**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Mel de abelhas *Apis mellifera* (L.) como ferramenta para
bioindicação de poluição ambiental**

Diogo Feliciano Dias Araujo

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

Diogo Feliciano Dias Araujo
Engenheiro Agrônomo

**Mel de abelhas *Apis mellifera* (L.) como ferramenta para bioindicação de
poluição ambiental**

Orientador:
Prof. Dr. **LUÍS CARLOS MARCHINI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Araujo, Diogo Feliciano Dias

Mel de abelhas *Apis mellifera* (L.) como ferramenta para bioindicação de poluição ambiental / Diogo Feliciano Dias Araujo.- - Piracicaba, 2012.
77 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Biomonitoramento 2. Mel 3. Metais pesados 4. Plantas melíferas 5. Pólen
6. Poluição ambiental 7. Voltametria I. Título

CDD 638.16
A663m

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

***A minha família por todas as orientações,
dedico.***

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar durante minha caminhada.

Aos meus pais e a minha querida irmã.

Ao meu orientador, Professor Dr. Luís Carlos Marchini pela amizade, orientação e a oportunidade de desenvolver esse trabalho.

À pesquisadora Dra. Augusta Carolina de Camargo Carmello Moretti do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, pelas orientações e apoio constante durante as identificações polínicas.

À pesquisadora Dra. Ivani Pozar Otsuk pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Professor Dr. Francisco Antonio Monteiro do Departamento de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP pela receptividade e disposição do laboratório para realização da etapa de digestão das amostras de mel.

A técnica Lurdes Aparecida D. Gonzáles do Laboratório de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP pela simpatia e realização da etapa de digestão das amostras de mel.

A Empresa Metrohm Pensalab, em especial ao Fábio Ricardo Bento e Leonardo Gomes Kanashiro pelas orientações concedidas para uso do analisador voltamétrico.

Ao técnico Vitor Celso da Silva do Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP pelo auxílio.

A todo corpo técnico da Biblioteca Central da ESALQ/USP, em especial a Eliana Maria Garcia, pelo auxílio na formatação deste trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa durante o período do mestrado.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP e ao programa de pós-graduação em Entomologia junto a seus docentes e funcionários pela oportunidade e todo aprendizado fornecido.

A grande amiga e companheira Talita Antonia da Silveira por todo apoio e orientações.

Aos colegas do Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP,

Andreia Santos do Nascimento, Lorena Andrade Nunes, Luzimario Lima Pereira e Maria Emilene Correia de Oliveira por todo apoio.

A todos os colegas que fiz em Piracicaba/SP, sejam os da ESALQ/USP, os da república e todos os outros pelos momentos de descontração (obs.: Não seria capaz de citar todos para não correr o risco de esquecer alguém!).

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho o meu muito obrigado!

*"Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que
melhor se adapta às mudanças"*

Charles Darwin

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
Referências.....	19
2 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DAS AMOSTRAS DE MEL DE <i>Apis mellifera</i> (L.) - UMA IMPORTANTE FERRAMENTA PARA O BIOMONITORAMENTO.....	23
Resumo.....	23
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Material e Métodos.....	26
2.2.1 Local do estudo.....	26
2.2.2 Instalação das colônias e período de coleta.....	27
2.2.3 Coleta das amostras.....	28
2.2.4 Análise melissopalínológica.....	29
2.2.5 Análise dos dados.....	30
2.3 Resultados e Discussão.....	31
2.4 Conclusões / Considerações Finais.....	41
Referências.....	41
3 DETERMINAÇÃO DE HMF, CINZAS E ELEMENTOS TRAÇOS (Zn, Pb, Cd e Cu) EM MEL DE ABELHAS <i>Apis mellifera</i> (L.) – UMA BASE PARA A BIOINDICAÇÃO.....	45
Resumo.....	45
Abstract.....	45
3.1 Introdução.....	46
3.2 Material e Métodos.....	49
3.2.1 Localização da área experimental.....	49
3.2.2 Instalações das colônias e período de coleta.....	50
3.2.3 Coleta de amostras.....	50
3.2.4 Dados meteorológicos e de monitoramento da qualidade do ar.....	50
3.2.5 Parâmetros físico-químicos.....	51
3.2.5.1 HMF.....	51
3.2.5.2 Teor de cinzas (%).....	54

