gráfico 5.

Gráfico 6: Curva de calibração para o DPPH

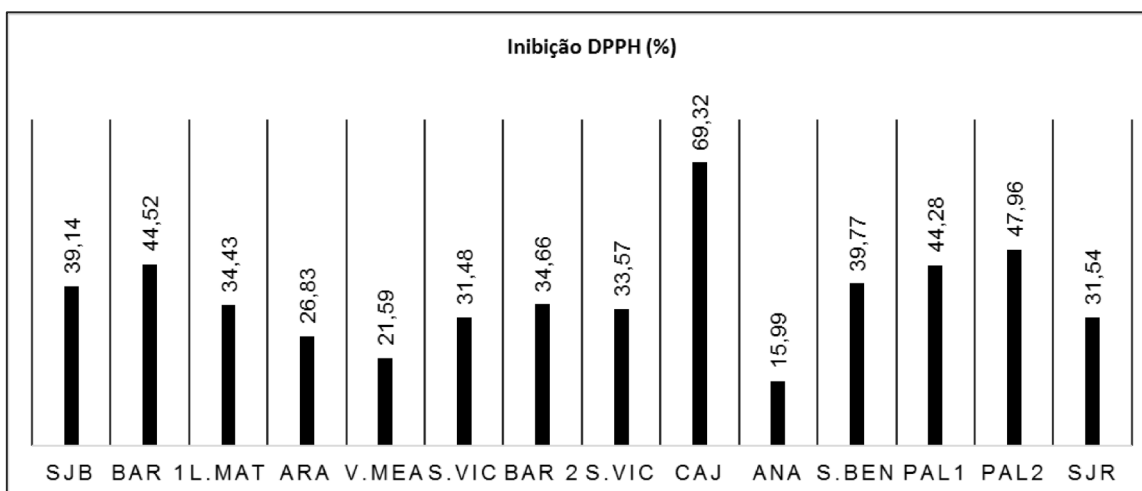


O valor do R^2 da curva de calibração foi de 0,9985 e a interseção foi de 0,0287, indicando haver correlação linear satisfatória entre os valores de absorvâncias medidos e as concentrações das diluições feitas à solução matriz de DPPH.

A atividade antioxidante das amostras em estudo foi expressa em percentual inibição de oxidação. A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumida. As amostras apresentaram capacidade de consumo de DPPH, com valores de inibição que variaram de 15,99% a 69,32%. Constatou-se que aquela coletada no município de Cajapió apresentou o maior percentual de atividade antioxidante (69,32%) e a amostra

que apresentou menor atividade antioxidante foi identificada na amostra coletada no município de Anajatuba (15,99%), conforme Gráfico 6.

Gráfico 7: Inibição do radical DPPH pelo mel de *Melipona fasciculata*.



Os méis de *Melipona fasciculata* apresentaram capacidade sequestradora de radicais livres (DPPH) numa faixa entre 15,99% a 69,32%. Em estudo realizado por Lianda (2009) para avaliação da atividade antioxidante em méis *A. mellifera* de regiões do Rio de Janeiro pelo método DPPH, detectou valores de CE50 variando de 10,81% a 52,84%. A atividade antioxidante varia em função das floradas utilizadas pelas abelhas durante a coleta, dos fatores climáticos e das condições edafoclimáticas predominantes no local (MENEZES *et al.*, 2010; SHUEL, 2010).

Estevinho (2009) encontrou CE50 de 27,24 mg 100 mL⁻¹ a 68,17 mg 100 g⁻¹ em méis de diferentes tonalidades. Méis analisados no Rio de Janeiro apresentaram concentração efetiva em 50% do total do efeito (CE50) variando de 4,82 a 77,05%. (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Os valores obtidos de CE50 para méis multiflorais de diversas regiões da África do Sul variaram de 1,63 a 29,13 mg mL⁻¹ (SILVA *et al.*, 2005).

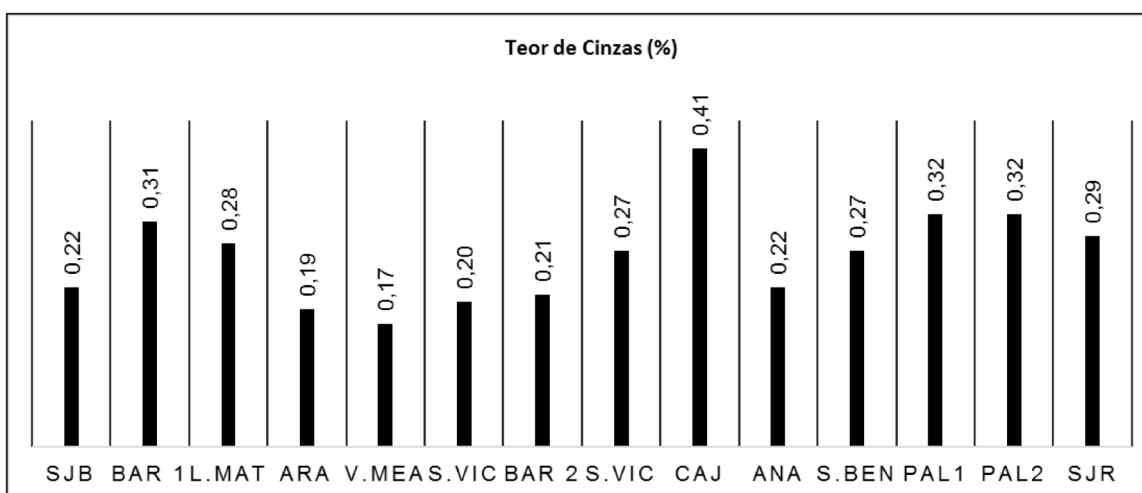
Biluca *et al.* (2016) também analisaram amostras de mel de abelhas sem ferrão, o valor mínimo apresentado foi 1,41mgEAA/100g (*M.marginata*) e o máximo foi 18,5 mgEAA/100g (*M.marginata*), ambos da mesma espécie. As amostras têm origens geográficas e botânicas diferentes, o que pode explicar a ampla variação de valores. Silva *et al.* (2013) ao mel de abelhas sem ferrão encontraram valores variando de 10,6 a 12,9 mg de EAA/100g, sempre

dependendo da origem botânica do néctar coletado para a produção de mel, da origem geográfica e das espécies de abelhas (GORJANOVIC *et al.*, 2013; BOUSSAID *et al.*, 2018; HABIB *et al.*, 2014).

Teor de Cinzas

Os teores de cinzas foram determinados pela relação linear existente entre a condutividade elétrica e as cinzas. A amostra do município de Cajapió apresentou maior percentual de cinzas, 41%, conforme o Gráfico 9.

Gráfico 8: Teores de cinzas no mel de *Melipona fasciculata*.



Apesar da grande variação entre as amostras analisadas, os valores estão em conformidade com a legislação nacional para méis de *Apis mellifera*. Em análises de mel de *Tetragonisca angustula* (ANACLETO *et al.*, 2009) e de várias espécies de meliponíneos (SOUZA *et al.*, 2009) verificou-se grandes variações nos teores de cinza, a saber, 0,2 a 0,6% e de 0,01 a 0,45%, respectivamente.

O teor de cinzas é um importante parâmetro para o controle de qualidade e por sua determinação é possível identificar problemas de processamento, tais como a falta de higiene, não decantação, ou filtração do mel ao final da produção. As cinzas estão diretamente relacionadas às concentrações de minerais, que podem ser alterados por influência da espécie de abelha, das espécies botânicas forrageadas pelas abelhas, das condições edafoclimáticas (clima/solo) da região e da manipulação do meliponicultor durante a póscolheita, ou processamento (BOGDANOV *et al.*, 1999). Os méis de melípona, geralmente

são coados, em operação conjunta na extração por escorrimento, o que influencia a qualidade do produto final.

Fernandes *et al.* (2018) analisando amostras de méis de diferentes regiões do estado do Maranhão identificou valores médios de percentual de cinzas em torno de 27%. Dessa forma, os resultados encontrados neste estudo corroboram com os trabalhos listados na literatura com análises do parâmetro teor de cinzas, que é um indicativo de resíduo mineral das amostras.

O Codex Alimentarius não utiliza este parâmetro para avaliar a qualidade do mel (KARABAGIAS *et al.*, 2014). Este parâmetro é indicativo de poluição ambiental e origem geográfica, uma vez que depende das características dos solos em que a planta desenvolveu. Santos *et al.* (2014), encontraram valores de mel de *Apis* de 0,02% a 0,19%, variando com a florada, assim como o mel de *Melipona*.

5.3 Análise estatística dos dados

O teste t de Student foi utilizado como ferramenta estatística para comparação de resultados entre grupos distintos de dados, localidades, e um resultado padrão, parâmetros de qualidade do mel. Este teste consiste em medir o quanto o valor medido difere do valor real de um determinado parâmetro, a um nível de significância previamente definido. Neste trabalho foi utilizado o nível de significância de 95%.

Tabela 2. Análise estatística das médias e desvios do mel de Tiúba

| Localidade | Umidade (%) | Açúcares Redutores (%) | pH | Acidez Total (mEq/Kg) | HMF (mEq/Kg) | Inibição DPPH (%) | Teor de Cinzas |
|---------------------|-------------|------------------------|--------|-----------------------|--------------|-------------------|----------------|
| SJB | 23,94 | 62,93 | 4,58 | 31,88 | 33,66 | 39,14 | 0,22 |
| BAR 1 | 22,13 | 60,68 | 4,46 | 29,22 | 55,50 | 44,52 | 0,31 |
| L.MAT | 24,17 | 61,44 | 4,50 | 26,10 | 80,41 | 34,43 | 0,28 |
| ARA | 23,25 | 63,11 | 4,38 | 30,45 | 46,61 | 26,83 | 0,19 |
| V.MEA | 24,28 | 62,43 | 3,40 | 23,87 | 48,87 | 21,59 | 0,17 |
| S.VIC | 25,13 | 59,76 | 3,50 | 26,76 | 36,93 | 31,48 | 0,20 |
| BAR 2 | 23,88 | 61,98 | 3,80 | 28,56 | 79,53 | 34,66 | 0,21 |
| S.VIC | 24,44 | 63,66 | 4,20 | 30,06 | 43,08 | 33,57 | 0,27 |
| CAJ | 23,55 | 64,23 | 3,38 | 33,03 | 41,22 | 69,32 | 0,41 |
| ANA | 25,44 | 58,34 | 3,77 | 28,87 | 33,24 | 15,99 | 0,22 |
| S.BEN | 24,78 | 67,49 | 3,91 | 31,65 | 70,13 | 39,77 | 0,27 |
| PAL1 | 23,65 | 60,10 | 4,56 | 30,98 | 46,94 | 44,28 | 0,32 |
| PAL2 | 26,21 | 57,99 | 4,11 | 27,09 | 25,73 | 47,96 | 0,32 |
| SJR | 26,89 | 66,18 | 4,61 | 26,13 | 62,23 | 31,54 | 0,29 |
| Soma | 341,74 | 870,32 | 57,16 | 404,65 | 704,08 | 515,08 | 3,68 |
| Média | 24,41 | 62,17 | 4,08 | 28,90 | 50,29 | 36,79 | 0,26 |
| Desvio Padrão | 1,23 | 2,74 | 0,45 | 2,64 | 17,18 | 12,87 | 0,07 |
| Coef. Variação | 5,02% | 4,40% | 11,12% | 9,13% | 34,15% | 34,97% | 24,94% |
| Valor de Referência | 20 | 65 | n.a | 50 | 60 | n.a | 0,6 |
| t-student | 13,46 | -3,87 | n.a | -29,92 | -2,11 | n.a | -19,24 |

Por meio das estimativas da média e do desvio padrão para cada parâmetro de interesse foi possível avaliar a variabilidade analítica entre as amostras das diferentes localidades. O objetivo deste teste foi avaliar o nível de dispersão dos valores encontrados em torno da média. O coeficiente de variação é uma ferramenta que pode auxiliar no estudo em questão. Pelos valores tabelados os parâmetros que apresentaram precisão satisfatória, ou seja, baixa variação em relação ao valor médio foram umidade, açúcares redutores e acidez total. Já os teores de HMF e cinzas apresentaram coeficientes de variação elevados, 34,15% e 24,94%, respectivamente. Isso indica a complexidade de se definirem padrões de qualidade para o mel de abelhas nativas, uma vez que mesmo amostras da mesma espécie coletada em municípios da mesma região também apresentam níveis consideráveis de variação entre os grupos.