3.2.5.3 Análise de metais pesados (Zn, Cd, Pb, Cu) através da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV).....	57
3.2.6 Análise dos dados.....	60
3.3 Resultados e Discussão.....	61
3.3.1 HMF.....	61
3.3.2 Teor de Cinzas (%).....	63
3.3.3 Análise de metais pesados (Zn, Cd, Pb, Cu) através da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV).....	65
3.3.4 Correlação das variáveis.....	71
3.4 Conclusões / Considerações Finais.....	73
Referências.....	73

RESUMO

Mel de abelhas *Apis mellifera* (L.) como ferramenta para bioindicação de poluição ambiental

Após a conferência das nações unidas de 1972, a poluição ambiental começou a se tornar de fato um assunto preocupante. A explosão do crescimento populacional, junto com o desenvolvimento tecnológico, promoveu aumento dos níveis de contaminantes existentes no meio ambiente. Em consequência disso, metodologias são sempre investigadas e testadas, para propor uma forma de monitoramento com resposta relativamente rápidas e seguras, tornando de fato a atividade de monitoramento eficiente, podendo assim, identificar possíveis fontes de contaminação. Organismos vivos atualmente estão compondo essas estratégias de monitoramento, pois garante uma reposta segura e eficaz, e ao mesmo tempo com uma área de cobertura de monitoramento bastante ampla. Nesse grupo encontram-se os insetos, mais especificamente as abelhas *Apis mellifera* (L.), que realizam viagens exploratórias em busca de recurso alimentar e acabam por estarem em contato com diversos setores do ambiente. Com isso o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial do mel de abelhas *A. mellifera* como bioindicador de poluição por metais pesados no ambiente, identificando sua origem botânica, bem como, seus aspectos físico-químicos como a presença de elementos traço (Zn, Cu, Pb e Cd), utilizando-se da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial. O trabalho foi desenvolvido na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, no Laboratório de Insetos Úteis, com uma contribuição do Laboratório de Tecidos Vegetais. Foram encontrados 34 tipos polínicos nas amostras de mel ao longo do período de coleta, pertencentes a 20 famílias botânicas, sendo Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae e Myrtaceae as famílias mais representadas. Todas as amostras apresentaram HMF e teores de cinzas dentro do padrão estabelecido pela legislação, apresentando flutuações durante o período de estudo. Em relação aos metais detectados, o chumbo (Pb) foi o elemento que apresentou, em média, a maior concentração no mel de *A. mellifera*, cerca de 2,11 mg.kg⁻¹. Seguido do Zinco, com média de 1,56 mg.kg⁻¹, e logo após o Cobre com valores médios de 0,35 mg.kg⁻¹. Cádmio não esteve presente em nenhuma amostra analisada. Conclui-se que o mel pode ser utilizado como ferramenta de bioindicação associado a outros produtos apícolas.

Palavras-chave: Biomonitoramento; Melissopalínologia; Origem botânica; Voltametria

ABSTRACT

***Apis mellifera* (L.) honey bee as a tool for environmental pollution bio-indication.**

After the United Nations Conference in 1972, the environmental pollution became a really concern issue. The population growth explosion, along the technological development, has promoted increasing environmental level contaminants. Hence, methodologies are always investigated and tested to propose a monitoring way with relatively fast and safe response, making the monitoring activity efficient indeed. Thus, it can identify possible contamination sources. Organisms are lately compounding these monitoring strategies since they ensure an effective and safe response, at the same time embracing a quite wide monitoring coverage area. The insects are included in this group of organisms, specifically the bees *Apis mellifera* (L.), that display exploratory flights in search of food resources, reaching a variety of environmental section therefore. Therewith, the aims of this investigation were to evaluate the *Apis mellifera* honey potential as heavy metal pollution bio-indicator in the environment; to identify its botanical origin, as well as its physico-chemical aspects, whereby the presence of trace elements (Zn, Cu, Pb and Cd) using the technique of anodic stripping voltammetry differential pulse. The investigations were conducted at Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, in the Economically Important Insects laboratory, with a contribution of Tissue Plants laboratory. It was found 34 pollen types in the honey samples throughout the collection season. The pollen belong to 20 botanical families, and Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae and Myrtaceae being the most represented ones. All the samples showed HMF levels and ashes within the standard established by law, with fluctuations during the study period. Regarding to detected metals, lead (Pb) was the element which showed the highest average concentration in *Apis mellifera* honey, about 2,11 mg.kg⁻¹ throughout the study season. Zinc followed, with average of 1.56 mg.kg⁻¹, and right after the copper with average values of 0.35 mg.kg⁻¹. Cadmium was not present in any analyzed sample. It concludes that honey can be used as a bio-indication tool associated with other bee products.

Keywords: Bio-monitoring; Melissopalynology; Botanical origin; Voltammetry

1 INTRODUÇÃO

O conceito de meio ambiente e o de gestão ambiental ainda são relativamente recentes. No Brasil, somente após a Conferência das Nações Unidas para o Ambiente Humano, realizada em 1972, em Estocolmo, Suécia, começaram a ganhar notoriedade os níveis de poluição e os desastres provocados pelo homem (SÁNCHEZ, 2008). A partir de então, medidas mais efetivas relacionadas ao controle e à proteção ambiental passaram a ser adotadas, as quais contribuíram gradativamente para a ampliação da consciência pública sobre esses problemas. Elevar os níveis de qualidade ambiental por meio da criação de programas e ações voltados para a redução do impacto negativo das atividades humanas sobre os meios físico, biológico e socioeconômico, com consequente melhora da qualidade de vida, constitui um dos maiores desafios do desenvolvimento mundial (ROCHA, 2012).

Os atuais problemas ambientais, na verdade, são nossos problemas socioambientais (FERREIRA, 2000). Segundo o autor, inevitavelmente onde quer que o homem esteja, numa aldeia montanhosa, distante da civilização, ou “oprimido” nos trens do subúrbio, todos serão mais ou menos afetados por alterações ambientais. Para o filósofo e ecólogo Pelizzoli (1999) o conceito-chave para superação das questões ambientais está no desenvolvimento sustentável.

Com o desenvolvimento tecnológico e o crescimento demográfico mundial, foram intensificadas atividades agrícolas e industriais, o extrativismo mineral e a urbanização, causando considerável aumento dos níveis de contaminantes no ambiente (SÁNCHEZ, 2008). Segundo o autor, grandes centros urbanos normalmente oferecem condições desfavoráveis para uma qualidade de vida sustentável, pelo contexto geral vivido no cotidiano, como: trânsito intenso; rios, solos e ar poluídos por lançamentos de efluentes e resíduos sólidos domésticos e industriais; problema com água potável, queimadas urbanas e tantos outros problemas. Neste contexto diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de buscar melhores formas de gestão da qualidade ambiental.

Essas pesquisas na sua maioria buscam metodologias eficientes para uma melhor compreensão das modificações ambientais e o uso de parâmetros biológicos vem se mostrando adequado para tal situação. Esses parâmetros estão baseados nas respostas dos organismos em relação ao ambiente onde vivem, caracterizando

assim uma atividade de monitoramento biológico, mais conhecida como biomonitoramento. O termo biomonitoramento pode ser definido como o uso sistemático das respostas de organismos vivos, para avaliar mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas (MATTHEWS et al., 1982).

Esse contexto de utilização de organismos vivos para indicar certas condições ambientais, tem sido verificado com bastante frequência ao longo da história. Um dos primeiros exemplos ocorreu durante a revolução industrial (século XIX), quando canários eram colocados dentro de minas de carvão para monitorar a qualidade do ar. Caso os canários sofressem algumas alterações desfavoráveis, causadas por altas concentrações de monóxido de carbono, as pessoas eram imediatamente retiradas do local evitando assim possíveis danos à saúde (CAIRNS JR.; PRATT, 1993). Outro método de biomonitoramento, atualmente bastante utilizado, é o uso de musgos para estudos de concentrações de metais pesados presentes na atmosfera, em escala regional (RÜHLING; TYLER 1973). Esse vegetal tem potencial para tal situação, pois possui um sistema radicular bem restrito, absorvendo assim grande parte dos nutrientes necessários para seu desenvolvimento na atmosfera (BARANDOVSKI et al., 2008), podendo então favorecer consideravelmente para monitoramento de elementos traços no ambiente.

A utilização desses métodos de monitoramento biológico fornecem respostas que muitos métodos mecânicos (físico-químicos) de monitoramento não conseguem identificar. Efeitos sinérgicos, antagônicos ou aditivos podem estar integrados com diferentes poluentes do ar (BALASOORIYA et al. 2009).

No entanto para ser um bom bioindicador qualquer organismo precisa ser amplamente conhecido e capaz de diferenciar oscilações naturais e estresse antrópico (MOFFATT; McLACHLAM, 2004; MENDOZA; PRABHU, 2004). Todo o seu ciclo biológico e seu comportamento no ambiente têm que ser bem definido antes de qualquer estudo, para que as repostas às alterações ambientais sejam bem identificadas. E quanto maior a escala de ação do bioindicador maior área poderá ser monitorada (DALE; BEYELER, 2001).