Apesar da complexidade em se definirem tais padrões de qualidade para o mel de abelhas nativas, esta é uma tarefa necessária, tendo em vista que os padrões em vigor no Brasil se aplicam a méis de *Apis mellifera*. Estes parâmetros em sua maioria não são válidos para o monitoramento de méis de abelhas do gênero *Melipona*, como demonstra os valores de t-Student na tabela anterior. Foi utilizado o Teste t de Student para comparar os valores médios de cada parâmetro de interesse com o valor de referência da amostra padrão. O valor de t tabelado para 13 graus de liberdade ao nível de 95% de confiança é de 2,16. Assim, pelos valores de t calculados com base no valor de referência da legislação, observa-se que houve diferença significativa entre o valor de referência

e os valores medidos para os parâmetros estudados, com exceção dos níveis de acidez, HMF e cinzas.

Estes resultados endossam a necessidade de se estabelecerem parâmetros de qualidade específicos para o mel de abelhas nativas. Os gráficos a seguir demonstram a comparação entre os valores medidos para as amostras coletadas em diferentes localidades da Baixada maranhense e os valores de referência estabelecidos na legislação brasileira.

Gráfico 9. Comparação entre os teores de umidade no mel de *Melipona fasciculata* e o valor de referência

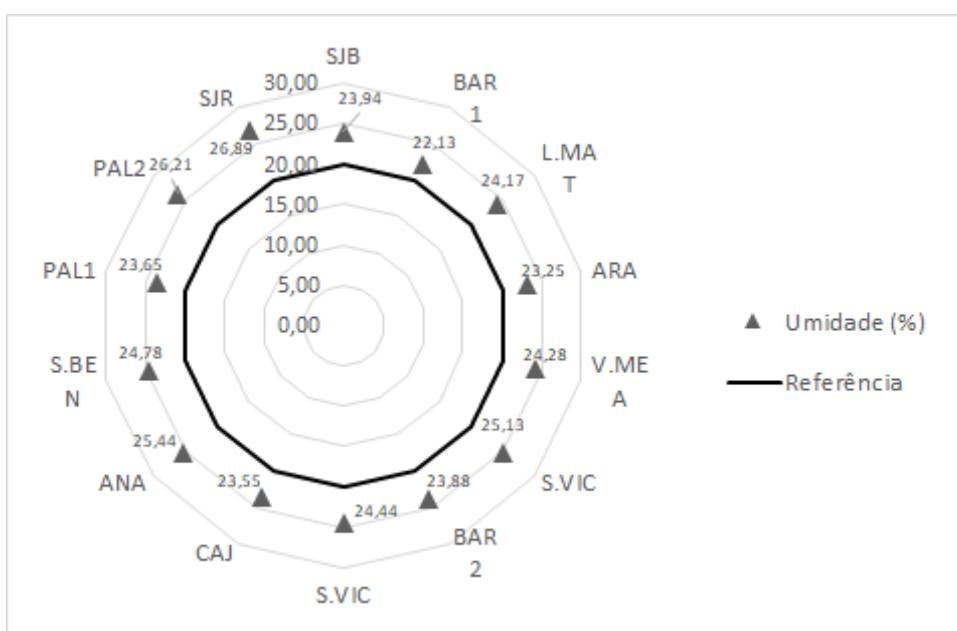


Gráfico 10. Comparação entre os teores de açúcares redutores no mel de *Melipona fasciculata* e o valor de referência

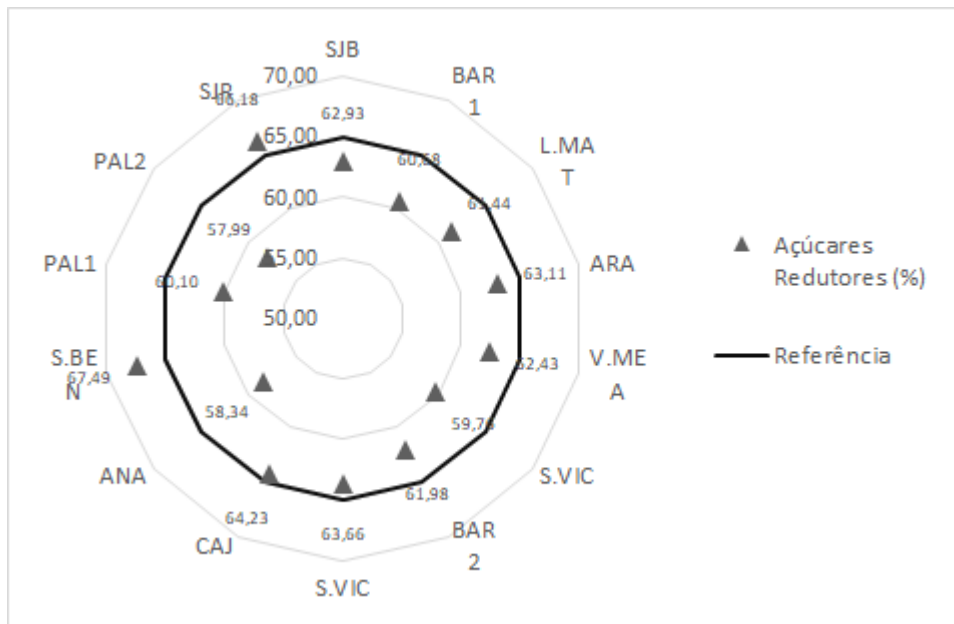


Gráfico 11. Comparação entre os teores de acidez total no mel de *Melipona fasciculata* e o valor de referência

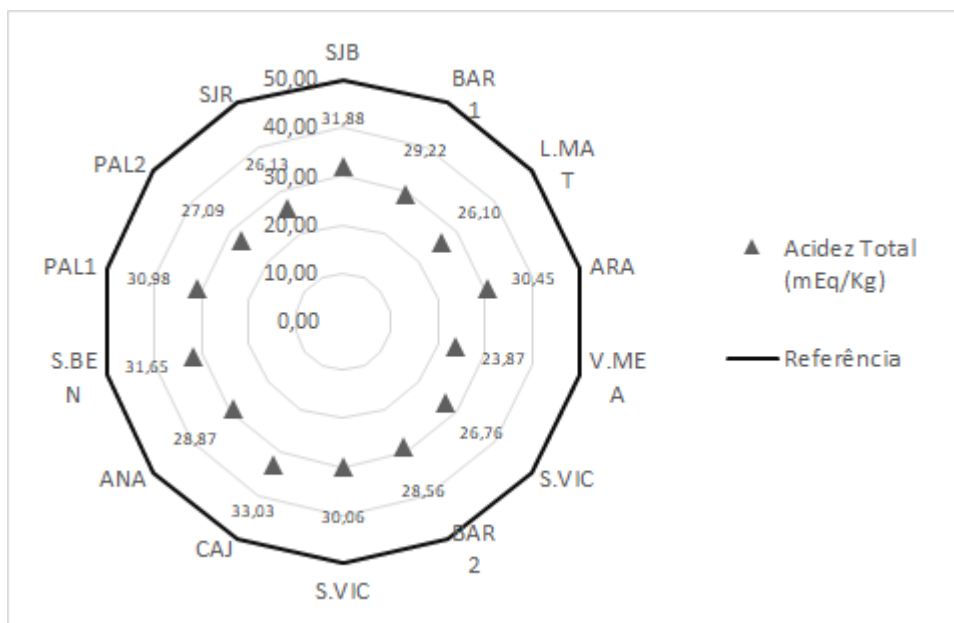


Gráfico 12. Comparação entre os teores de hidroximetilfurfural no mel de *Melipona fasciculata* e o valor de referência

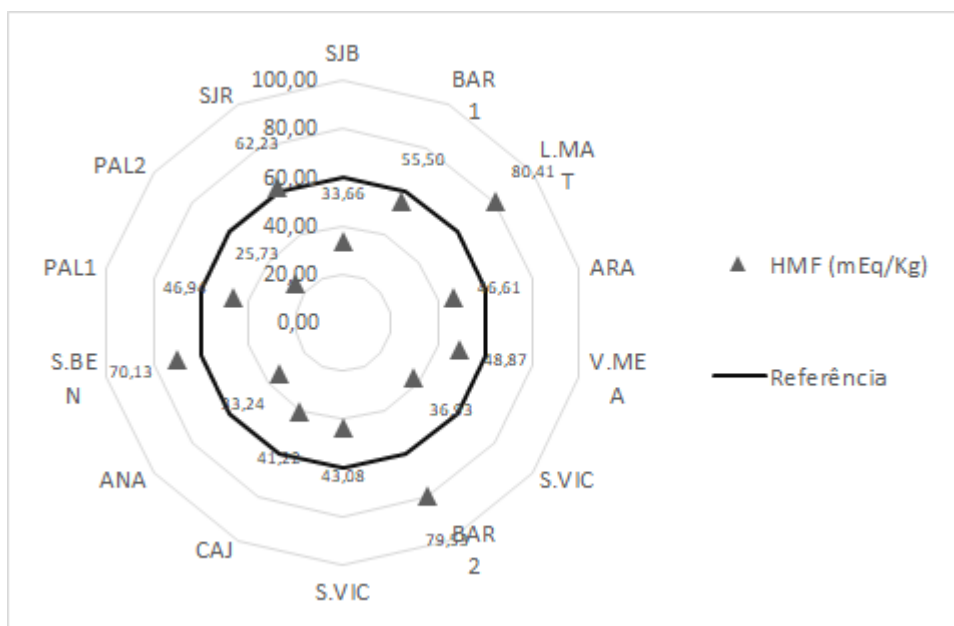
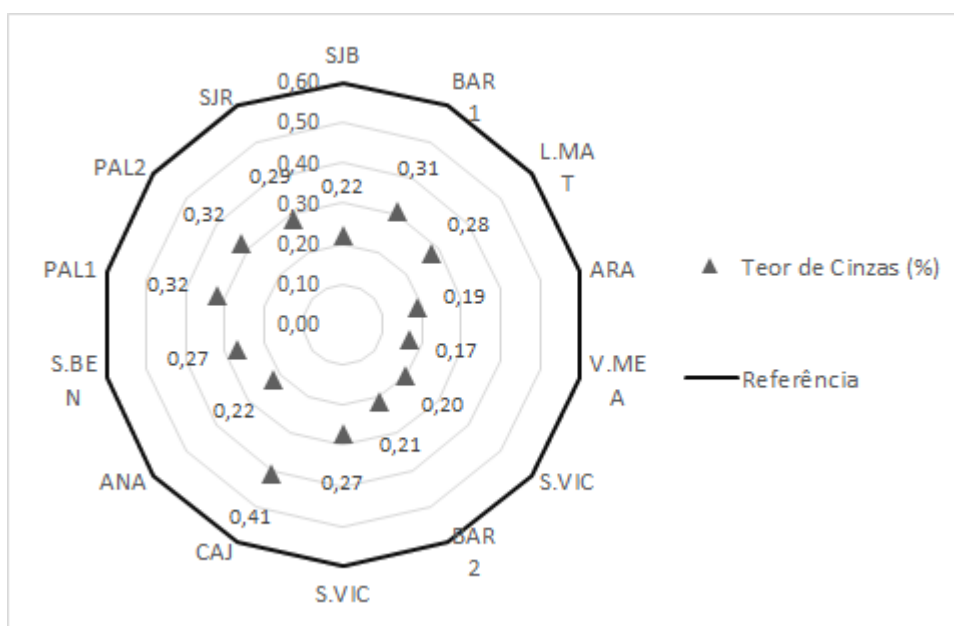


Gráfico 13. Comparação entre os teores de cinzas no mel de *Melipona fasciculata* e o valor de referência



Com o objetivo de padronizar o processamento dos produtos de origem animal e assegurar condições igualitárias e total transparência na elaboração e comercialização destes produtos, o Ministério da Agricultura e Abastecimento aprovou Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel por meio da Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000. Esta norma revogou a

Portaria nº 367, de 4 de setembro de 1997, que aprovou o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade do Mel (BRASIL, 2000).

Tal instrução normativa define que o valor de no máximo 20g/100 g de umidade para amostras de méis. Pelo gráfico 9 observa-se que nenhuma das amostras atende a este requisito dada a elevada umidade na região amazônica (Baixada Maranhense). Já para açúcares redutores o valor mínimo tolerado é de 65g/100g. A maioria das amostras em estudo apresentaram valores menores que o mínimo previsto na norma, conforme gráfico 10. Vale destacar que para acidez, HMF e teores de cinzas as amostras apresentaram valores dentro do esperado pela legislação (Gráficos 11, 12 e 13).

A exclusão de valores discrepantes é fundamental para se determinar um perfil de qualidade para o mel. Esta etapa evita que os valores de referência propostos para uma futura legislação sejam influenciados por valores muito altos ou muito baixos, causando grandes desvios e, conseqüente, falta de precisão. Assim, com a aplicação dos testes de Cochran e Grubs trabalho sugere um perfil de qualidade mais próximo do real para as amostras estudadas.

O primeiro teste aplicado foi teste de Cochran. Este é um teste unilateral, pois só é aplicado em uma extremidade do conjunto de dados. Neste caso, avalia-se o maior valor de variância, dividindo-o pelo somatório das variâncias. O resultado é chamado coeficiente de Cochran (C_i), e é comparado com os valores de C críticos a 5% e 1% de confiança. Os critérios de avaliação da hipótese nula deste teste são: $C_i < C_c$ (5%), aceita-se a hipótese nula; $C_i > C_c$ (1%), rejeita-se a hipótese nula e valores de C_i entre C_c (5%) e C_c (1%) são considerados suspeitos.

Tabela 3. Teste de Cochran para os teores de umidade nos méis de *Melipona fasciculata* da Baixada Maranhense

| Umidade (%) | | | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------------|---------------------|-------------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Variância | Soma das Variâncias | Cochran (C) |
| SJB | 23,94 | 23,92 | 23,96 | 23,94 | 0,0004 | | 0,2553191 |
| BAR 1 | 22,13 | 22,11 | 22,14 | 22,13 | 0,000233333 | | 0,1489362 |
| LMAT | 24,17 | 24,17 | 24,18 | 24,17 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| ARA | 23,25 | 23,26 | 23,23 | 23,25 | 0,000233333 | | 0,1489362 |
| V.MEA | 24,28 | 24,28 | 24,27 | 24,28 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| S.VIC | 25,13 | 25,11 | 25,14 | 25,13 | 0,000233333 | | 0,1489362 |
| BAR 2 | 23,88 | 23,88 | 23,88 | 23,88 | 0 | 0,001566667 | 0 |
| S.VIC | 24,44 | 24,46 | 24,43 | 24,44 | 0,000233333 | | 0,1489362 |
| CAJ | 23,55 | 23,56 | 23,55 | 23,55 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| ANA | 25,44 | 25,44 | 25,43 | 25,44 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| S.BEN | 24,78 | 24,77 | 24,78 | 24,78 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| PAL1 | 23,65 | 23,65 | 23,66 | 23,65 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| PAL2 | 26,21 | 26,2 | 26,21 | 26,21 | 3,33333E-05 | | 0,0212766 |
| SJR | 26,89 | 26,89 | 26,89 | 26,89 | 0 | | 0 |

Tabela 4. Teste de Cochran para os teores de açúcares redutores nos méis de *Melipona fasciculata* da Baixada Maranhense

| Açúcares Redutores (%) | | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|--------------|-------------|---------------------|-------------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Variância | Soma das Variâncias | Cochran (C) |
| SJB | 62,93 | 62,91 | 62,95 | 62,93 | 0,0004 | | 0,1904762 |
| BAR 1 | 60,68 | 60,7 | 60,66 | 60,68 | 0,0004 | | 0,1904762 |
| LMAT | 61,44 | 61,44 | 61,44 | 61,44 | 0 | | 0 |
| ARA | 63,11 | 63,11 | 63,1 | 63,11 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| V.MEA | 62,43 | 62,44 | 62,42 | 62,43 | 1E-04 | | 0,047619 |
| S.VIC | 59,76 | 59,77 | 59,76 | 59,76 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| BAR 2 | 61,98 | 61,97 | 61,96 | 61,97 | 1E-04 | 0,0021 | 0,047619 |
| S.VIC | 63,66 | 63,66 | 63,66 | 63,66 | 0 | | 0 |
| CAJ | 64,23 | 64,2 | 64,26 | 64,23 | 0,0009 | | 0,4285714 |
| ANA | 58,34 | 58,34 | 58,35 | 58,34 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| S.BEN | 67,49 | 67,5 | 67,49 | 67,49 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| PAL1 | 60,10 | 60,1 | 60,11 | 60,10 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| PAL2 | 57,99 | 58 | 57,99 | 57,99 | 3,33333E-05 | | 0,015873 |
| SJR | 66,18 | 66,18 | 66,18 | 66,18 | 0 | | 0 |

Tabela 5. Teste de Cochran para os teores de acidez total nos méis de *Melipona fasciculata* da Baixada Maranhense

| Acidez Total (mEq/Kg) | | | | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------------------|-------------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Varlândia | Soma das Varlândas | Cochran (C) |
| SJB | 31,88 | 31,88 | 31,89 | 31,88 | 3,33333E-05 | 0,0009 | 0,037037 |
| BAR 1 | 29,22 | 29,23 | 29,22 | 29,22 | 3,33333E-05 | | 0,037037 |
| LMAT | 26,10 | 26,11 | 26,09 | 26,10 | 1E-04 | | 0,1111111 |
| ARA | 30,45 | 30,45 | 30,45 | 30,45 | 0 | | 0 |
| V.MEA | 23,87 | 23,86 | 23,88 | 23,87 | 1E-04 | | 0,1111111 |
| S.VIC | 26,76 | 26,76 | 26,76 | 26,76 | 0 | | 0 |
| BAR 2 | 28,56 | 28,55 | 28,56 | 28,56 | 3,33333E-05 | | 0,037037 |
| S.VIC | 30,06 | 30,06 | 30,06 | 30,06 | 0 | | 0 |
| CAJ | 33,03 | 33,01 | 33,05 | 33,03 | 0,0004 | | 0,4444444 |
| ANA | 28,87 | 28,88 | 28,87 | 28,87 | 3,33333E-05 | | 0,037037 |
| S.BEN | 31,65 | 31,64 | 31,65 | 31,65 | 3,33333E-05 | | 0,037037 |
| PAL1 | 30,98 | 30,99 | 30,97 | 30,98 | 1E-04 | | 0,1111111 |
| PAL2 | 27,09 | 27,09 | 27,08 | 27,09 | 3,33333E-05 | | 0,037037 |
| SJR | 26,13 | 26,13 | 26,13 | 26,13 | 0 | | 0 |

Tabela 6. Teste de Cochran para os teores de HMF nos méis de *Melipona fasciculata* da Baixada Maranhense

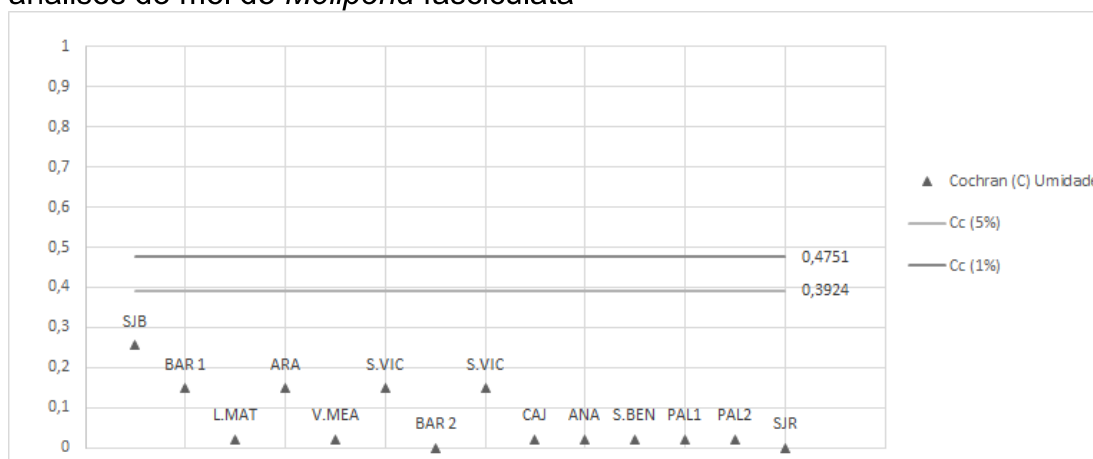
| HMF (mEq/Kg) | | | | | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------------------|-------------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Varlândia | Soma das Varlândas | Cochran (C) |
| SJB | 33,66 | 33,66 | 33,66 | 33,66 | 0 | | 0 |
| BAR 1 | 55,50 | 55,52 | 55,48 | 55,50 | 0,0004 | | 0,3333333 |
| LMAT | 80,41 | 80,4 | 80,39 | 80,40 | 1E-04 | | 0,0833333 |
| ARA | 46,61 | 46,61 | 46,63 | 46,62 | 0,000133333 | | 0,1111111 |
| V.MEA | 48,87 | 48,87 | 48,9 | 48,88 | 0,0003 | | 0,25 |
| S.VIC | 36,93 | 36,92 | 36,93 | 36,93 | 3,33333E-05 | | 0,0277778 |
| BAR 2 | 79,53 | 79,54 | 79,55 | 79,54 | 1E-04 | 0,0012 | 0,0833333 |
| S.VIC | 43,08 | 43,08 | 43,09 | 43,08 | 3,33333E-05 | | 0,0277778 |
| CAJ | 41,22 | 41,22 | 41,23 | 41,22 | 3,33333E-05 | | 0,0277778 |
| ANA | 33,24 | 33,23 | 33,24 | 33,24 | 3,33333E-05 | | 0,0277778 |
| S.BEN | 70,13 | 70,13 | 70,13 | 70,13 | 0 | | 0 |
| PAL1 | 46,94 | 46,94 | 46,94 | 46,94 | 0 | | 0 |
| PAL2 | 25,73 | 25,73 | 25,74 | 25,73 | 3,33333E-05 | | 0,0277778 |
| SJR | 62,23 | 62,23 | 62,23 | 62,23 | 0 | | 0 |