Insetos, seres vivos pertencentes ao reino animal, são considerados indicadores de impacto ambiental, devido a sua grande diversidade e habitat, além de serem extremamente importantes nos processos biológicos dos ecossistemas naturais. Segundo Thomanzini e Thomanzini (2002), o número de ordens, famílias e

espécies de insetos diminui com o nível de antropização do ambiente, facilitando assim em muitos casos, uma identificação rápida de determinado impacto.

Dentro desse grupo dos artrópodes, as abelhas *Apis mellifera* (L.), são indivíduos que apresentam grande potencial de monitoramento das condições ambientais de uma dada região onde estão alocadas, devido principalmente a sua grande capacidade de dispersão e características morfológicas, como a presença de pelos no corpo, que promovem um rastreando, mesmo que involuntariamente, de diversas partículas suspensas na atmosfera. Sendo assim um organismo vivo com excelentes características para biomonitoramento, em níveis de elementos traços em grandes áreas (HÖFFEL et al., 1983; TONG et al., 1975; NÜRNBERG AIRPORT, 2003), fornecendo informações detalhadas sobre determinados contaminantes no ambiente monitorado.

Além de informações diretas sobre determinados contaminantes contidos no próprio corpo do inseto, elementos traços podem se acumular também em produtos apícolas, como o mel, devido a altas concentrações no ambiente, tornando assim esses indivíduos ainda mais eficientes para o monitoramento biológico. (BROMENSHENK et al., 1996).

Integrante desse grande grupo de elementos traços, os metais pesados, são contaminantes que causam grande preocupação para saúde humana e animal. Eles são liberados por fontes naturais e/ou antrópicas, e na maioria dos casos não se deterioram e permanecem por muitos anos no ambiente, apresentando uma preocupante toxicidade latente (PERUGINI et al., 2011).

Os metais podem ser classificados em três formas distintas: metais como sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio, que são denominados como elementos essenciais, pois são necessários ao metabolismo biológico dos organismos vivos, em nível traço, na ordem de miligrama (ULUOZLU et al., 2007). Por outro lado, os metais como: arsênico, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio, são classificados como micro-contaminantes ambientais, tóxicos, ou ainda como não essenciais, pois não são necessários ao organismo em nenhuma quantidade. O cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel são nomeados de elementos essenciais e simultaneamente microcontaminantes, pois são necessários ao organismo, porém em níveis ultratraço, na ordem de micrograma-nanograma, entretanto, se estes níveis forem ultrapassados podem se tornar potencialmente tóxicos (OGA et al., 2008).

Um exemplo de elemento que provoca uma toxicidade latente é o chumbo, metal pesado mais disseminado no ambiente, presente em elevadas concentrações desde a revolução industrial, onde o mesmo era utilizado como ingrediente em combustíveis para automóveis e tintas (AVILA-CAMPOS, 2010). A ingestão desse metal pesado, em níveis moderados, pode acarretar diversos problemas para a saúde humana e animal, alterando o metabolismo, como também o sistema nervoso, acarretando, em muitos casos, danos irreparáveis (PASCALICCHIO, 2000). Assim podemos analisar que esse tipo específico de monitoramento biológico promove não só um alerta para a saúde ambiental, como também para todos os seres humanos que consomem produtos apícolas.

A abordagem de elementos como zinco, cádmio, chumbo e cobre nesse trabalho, torna-se importante em função da área de amostragem ser mais suscetível a contaminação por esses elementos, devido à proximidade com possíveis fontes de contaminações, como: rodovia, áreas urbanas, industriais e agrícolas e outras fontes.

Geralmente estes metais não trazem prejuízos diretos para as abelhas, podendo essas conviver com a presença deles na colônia (PERUGINI et al., 2011). Segundo Leita et al. (1996) apiários localizados próximos a áreas poluídas podem fornecer dados de monitoramento constante sobre a emissão de metais pesados, mesmo que esses contaminantes sejam emitidos de pequenas fontes de poluição.