Tabela 7. Teste de Cochran para os teores de cinzas nos méis de *Melipona fasciculata* da Baixada Maranhense

| Teor de cinzas (%) | | | | | | |
|--------------------|------|------|------|-------|-------------|-------------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Varlândia | Cochran (C) |
| SJB | 0,22 | 0,19 | 0,24 | 0,22 | 0,000633333 | 0,6333333 |
| BAR 1 | 0,31 | 0,3 | 0,31 | 0,31 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| LMAT | 0,28 | 0,28 | 0,27 | 0,28 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| ARA | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 1,15556E-33 | 1,156E-30 |
| V.MEA | 0,17 | 0,18 | 0,17 | 0,17 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| S.VIC | 0,20 | 0,2 | 0,2 | 0,20 | 1,15556E-33 | 1,156E-30 |
| BAR 2 | 0,21 | 0,21 | 0,2 | 0,21 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| S.VIC | 0,27 | 0,26 | 0,27 | 0,27 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| CAJ | 0,41 | 0,4 | 0,41 | 0,41 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| ANA | 0,22 | 0,23 | 0,22 | 0,22 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |
| S.BEN | 0,27 | 0,27 | 0,27 | 0,27 | 0 | 0 |
| PAL1 | 0,32 | 0,31 | 0,33 | 0,32 | 0,0001 | 0,1 |
| PAL2 | 0,32 | 0,32 | 0,32 | 0,32 | 0 | 0 |
| SJR | 0,29 | 0,29 | 0,28 | 0,29 | 3,33333E-05 | 0,0333333 |

Os valores de C_c (5%) e C_c (1%) para o conjunto de dados estudados são 0,3924 e 0,4751, respectivamente. Assim para valores de $C < 0,3924$, aceita-se a hipótese nula; $C > 0,4751$, rejeita-se a hipótese nula e valores de C entre 0,3924 e 0,4751 são considerados suspeitos. A fim de facilitar a análise dos dados foram criados gráficos para avaliação e exclusão dos outliers de maneira mais efetiva.

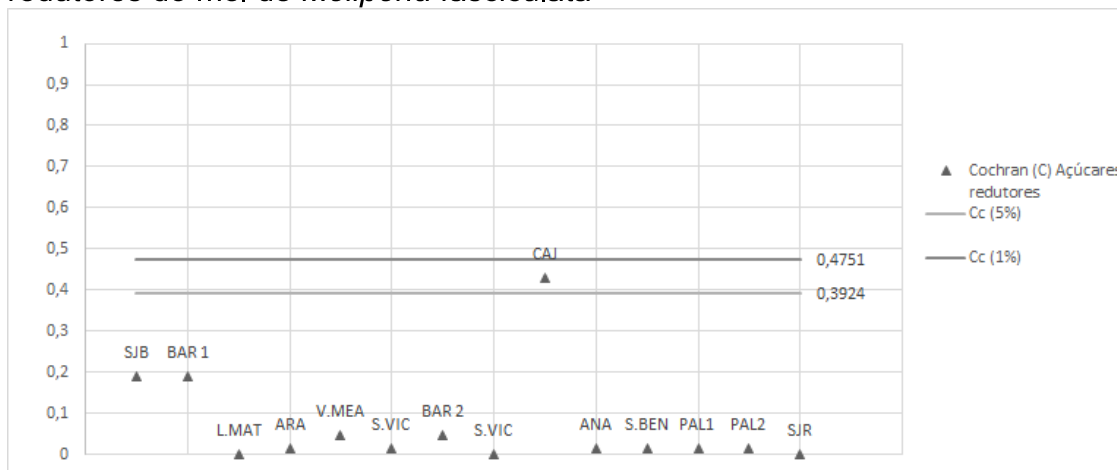
Gráfico 14. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de umidade das análises do mel de *Melipona fasciculata*



Conforme observado no gráfico, todos os valores de C_i foram menores que o C_c (5%), 0,3924. Assim, nenhum dos valores foi excluído do conjunto de dados deste estudo. Apontando precisão satisfatória dos métodos de coleta e

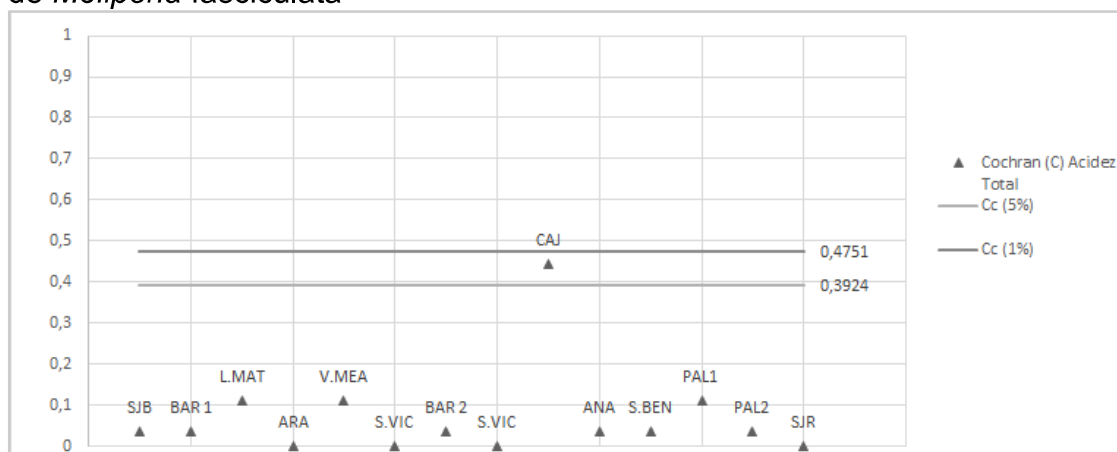
análise das amostras coletadas. O gráfico 15 apresenta a análise de Cochran para os teores de açúcares redutores.

Gráfico 15. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de açúcares redutores do mel de *Melipona fasciculata*



Pelo gráfico é possível observar que as análises apresentaram variâncias satisfatórias para a maioria das amostras analisadas ($C_i < 0,3924$), com exceção dos valores medidos para as amostras do município de Cajapió, cujo C_i apresentou valor entre C_c (5%) e C_c (1%). Este valor é considerado um valor suspeito, porém por ser a única amostra daquela região, optou-se por manter os valores no conjunto de dados, para que os valores de referência levem em consideração os produtos deste município.

Gráfico 16. Análise de Cochran para as variâncias dos níveis de acidez do mel de *Melipona fasciculata*

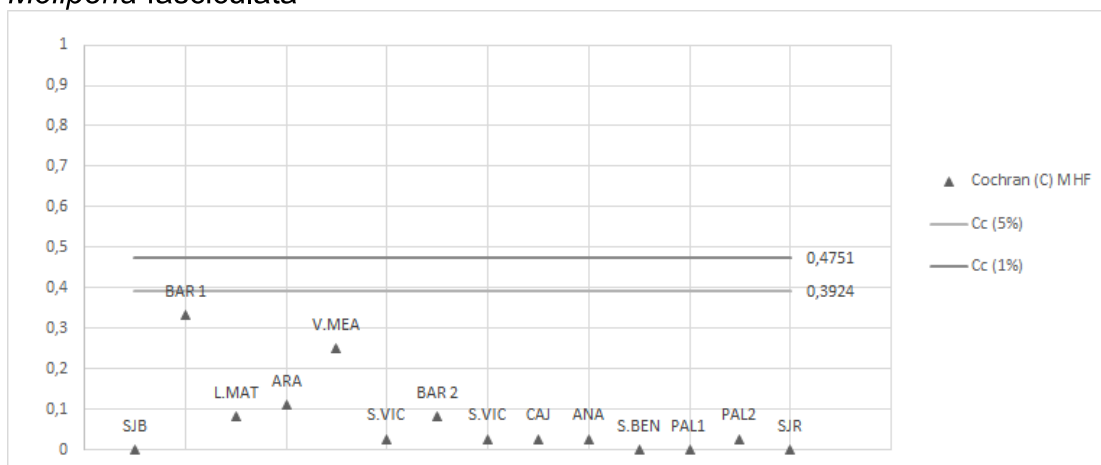


Semelhante aos valores observados para açúcares redutores (Gráfico 15), os níveis de acidez total também apresentaram variabilidade suspeita para

as amostras de Cajapió, segundo a análise do teste de Cochran (Gráfico 16). Por analogia, optou-se pela manutenção destes valores.

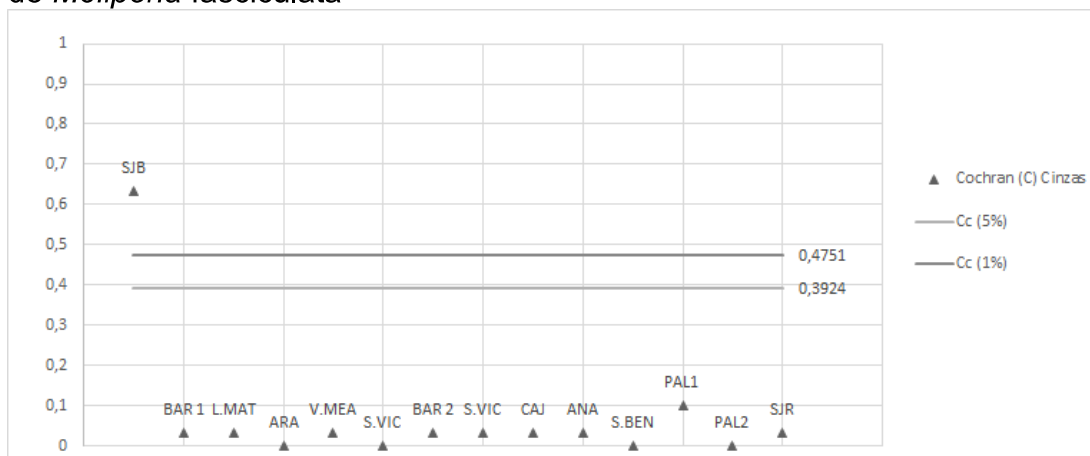
O gráfico 17 apresenta a análise de Cochran para as variâncias dos teores de HMF. Conforme observado, não foram encontradas variações suspeitas. Todos os valores calculados foram menores que o C_c (5%) indicando baixa variabilidade entre as amostras estudadas. Assim, foram mantidos todos os valores do conjunto de dados.

Gráfico 17. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de HMF do mel de *Melipona fasciculata*



Por fim, os dados das variâncias para as análises dos teores de cinzas são apresentados no gráfico 18. Neste caso, observa-se que uma das regiões analisadas apresentou variância significativamente alta em relação aos demais dados. Neste caso rejeita-se a hipótese nula, pois o C_i foi maior que o C_c (1%). Neste caso os valores foram excluídos do conjunto de dados para avaliação do parâmetro teor de cinzas.

Gráfico 18. Análise de Cochran para as variâncias dos teores de Cinzas do mel de *Melipona fasciculata*



Vale destacar que os valores excluídos pelo teste de Cochran não anulam a necessidade de se estudar as relações de causa e efeito para os níveis de variação apontados para as análises do município de São João Batista. Outro destaque é que esta exclusão se dá tão somente por conta da variabilidade entre as replicatas das análises para este parâmetro, não havendo a necessidade de se excluirmos os resultados de outros indicadores de qualidade para este município.

O teste de Grubbs é aplicado com uma finalidade diferente do teste de Cochran. Aqui foram excluídos os valores discrepantes dos conjuntos de dados, independente do meliponário que os geraram. Além disso, este teste foi aplicado após a exclusão dos resultados dos meliponários com variâncias elevadas. Este teste é dividido em duas etapas. Na primeira, foi avaliado se os maiores e menores valores do conjunto de dados são considerados outliers. Os gráficos que seguem apresentam a análise de Grubbs para os valores de G_i para os dados extremos dos conjuntos de cada parâmetro de interesse das amostras de mel da região da Baixada Maranhense. Nesta etapa os critérios de avaliação são iguais aos do teste de Cochran.

Tabela 8. Análise de Grubbs para os teores de Cinzas do mel de *Melipona fasciculata*

| Umidade (%) | | | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|------------|---------|---------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Grubbs (Z) | Zc (5%) | Zc (1%) |
| SJB | 23,94 | 23,92 | 23,96 | 23,94 | 0,38 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 1 | 22,13 | 22,11 | 22,14 | 22,13 | 1,86 | 2,37 | 2,66 |
| L.MAT | 24,17 | 24,17 | 24,18 | 24,17 | 0,20 | 2,37 | 2,66 |
| ARA | 23,25 | 23,26 | 23,23 | 23,25 | 0,95 | 2,37 | 2,66 |
| V.MEA | 24,28 | 24,28 | 24,27 | 24,28 | 0,11 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 25,13 | 25,11 | 25,14 | 25,13 | -0,59 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 2 | 23,88 | 23,88 | 23,88 | 23,88 | 0,43 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 24,44 | 24,46 | 24,43 | 24,44 | -0,02 | 2,37 | 2,66 |
| CAJ | 23,55 | 23,56 | 23,55 | 23,55 | 0,70 | 2,37 | 2,66 |
| ANA | 25,44 | 25,44 | 25,43 | 25,44 | -0,84 | 2,37 | 2,66 |
| S.BEN | 24,78 | 24,77 | 24,78 | 24,78 | -0,30 | 2,37 | 2,66 |
| PAL1 | 23,65 | 23,65 | 23,66 | 23,65 | 0,62 | 2,37 | 2,66 |
| PAL2 | 26,21 | 26,20 | 26,21 | 26,21 | -1,47 | 2,37 | 2,66 |
| SJR | 26,89 | 26,89 | 26,89 | 26,89 | -2,02 | 2,37 | 2,66 |

Conforme observado na tabela 8, não foram encontrados valores discrepantes em nenhuma das extremidades dos conjuntos de dados para os teores de umidade do mel de Tiúba, da região da Baixada Maranhense, pois em nenhum dos casos o valor de Z calculado excedeu 2,66, que é o valor de Zc (1%). Assim, o valor médio dos teores de umidade pode servir como parâmetro de qualidade para os méis dessas espécies de abelhas daquela região.

Tabela 9. Análise de Grubbs para os teores de Açúcares Redutores do mel de *Melipona fasciculata*

| Açúcares Redutores (%) | | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|------------|---------|---------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Grubbs (Z) | Zc (5%) | Zc (1%) |
| SJB | 62,93 | 62,91 | 62,95 | 62,93 | -0,28 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 1 | 60,68 | 60,70 | 60,66 | 60,68 | 0,54 | 2,37 | 2,66 |
| L.MAT | 61,44 | 61,44 | 61,44 | 61,44 | 0,27 | 2,37 | 2,66 |
| ARA | 63,11 | 63,11 | 63,10 | 63,11 | -0,34 | 2,37 | 2,66 |
| V.MEA | 62,43 | 62,44 | 62,42 | 62,43 | -0,10 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 59,76 | 59,77 | 59,76 | 59,76 | 0,88 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 2 | 61,98 | 61,97 | 61,96 | 61,97 | 0,07 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 63,66 | 63,66 | 63,66 | 63,66 | -0,55 | 2,37 | 2,66 |
| CAJ | 64,23 | 64,20 | 64,26 | 64,23 | -0,75 | 2,37 | 2,66 |
| ANA | 58,34 | 58,34 | 58,35 | 58,34 | 1,40 | 2,37 | 2,66 |
| S.BEN | 67,49 | 67,50 | 67,49 | 67,49 | -1,95 | 2,37 | 2,66 |
| PAL1 | 60,10 | 60,10 | 60,11 | 60,10 | 0,75 | 2,37 | 2,66 |
| PAL2 | 57,99 | 58,00 | 57,99 | 57,99 | 1,53 | 2,37 | 2,66 |
| SJR | 66,18 | 66,18 | 66,18 | 66,18 | -1,47 | 2,37 | 2,66 |

Da mesma maneira, não foram encontrados valores discrepantes em nenhuma das extremidades dos conjuntos de dados para os teores de açúcares

redutores do mel de Tiúba, da região da Baixada Maranhense, pois em nenhum dos casos o valor de Z calculado excedeu o Zc (1%), 2,66.

Tabela 10. Análise de Grubbs para Acidez Total do mel de *Melipona fasciculata*

| Acidez Total (mEq/Kg) | | | | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------|---------|---------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Grubbs (Z) | Zc (5%) | Zc (1%) |
| SJB | 31,88 | 31,88 | 31,89 | 31,88 | -1,13 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 1 | 29,22 | 29,23 | 29,22 | 29,22 | -0,12 | 2,37 | 2,66 |
| L.MAT | 26,10 | 26,11 | 26,09 | 26,10 | 1,06 | 2,37 | 2,66 |
| ARA | 30,45 | 30,45 | 30,45 | 30,45 | -0,59 | 2,37 | 2,66 |
| V.MEA | 23,87 | 23,86 | 23,88 | 23,87 | 1,91 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 26,76 | 26,76 | 26,76 | 26,76 | 0,81 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 2 | 28,56 | 28,55 | 28,56 | 28,56 | 0,13 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 30,06 | 30,06 | 30,06 | 30,06 | -0,44 | 2,37 | 2,66 |
| CAJ | 33,03 | 33,01 | 33,05 | 33,03 | -1,56 | 2,37 | 2,66 |
| ANA | 28,87 | 28,88 | 28,87 | 28,87 | 0,01 | 2,37 | 2,66 |
| S.BEN | 31,65 | 31,64 | 31,65 | 31,65 | -1,04 | 2,37 | 2,66 |
| PAL1 | 30,98 | 30,99 | 30,97 | 30,98 | -0,79 | 2,37 | 2,66 |
| PAL2 | 27,09 | 27,09 | 27,08 | 27,09 | 0,69 | 2,37 | 2,66 |
| SJR | 26,13 | 26,13 | 26,13 | 26,13 | 1,05 | 2,37 | 2,66 |

O conjunto de dados de acidez total também não apresentou outliers. Nenhum dos valores de Z calculados foi maior que o Zc (1%). A ausência de valores discrepantes nas extremidades dos conjuntos indicam que apesar das abelhas estarem distribuídas em diferentes municípios na região da Baixada maranhense, os padrões de visitação da florada, bem como os mecanismos de processamento do mel no organismo das abelhas é semelhante. Isto indica que se tratam das mesmas espécies de abelhas em todos os meliponários onde as amostras foram coletadas. Além disso, estes valores sugerem níveis satisfatórios de repetitividade e reprodutibilidade dos métodos empregados nas análises.

Tabela 11. Análise de Grubbs para os teores de Hidroxmeilfurfural do mel de *Melipona fasciculata*

| HMF (mEq/Kg) | | | | | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|------------|---------|---------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Grubbs (Z) | Zc (5%) | Zc (1%) |
| SJB | 33,66 | 33,66 | 33,66 | 33,66 | 0,97 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 1 | 55,50 | 55,52 | 55,48 | 55,50 | -0,30 | 2,37 | 2,66 |
| L.MAT | 80,41 | 80,40 | 80,39 | 80,40 | -1,75 | 2,37 | 2,66 |
| ARA | 46,61 | 46,61 | 46,63 | 46,62 | 0,21 | 2,37 | 2,66 |
| V.MEA | 48,87 | 48,87 | 48,90 | 48,88 | 0,08 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 36,93 | 36,92 | 36,93 | 36,93 | 0,78 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 2 | 79,53 | 79,54 | 79,55 | 79,54 | -1,70 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 43,08 | 43,08 | 43,09 | 43,08 | 0,42 | 2,37 | 2,66 |
| CAJ | 41,22 | 41,22 | 41,23 | 41,22 | 0,53 | 2,37 | 2,66 |
| ANA | 33,24 | 33,23 | 33,24 | 33,24 | 0,99 | 2,37 | 2,66 |
| S.BEN | 70,13 | 70,13 | 70,13 | 70,13 | -1,15 | 2,37 | 2,66 |
| PAL1 | 46,94 | 46,94 | 46,94 | 46,94 | 0,20 | 2,37 | 2,66 |
| PAL2 | 25,73 | 25,73 | 25,74 | 25,73 | 1,43 | 2,37 | 2,66 |
| SJR | 62,23 | 62,23 | 62,23 | 62,23 | -0,70 | 2,37 | 2,66 |

Tabela 12. Análise de Grubbs para Teores de Cinzas do mel de *Melipona fasciculata*

| Teor de cinzas (%) | | | | | | | |
|--------------------|------|------|------|-------|------------|---------|---------|
| Localidade | M1 | M2 | M3 | Média | Grubbs (Z) | Zc (5%) | Zc (1%) |
| SJB | 0,22 | 0,19 | 0,24 | 0,22 | 0,65 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 1 | 0,31 | 0,30 | 0,31 | 0,31 | -0,72 | 2,37 | 2,66 |
| L.MAT | 0,28 | 0,28 | 0,27 | 0,28 | -0,26 | 2,37 | 2,66 |
| ARA | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 1,11 | 2,37 | 2,66 |
| V.MEA | 0,17 | 0,18 | 0,17 | 0,17 | 1,42 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,96 | 2,37 | 2,66 |
| BAR 2 | 0,21 | 0,21 | 0,20 | 0,21 | 0,81 | 2,37 | 2,66 |
| S.VIC | 0,27 | 0,26 | 0,27 | 0,27 | -0,11 | 2,37 | 2,66 |
| CAJ | 0,41 | 0,40 | 0,41 | 0,41 | -2,24 | 2,37 | 2,66 |
| ANA | 0,22 | 0,23 | 0,22 | 0,22 | 0,65 | 2,37 | 2,66 |
| S.BEN | 0,27 | 0,27 | 0,27 | 0,27 | -0,11 | 2,37 | 2,66 |
| PAL1 | 0,32 | 0,31 | 0,33 | 0,32 | -0,87 | 2,37 | 2,66 |
| PAL2 | 0,32 | 0,32 | 0,32 | 0,32 | -0,87 | 2,37 | 2,66 |
| SJR | 0,29 | 0,29 | 0,28 | 0,29 | -0,41 | 2,37 | 2,66 |

Por fim, os valores de Z calculados para os teores de HMF e cinzas dos conjuntos de dados também não excederam o valor de Zc (1%), ficando todos abaixo do valor de Zc (5%). Portanto, para estes parâmetros também não foram encontrados valores discrepantes, conforme as tabelas 11 e 12.

No teste de Grubbs, a segunda etapa consiste em avaliar se os dois valores das extremidades dos conjuntos são anômalos. Neste caso, calcula-se a

soma dos quadrados das diferenças em relação à sua média considerando todos os resultados e a soma dos quadrados das diferenças em relação à nova média, excluídos os dois menores e os dois maiores valores. Os critérios de avaliação são invertidos. Aceita-se a hipótese nula quando os valores de $G''(\max)$ e $G''(\min)$ são maiores que o G crítico tabelado para 5% de confiança. O gráfico 19 mostra os resultados da segunda etapa do teste de Grubbs para o mel de Tiúba.

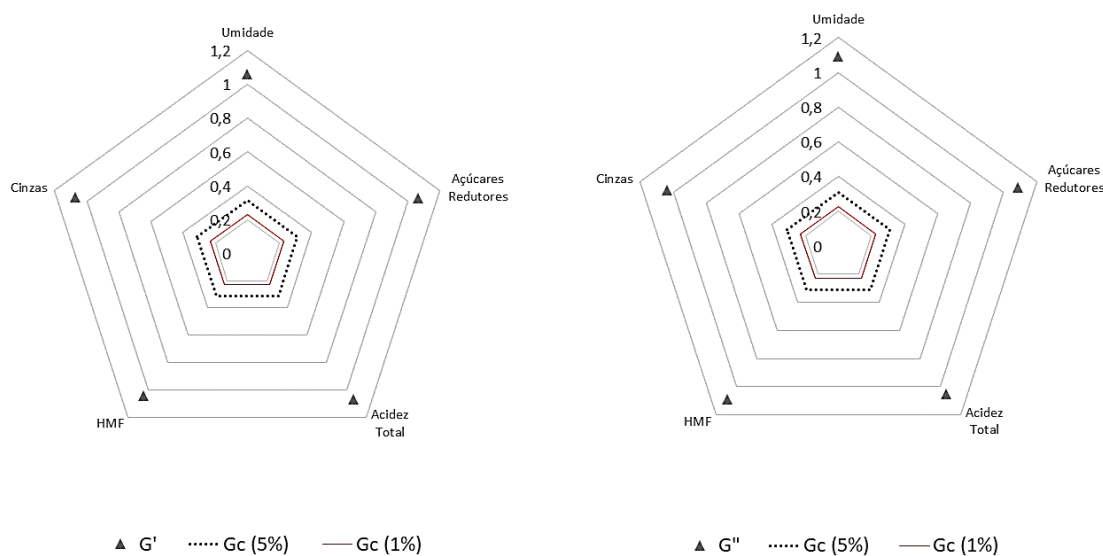


Gráfico 19. Segundo passo de teste de Grubbs aplicado aos dois valores mínimos (a) e máximos (b) do conjunto de dados.

Pelos gráficos observa-se que nenhum dos conjuntos de dados apresentou valores discrepantes nas extremidades, pois para todos os conjuntos de dados os valores de G' e G'' ficaram acima do G_c (5%). Assim, não foram encontrados valores anômalos para os dados fornecidos pelos meliponíneos participantes deste estudo.

Com o objetivo de se testar diferenças significativas entre as médias de vários conjuntos de resultados, separar e estimar as variabilidades associadas com os meliponíneos, utilizou-se a análise de variância fator único (ANOVA). Esta é uma metodologia robusta e confiável utilizada para comparações múltiplas como nos testes realizados em análises para determinação de um perfil de qualidade do mel (ZUCCHINI *et al.*, 2003). A tabela 13 apresentam as análises de variâncias

para os parâmetros umidade, açúcares redutores, acidez total, HMF e teores de cinzas, respectivamente.

Tabela 13. ANOVA análises mel de *Melipona fasciculata* de diferentes produtores do Maranhão

| <i>ANOVA - Umidade</i> | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------|----------------|------------------|
| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
| Entre grupos | 58,59174524 | 13 | 4,50706 | 40275,83142 | 3,36671E-56 | 2,08893 |
| Dentro dos grupos | 0,003133333 | 28 | 0,00011 | | | |
| Total | 58,59487857 | 41 | | | | |
| <i>ANOVA - Açúcares Redutores</i> | | | | | | |
| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
| Entre grupos | 292,0442119 | 13 | 22,4649 | 149766,2625 | 3,48624E-64 | 2,08893 |
| Dentro dos grupos | 0,0042 | 28 | 0,00015 | | | |
| Total | 292,0484119 | 41 | | | | |
| <i>ANOVA - Acidez Total</i> | | | | | | |
| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
| Entre grupos | 180,9787429 | 13 | 13,9214 | 114647,1674 | 7,6065E-33 | 2,50726 |
| Dentro dos grupos | 0,0017 | 14 | 0,00012 | | | |
| Total | 180,9804429 | 27 | | | | |
| <i>ANOVA - HMF</i> | | | | | | |
| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
| Entre grupos | 11506,00166 | 13 | 885,077 | 10325898,92 | 6,35743E-90 | 2,08893 |
| Dentro dos grupos | 0,0024 | 28 | 8,6E-05 | | | |
| Total | 11506,00406 | 41 | | | | |
| <i>ANOVA - Teor de Cinzas</i> | | | | | | |
| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
| Entre grupos | 0,162183333 | 13 | 0,01248 | 174,6589744 | 3,20458E-23 | 2,08893 |
| Dentro dos grupos | 0,002 | 28 | 7,1E-05 | | | |
| Total | 0,164183333 | 41 | | | | |

Pela análise de variância fator único, aplicada aos parâmetros de interesse de maneira independente, observou-se a existência de diferenças significativas entre os meliponíneos produtores de mel de Tiúba. Esta diferença pode ser notada quando compara-se os valores de F calculados, com os valores de F crítico para anova. Em todos os casos, os valores de F excederam os valores de F crítico. Estes resultados são atestados pelos valores de P menores que 0,05 associados a todos os parâmetros testados.

Estes resultados comprovam a discussão em torno das dificuldades de se estabelecerem parâmetros de qualidade para o mel de abelhas nativas. Esta dificuldade está associada às diferentes características de comportamento entre as abelhas em função do clima, solo, florada, umidade relativa do ar e temperatura

(BILUCA *et al.*, 2016; DUARTE *et al.*, 2018). Tais fatores são potencializados na região da Amazônia maranhense, pois a diversidade vegetal e as diferenças climáticas são mais pronunciadas pelo fato de se tratar de uma região de transição entre o cerrado e a floresta amazônica.

A literatura recente apresenta algumas soluções para este problema à luz do estabelecimento de uma legislação local ou regional para os produtos naturais com características específicas, como os méis de abelhas sem ferrão. A Lei 13.680 (BRASIL, 2018) criou o “Selo Arte” e trouxe avanços significativos para a comercialização do mel de melíponas em todo território nacional. A norma enfatiza que os produtos artesanais de origem animal, fiscalizados em esferas regionais (municipal ou estadual) têm a sua comercialização permitida em todo o território nacional, devendo apresentar o Selo Arte e seguir as suas normas de aplicação na embalagem dos produtos artesanais (REGINATO KOSER; BARBIÉRI; FRANCOY, 2020).

A tabela a seguir apresenta a matriz de correlação de Pearson entre as variáveis, umidade, açúcares redutores, pH, acidez total, teores de HMF, inibição de DPPH e teores de cinzas.

Tabela 14: Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis, umidade, açúcares redutores, pH, acidez total, teores de HMF, inibição de DPPH e teores de cinzas

| | Umidade (%) | Açúcares Redutores (%) | pH | Acidez Total (mEq/Kg) | HMF (mEq/Kg) | Inibição DPPH (%) | Cinzas (%) |
|------------------------|--------------|------------------------|--------------|-----------------------|--------------|--------------------|------------|
| Umidade (%) | 1 | | | | | | |
| Açúcares Redutores (%) | 0,0171232 | 1 | | | | | |
| pH | -0,069644524 | 0,067445759 | 1 | | | | |
| Acidez Total (mEq/Kg) | -0,432872275 | 0,280580094 | 0,123531378 | 1 | | | |
| HMF (mEq/Kg) | -0,170352836 | 0,457003324 | 0,168858361 | -0,167184181 | 1 | | |
| Inibição DPPH (%) | -0,264877804 | 0,144941835 | -0,025320121 | 0,540564316 | -0,077673795 | 1 | |
| Cinzas (%) | -0,050903002 | 0,094798897 | 0,128397158 | 0,410573474 | -0,042044296 | 0,857695937 | 1 |

Tomando por referência a variável inibição de DPPH, pois este parâmetro aponta para a capacidade antioxidante das amostras de méis estudadas, observa-se os parâmetros que apresentaram correlação mais significativa foram a acidez total ($r=0,54056$) e os teores de cinzas das amostras ($r=0,85769$). A forte correlação positiva entre teores de cinzas e inibição de DPPH, indica que os teores de minerais presentes nos méis de Tiúba da região da Baixada Maranhense exercem influência sobre a capacidade antioxidante de tal produto natural.

A literatura aponta alguns minerais como tendo capacidade antioxidante. São eles o magnésio, cobre, selênio e zinco. Estes compostos atuam em processos de atenuação do estresse oxidativo por meio de diferentes mecanismos. Um desses mecanismos é por meio da inibição da formação de radicais livres. Outra forma de agir dos minerais antioxidantes é por meio da neutralização de radicais livres. Por fim, o reparo de estruturas biológicas é outra forma de atuação destes agentes antioxidantes no organismo (MISTRY; WILLIAMS, 2011).

A partir destas informações buscou-se investigar a existência de correlação linear entre os teores de cinzas e a capacidade de inibição do íon DPPH, conforme o gráfico 20.

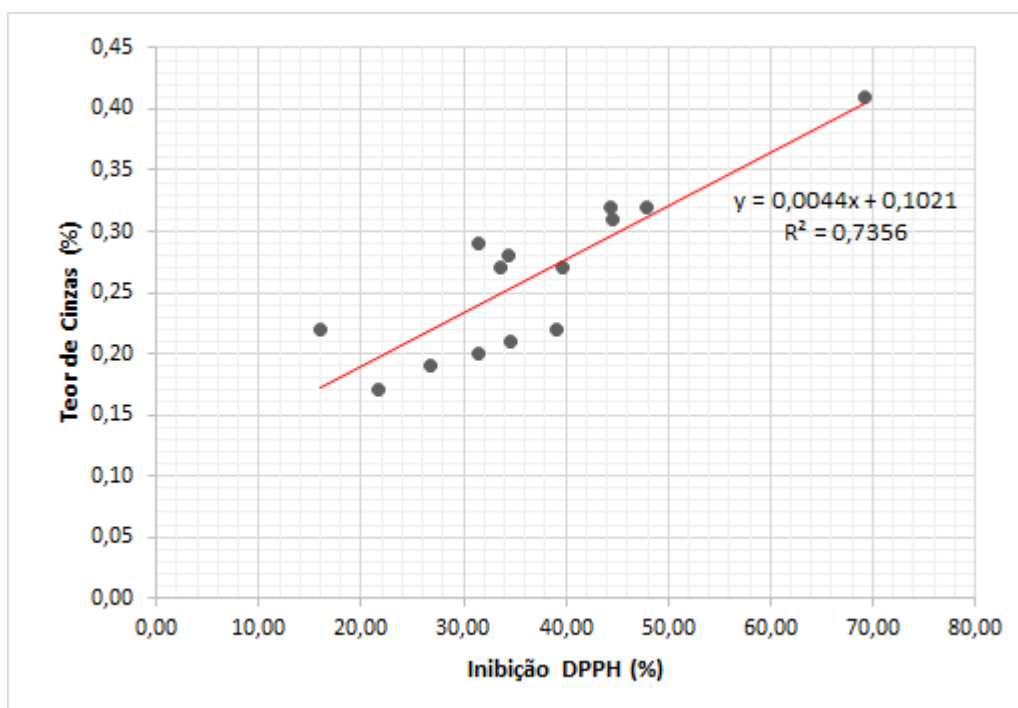


Gráfico 20: Correlação linear entre os teores de cinzas e a capacidade de inibição do íon DPPH

Considerando a presença de diferentes tipos de minerais nas amostras, o valor de R^2 aponta para certa linearidade entre os teores de minerais e a inibição de DPPH. Este dado também indica a presença de minerais antioxidantes nas amostras, em especial o Zn, uma vez que presença deste mineral contribui para a formação de méis de coloração mais clara, conforme observado nas amostras da Baixada Maranhense (Lacerda *et al.*, 2010).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos dados gerais do presente estudo estarem alinhados e em conformidade com a literatura, tanto recente quanto passada, tais valores ainda são divergentes quando comparados à legislação vigente no Brasil, para qualidade do mel de *Apis*, que estabelece a maioria dos parâmetros de qualidade. Tal observação coaduna para a necessidade do estabelecimento de legislação específica para os méis de abelhas nativas, dado o potencial de aplicação e a aceitação deste produto natural junto ao mercado consumidor.

As amostras de mel de Tiúba, analisadas neste estudo apresentam valores adequados de HMF, considerando as condições climáticas da Baixada Maranhense e os requisitos estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*. Tal fato aponta para a ausência de problemas relacionados ao armazenamento prolongado sob condições inadequadas como superaquecimento, ou adulteração causada pela adição de açúcar invertido.

Os méis de *Melipona fasciculata* Smith apresentaram capacidade sequestradora de radicais livres (DPPH) numa faixa elevada. Os percentuais chegaram a valores próximos a 70%, o que indica alta atividade antioxidante. Esta atividade é maior que outros produtos e méis de outras regiões do país, listados na literatura, indicando elevado valor agregado ao produto e grande potencial industrial e mercadológico.

A forte correlação positiva entre teores de cinzas e inibição de DPPH, indica que os teores de minerais presentes nos méis de Tiúba da região da Baixada Maranhense exercem influência sobre a capacidade antioxidante de tal produto natural.

REFERÊNCIAS

ABD JALIL, M. A.; KASMURI, A. R.; HADI, H. Stingless Bee Honey, the Natural Wound Healer: A Review. *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 30, n. 2, p. 66-75, 2017.

ALMEIDA, D. de. Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado do município de Pirassununga, Estado de São Paulo. 2002. 103f. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

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

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, p. 2490-2499, 2011.

ALVES, Diego Felipe Sampaio ; CABRAL JUNIOR, Francisco das Chagas; CABRAL, Pedro Paulo de Arruda ; OLIVEIRA JUNIOR, Ruy Medeiros de ; REGO, Amália Cíntia Meneses do ; MEDEIROS, Aldo Cunha. Effects of topical application of the honey of *melipona subnitida* in infected wounds of rats. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 35, p. 188-193, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912008000300010> Acesso em: 19 set. 2013.

ALVES, Rogério Marcos de Oliveira *et al.* Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas , v. 25, n. 4, p. 644-650, Dez. 2005. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 09 Sept. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000400004>

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

Aroucha EMM, Silva MCP, Leite RHL, Santos FKG, Oliveira VRL, *et al.* (2019) Physicochemical, Antioxidants and Sensorials Properties of *Melipona subnitida* Honey after Dehumidifying. *J Food Process Technol* 10: 781. doi: 10.4172/2157-7110.1000781

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th. v. II., 2000.

ÁVILA, SUELEN. Determinação de parâmetros de qualidade de mel de abelhas sem ferrão utilizando ferramentas quimiométricas. 2019. 136 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2019.

Ávila, S., Lazzarotto, M., Hornung, P.S. *et al.* Influence of stingless bee genus (*Scaptotrigona* and *Melipona*) on the mineral content, physicochemical and microbiological properties of honey. *J Food Sci Technol* 56, 4742–4748 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03939-8>

AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; BESER, L. B. de O.; COSTA, V. C. S.; SILVA, V. A. G. da. Características físico-químicas de amostras de méis de melíponas coletadas no estado de Tocantins. In: XIII Congresso Brasileiro de Apicultura, Florianópolis, SC, 2000. 1 CD-rom.

BALEM, T. A.; ALVES, E. O.; COELHO, J. C.; MELLO, A. L. P. As transformações alimentares na sociedade moderna: a colonização do alimento natural pelo alimento industrial. *Revista Espacios*, v. 38, n. 47, 2017.

BERTOLDI, F. C.; REIS, V. D. A.; GONZAGA, L. V.; CONGRO, C. R. Caracterização físico-química e sensorial de amostras de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) produzidas no pantanal. *Evidência Biotecnol. Alimentos*, v. 7, 2007.

Bianchi, E. M.; *La miel, características y composición, Análisis y Adulteraciones*, UNSE-CEDIA: Santiago Del Estero, 1981.

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, n. July, p. 61– 69, 2016.

Biluca, Fabíola Carina; Braghini, Francieli; Gonzaga, Luciano Valdemiro; Costa, Ana Carolina Oliveira; Fett, Roseane; Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (*Meliponinae*), *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 50, 2016, Pages 61-69, ISSN 0889-1575, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.007>.
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157516300643>)

BITTAR, Dayana Borges; CATELANI, Tiago Augusto; PEZZA, Leonardo; PEZZA, Helena Redigolo. A fast method for the determination of lead in honey samples using stabilizer-free silver nanoparticles, **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Volume 189, 2018, p. 221-226, ISSN 1386-1425, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.08.032>.

BLASA, M.; CANDIRACCI, M.; ACCORSI, A.; PIACENTINI, M. P.; ALBERTINI, M.C.; PIATTI, E. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, v. 97, p. 217-222, 2006.

Bogdanov, S.; Lüllmann, C.; Martin, P.; Ohe, W. V.; Russmann, H.; Vorwohl, G.; Persano-Oddo, L.; Sabatini, A. G.; Marcazzan, G. L.; Piro, R.; Flamini, C.; Morlot, M.; Lhéritier, J.; Borneck, R.; Marioleas, P.; Tsigouri, A.; Kerkvliet, J.; Ortiz, A.; Ivanov, T.; D'Arcy, B.; Mossel, B.; Vit, P.; *Bee World* 1999, 80, 61.

Bogdanov, Stefan; Martin, Peter. Honey Authenticity: a Review. *Mitt. Lebensm. Hyg*, 2001, 93.

Bonsucesso, Josemário S ; Gloaguen, Thomas V ; Do Nascimento, Andreia S ; De Carvalho, Carlos Alfredo L ; De S Dias, Fabio. The Science of the total environment, 01 September 2018, Vol.634, pp.687-694.

Boussaid, Amel; Moncef Chouaibi, Leila Rezig, Raoudha Hellal, Francesco Donsi, Giovanna Ferrari, Salem Hamdi, Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 11, Issue 2, 2018, Pages 265-274, ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.011>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/IN-11-de-2000.pdf>. Acesso em: 09 setembro de 19.

CANO, Cristiane Bonaldi; FELSNER, Maria Lurdes; BRUNS, Roy Edward. Precisão dos métodos refratométricos para análise de umidade em mel. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas , v. 27, n. 2, p. 328-332, June 2007 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200021&lng=en&nrm=iso. access on 22 May 2020. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200021>.

CARVALHO, Carlos A.L. *et al.* . Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro , v. 81, n. 1, p. 143-149, Mar. 2009 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652009000100015&lng=en&nrm=iso. access on 06 June 2020. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652009000100015>.

CAUICH KUMUL, Roger *et al.* Potencial antioxidante de la miel de *Melipona* beecheii y su relación con la salud: una revisión. *Nutr. Hosp.*, Madrid , v. 32, n. 4, p. 1432-1442, oct. 2015. Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112015001000004&lng=es&nrm=iso. accedido en 09 oct. 2019. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9312>.

CHUI, Queenie Siu Hang; BISPO, João Marcos de Almeida; IAMASHITA, Célia Omine. O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos. *Quím. Nova*, São Paulo , v. 27, n. 6, p. 993-1003, Dec. 2004 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000600026&lng=en&nrm=iso. access on 01 June 2020. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000600026>.

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, 2016a.

CHUTTONG, B.; CHANBANG, Y.; SRINGARM, K.; BURGETT, M. Effects of long term storage on stingless bee (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) honey.

Journal of Apicultural Research, v. 54, n. 5, p. 441–451, 2016b. COUTO, R. H. N; COUTO, L. A. Apicultura: manejo e produtos. Jaboticabal: UNESP, 1996. 154p.

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

DUARTE, Alysson Wagner Fernandes *et al.* . Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. Food Sci. Technol, Campinas , v. 38, n. 3, p. 493-503, July 2018 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612018000300493&lng=en&nrm=iso>. access on 06 June 2020. Epub June 11, 2018. <https://doi.org/10.1590/fst.09317>.

DUTRA, R. P.; NOGUEIRA, A. M. C.; MARQUES, R. R. O.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada Maranhense, Brasil. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 18, n. 4, p. 557-562, 2008.

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

Estevinho, M. L.; Food Chem. 2009,114,1438.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana *et al.* . Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. Cienc. Rural, Santa Maria , v. 35, n. 5, p. 1166-1171, Oct. 2005 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000500028&lng=en&nrm=iso>. access on 07 June 2020. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000500028>.

Fallico B., Zappalà M., Arena E. & Verzera, A. 2004. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. **Food Chemistry**, 85(2): 305-313.

FARRANT, T.; Practical Statistics For The Analytical Scientist – A Bench Guide, LGC/RSC, UK, 1997. 282 p.

FERNANDES, Rachel Torquato. Características de qualidade do mel de abelha Tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae), como contribuição para sua regulamentação. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2017. 133 f

FERNANDES, Rachel Torquato; ROSA, Ivone Garros; CONTI-SILVA, Ana Carolina. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. Cienc. Rural, Santa Maria , v. 48, n. 5, e20180025, 2018 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

84782018000500453&lng=en&nrm=iso>. access on 19 May 2020. Epub May 10, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>.

Freitas WES, Aroucha EMM, Soares KMP, Mendes FIB, Oliveira VR, Lucas CR *et al.* Parâmetros físico-químicos do mel de abelha sem ferrão (*Melipona subnitida*) após tratamento térmico. **Acta Vet Brasília**. 2010; 4(3):153-7.

GARROS-ROSA, I. ; FILHO, W. M.; SILVA, J. M.; NUNES, G. S.; FERNANDES, R. T. Produtos de abelhas oriundos da Baixada Maranhense: caracterização físicoquímica, nutricional e sua contribuição para o desenvolvimento da Agricultura Familiar. São Luís, 2013. Projeto de Pesquisa (REBAX- Rede de Pesquisa da Baixada Maranhense). NIBA- Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

GEPLAN. Atlas do Maranhão. São Luís: GEPLAN, 2002. 36p.

GORJANOVIC, Stanislava Ž.; José Miguel Alvarez-Suarez, Miroslav M. Novaković, Ferenc T. Pastor, Lato Pezo, Maurizio Battino, Desanka Ž. Sužnjević, Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays, Journal of Food Composition and Analysis, Volume 30, Issue 1, 2013, Pages 13-18, ISSN 0889-1575, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.12.004>.

GOUVEIA, Nelson. Resíduos sólidos urbanos: impactos socioambientais e perspectiva de manejo sustentável com inclusão social. Ciênc. saúde coletiva, Rio de Janeiro , v. 17, n. 6, p. 1503-1510, June 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232012000600014&lng=en&nrm=iso>. access on 09 Oct. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012000600014>.

Habib, Hosam M.; Fatima T. Al Meqbal, Hina Kamal, Usama D. Souka, Wissam H. Ibrahim, Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions, Food Chemistry, Volume 153, 2014, Pages 35-43, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.048>.

HOLANDA, C. A. et. al. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* SMITH da região do Cerrado Maranhense. Química Nova, v.35, n. 1, p. 55-58,2012.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2005.

KARABAGIAS, Ioannis K.; Anastasia Badeka, Stavros Kontakos, Sofia Karabournioti, Michael G. Kontominas, Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics, Food Chemistry, Volume 146, 2014, Pages 548-557, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.105>.

LACERDA, Julian Júnio de Jesus *et al.* . Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera*

no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 1022-1026, 2010.

LAGE, Lorena G.A. *et al.*. Honey physicochemical properties of three species of the Brazilian *Melipona*. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 605-608, Sept. 2012. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652012000300003&lng=en&nrm=iso>. access on 10 Sept. 2019. Epub July 24, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652012005000051>.

LIANDA, R. L. P. Perfil de substâncias fenólicas de méis brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência e avaliação do potencial antioxidante. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

LIBERIO, S. A.; PEREIRA, A. L. A.; DUTRA, R. P.; REIS, A. S.; ARAÚJO, M. J. A. M.; MATTAR, N. S.; SILVA, L. A.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; GUERRA, R. N. M.; MONTEIRO-NETO, V. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 11, n. 108, 2011.

LIMA, Katyane Soares. Análise das Características físico-químicas do mel de Tiúba. Chapadinha-MA, 2017.

LIRA, Aline F. Estudo comparativo do mel de *Apis Melífera* com méis de meliponíneos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.3, p.169-178, 2014. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/3560/5581>. Acesso em: 09 out 2019.

LOPES, Paulo Afonso. Estatística Aplicada à Análise de Resultados de Ensaio de Proficiência na Avaliação de Laboratórios. ANVISA INSTITUTO ADOLPHO LUTZ, Rio de Janeiro: 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/reblaAs/cursos/qualidade6/apostila_estatistica.pdf. Acesso em: 16 de jan. 2019.

MARCHINI, L.C. *et al.* Características físico-químicas de amostras de méis da abelha urucu (*Melipona scutellaris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., 1998, Salvador, BA. Anais... Salvador, BA : CBA, 1998. p.203.

MARTINS, R. A.; NETO, P. L. Indicadores de desempenho para a Gestão pela Qualidade Total: uma proposta de sistematização. *Gestão & Produção*. v.5, n.3, p. 298-311, dez. 1998.

MENDES, Teresa M. F. F.; BACCAN, S Nivaldo; CADORE, Solange. Sample treatment procedures for the determination of mineral constituents in honey by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 168-176, Feb. 2006. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532006000100024&lng=en&nrm=iso>. access on 01 June 2020. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000100024>.

MENEZES, J. D. S.; MACIEL, L. F.; MIRANDA, M. S.; DRUZIAN, J. I. compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 69, n.2, p.233-42, 2010.

MICHENER, C. D. Pot-Honey. The Meliponini. In: P. Vit; S. R. M. Pedro; D. Roubik (Eds.); . p.3–18, 2013a.

MISTRY, Hiten D.; WILLIAMS, Paula J. The Importance of Antioxidant Micronutrients in Pregnancy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2011.

MOURA, J.Z. *et al.* Qualidade do mel de *Apis mellifera* L. relacionadas as boas praticas apícolas. Revista Brasileira de Saude e Producao Animal, v. 15, n. 3, p. 731-739, 2014. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151999402014000300021&script=sci_abstract&lng=pt>. Accessed: out. 10, 2019. doi: 10.1590/S1519-99402014000300021.

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

NORDESTE. Revista Nordeste mostra crescimento na produção apícola do MA. 2014. Disponível em: <<http://www.revistanordeste.com.br/noticia/brasil/revista+nordeste+mostra+crescimento+na+producao+apicola+do+ma-5399>> Acesso em: 17 de jul. 2017.

NUNES, Gilberth Silva. **Pólen coletado pela *Melipona fasciculata* na Amazônia maranhense: composição físico-química e atividade antimicrobiana.** 2017. 58 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

OLIVEIRA, E. G.; SILVEIRA, L. M. S.; NASCIMENTO, A. R.; MONTEIRO NETO, V.; NAHUZ, M. S. R.; MENESES, S. L.; VASCONCELOS, A. F. F.; BORGES, A. C. S.; BOGÉA, A. L. G.; AZEVEDO, C. C.; FERREIRA, C. F. C.; LIMA, J. C.; COSTA, M. C. P.; Higiene Alimentar, n. 20, p. 76, 2006.

OLIVEIRA, Emanuel Neto Alves de; SANTOS, Dyego da Costa. Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 70, n. 2, jun. 2011. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552011000200005&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 10 set. 2019.

OLIVEIRA, Patricia Sertão *et al.* . Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. Quím. Nova, São Paulo, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000900005&lng=en&nrm=iso>. access on 08 June 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000900005>.

OLIVEIRA, Fernanda Moreira. **Perfil físico-químico e de qualidade de méis de mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul (Brasil).** 70 f. Tese (Mestrado

em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2017.

OLIVEIRA, Keily Alves de Moura; RIBEIRO, Luciana Silva; OLIVEIRA, Glauco Vieira de. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo e jataí. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.3, p.239-247, 2013

PINHEIRO, C. G. M. E. *et al.* "Microbiological quality of honey from stingless bee, jandaira (*Melipona subnitida*), from the semiarid region of Brazil" **Ciência Rural**, vol. 48, no. 9, 2018. Gale Academic Onefile, <https://link.gale.com/apps/doc/A556571869/AONE?u=capes&sid=AONE&xid=de1abaa9>. Accessed 10 Oct. 2019.

REGINATO KOSER, J.; BARBIÉRI, C. .; FRANCOY, T. M. Legislation on meliponiculture in Brazil: social and environmental demand. **Sustentabilidade em Debate**, v. 11, n. 1, p. 164 - 194, 30 abr. 2020.

RODRIGUES, A.C.L.; MARCHINI, L.C.; CARVALHO, C.A. L. de. Análises de mel de *Apis mellifera* L., 1758 e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado em Piracicaba-SP. **Rev de Agricultura**, Piracicaba, v.73, n.3, p.255-262, 1998.

Rufino M. S.M, Alves R.E, Brito ES, Morais S.M, Sampaio C.G, Jimenez J.P, Calixto F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico Embrapa, 127: 1-4, 2007.

SANT'ANA, R. da S. **Caracterização físico-química e microbiológica dos méis de *Melipona subnitida* e *Melipona fasciculata* do Estado do Piauí**. 2017. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.

SANTOS, FKG, Dantas Filho NA, Leite RHL, Aroucha EMM, Santos AG, *et al.*

(2014) Rheological and some physicochemical characteristics of selected floral honeys from plants of caatinga. *Annal Braz Acad Sci* 86: 981-994.

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

SHUEL, R. W. The production of néctar and pollen. In: GRAHAM, J.M. *The hive and the honey bee* Langstroth on the hive and the honeybee. Hamilton: Dadant e Sons, p. 401-436, 2010

Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Lins, A. C. S.; Barbosa-Filho, J. M.; Silva, E. M. S.; Freitas, B. M.; Santos, F. A. R.; *J. Food Compos. Anal.* 2005,19,507.

SILVA, J. M. Recursos alimentares utilizados por abelhas *Apis mellifera* scutellata e *Melipona compressipes fasciculata* em São Bento - Baixada maranhense. 2006. 65p Dissertação (Mestrado em Agroecologia)- Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, Maranhão, 2006.

SILVA, A. G. da; OLIVEIRA, M. E. C; OLIVIERA, M. S. de; PEREIRA, D. S. Análise do teor de hidroximetilfurfural do mel de *Melipona flavolineata* no decurso do processo de desumidificação por aquecimento. SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 22., 2018, Belém, PA. Anais... Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2018.

SILVA, M.B.L. *et al.* Qualidade microbiologica de meis produzidos por pequenos apicultores e de meis de entrepostos registrados no servico de inspecao federal no estado de Minas Gerais. Alimentos e Nutricao, v. 19, n. 4, p. 417-420, 2008.

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

SINGH N., SINGH S., BAWA A. S. & SEKHON K. S. 1988. Honey - its food uses. **Indian Food Packer**, 42: 15–25.

SOUSA, C. M. D. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quimica Nova, v. 30, n. 2, p. 351–355, jan. 2007.

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

SOUZA, D.C.; BAZLEN, K. Análises preliminares de características físico-químicas de méis de Tiúba (*Melipona compressipes*) do Piauí. In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, BA, 1998, p. 267.

SOUZA, Bruno de Almeida *et al.* . Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). Cienc. Rural, Santa Maria , v. 34, n. 5, p. 1623-1624, Oct. 2004 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782004000500048&lng=en&nrm=iso>. access on 09 Sept. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000500048>.

SOUZA, B. A.; SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; ODASOUZA, M.; 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. Química Nova, v. 32, n. 2, p. 303-308, 2009.

TENÓRIO, Euler Gomes. A rica produção do mel maranhense. 2016. Disponível em: <http://senar-ma.org.br/a-rica-producao-do-mel-maranhense/> Acesso em: 19 de jul. 2017. MORETI, Augusta Carolina de Camargo Carmello *et al.* Cor de amostras de mel de *Apis mellifera* L. de diferentes Estados Brasileiros. Boletim de Indústria Animal, [S.l.], v. 63, n. 3, p. 159-164, nov. 2013. ISSN 1981-4100. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/bia/article/view/8076/8349>>. Acesso em: 20 jul. 2017. Tornuk F, Karaman S, Ozturk I, Toker OS, Tastemur B, *et al.* (2013) Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. Indus Crop Prod 46: 124-131.

ZUCCHINI, R. R.; ANTONOFF, H. B.; SAKAI, P. N. Testando a homogeneidade de teor de enxofre em óleo diesel. *Revista Analytica*, n.7, p. 30–35, 2003.

ANEXOS

ANEXO I: PRODUTO TECNOLÓGICO

Por meio da pesquisa desenvolvida neste trabalho desenvolveu-se uma indústria de cosméticos com o objetivo de fabricar produtos de higiene pessoal como sabonetes e sabonetes líquidos com nanotecnologia incorporada à formulação e uma matriz baseada nas propriedades de produtos regionais típicos do Maranhão tais como o mel de tiúba, o babaçu, a juçara e o bacuri.

CNPJ: 39.835.610/0001-40

Razão Social: LUDOVICA - INDUSTRIA E COMERCIO DE COSMETICOS LTDA

Nome Fantasia: LUDOVICA

Tipo: MATRIZ

Data Abertura: 18/11/2020

Situação Cadastral: ATIVA

Data da Situação Cadastral: 18/11/2020

Capital Social

R\$ 100.000

Natureza Jurídica

2062 - SOCIEDADE EMPRESARIA LIMITADA

Logradouro

R FIO

Número

25

Complemento

LOTE SITUADO NA MA 204

CEP

65130-000

Bairro

MOCAJITUBA

Município

PACO DO LUMIAR

UF

MA

Telefone

98 8254-5677

E-MAIL

araruna.fb@gmail.com

Quadro Societário

WALBERT SILVA ALVES CARTAGENES - Sócio

FELIPE BASTOS ARARUNA - Sócio

MARCOS MOURA SILVA - Sócio

OSVALDO DA COSTA SILVA - Sócio-Administrador

Atividade Principal: 2063100 - Fabricação de cosméticos, produtos de perfumaria e de higiene pessoal.