Para análises de metais pesados atualmente são encontrados trabalhos que utilizam técnicas analíticas de espectrometria de massa (PERUGINI et al., 2011; STEEN et al., 2012), a qual proporciona uma resposta confiável a cerca das concentrações desses elementos. Por existirem pequenas concentrações de metais pesados no ambiente, quanto mais sensível for à técnica analítica, mas real será o resultado das concentrações de determinados metais pesados. Devido à complexidade da interação metais-organismo-ambiente, o uso de técnicas analíticas capazes de determinar diferentes espécies químicas, com baixa manipulação amostral, tal qual a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial, assume destaque quanto à compreensão da dinâmica dos metais no ambiente (TONIETTO; GRASSI, 2012).

Com isso o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial do mel de abelhas *Apis mellifera* como bioindicador de poluição por metais pesados no ambiente, identificando sua origem botânica (Capítulo 2), bem como seus aspectos

físico-químicos e a presença de elementos traço (Zn, Cu, Pb e Cd), utilizando-se da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (Capítulo 3).

Referências

AVILA-CAMPOS, M.J. **Metais pesados e seus efeitos**. Disponível em: <http://www.mundodoquimico.hpg.ig.com.br/metais_pesados_e_seus_efeitos.htm>. Acesso em: 21 abr. 2012.

BALASOORIYA, B.L.W.K.; SAMSON, R.; MBIKWA, F.; VITHARANA, U.W.A. Bio-monitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 65, p. 386–394, 2009.

BARANDOVSKI, L.; CEKOVA, M.; FRONTASYEVA, M. V.; PAVLOV, S. S.; T. STAFILOV, T.; STEINNES, E.; URUMOV, V. Atmospheric deposition of trace element pollutants in Macedonia studied by the moss biomonitoring technique. **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v. 138, p. 107-118, 2008.

BROMENSHENK, J.J.; CRONN, R.C.; NUGENT, J.J. Monitoring fluoride with honey bees in the upper Snake River plain of Idaho. **Journal of Environmental Quality**, Wooster, v. 25, p. 868-877, 1996.

CAIRNS Jr., J.; PRATT, J.R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D.M.; RESH, V.H. (Ed.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. p. 10-27.

DALE, V.H.; BEYLER, S.C. Challenges in the development and use of ecological indicators. **Ecological Indicators**, Kiel, v. 1, n. 1, p. 3-10, 2001.

FERREIRA, Y.N. Metrpole sustentvel? No uma questo urbana. **So Paulo em Perspectiva**, So Paulo, v. 14, p. 139-144, 2000.

HFFEL, I.; MLLER, W. Schwermetallruckstnde in Honigbienen (*Apis mellifica* L.) in einem kosystem (Saarbrcken). **Forum Stdte-Hygiene**, Stuttgart, v. 34, p. 191–193, 1983.

LEITA, L.; MUHLBACHOVA, G.; CESCO, S.; BARBATTINI, R.; MONDINI, C. Investigation on the use of honeybees and honeybee products to assess heavy metals contamination. **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v. 43, p. 1–9, 1996.

MATTHEWS, R.A.; BUIKEMA, A.L.; CAIRNS Jr., J. Biological monitoring part IIA: Receiving system functional methods relationships, and indices. **Water Research**, London, n. 16, p. 129-139, 1982.

MENDOZA, G.A.; PRABHU, R. Fuzzy methods for assessing criteria and indicators of sustainable forest management. **Ecological Indicators**, Kiel, v. 3, n. 4, p. 227-236, 2004.

MOFFATT, S.F.; McLACHLAM, S.M. Understorey indicators of disturbance for riparian forests along an urban-rural gradient in Monitoba. **Ecological Indicators**, Kiel, v. 4, n. 1, p. 1-16, 2004.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 690 p.

PASCALICCHIO, A.E. **Contaminação por metais pesados**: saúde pública e medicina ortomolecular. São Paulo: Annablume, 2002. 134 p.

PELIZZOLI, M.L. **A emergência do paradigma ecológico**: reflexões ético-filosóficas para o século XXI. Petrópolis: Vozes, 1999. 160 p.

PERUGINI, M.; MANERA, M.; GROTTA, L.; ABETE, M.C.; TARASCO, R.; AMORENA, M. Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. **Biological Trace Element Research**, San Diego, v. 140, p. 170-176, 2011.

RAEYMAEKERS, B. A prospective biomonitoring campaign with honey bees in a district of upper-bavaria (Germany). **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v. 116, p. 233-243, 2006.

ROCHA, M.C.L.S.A. **Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil**: proposta metodológica de acompanhamento. 2. ed. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2012. 89 p.

RÜHLING, Å.; TYLER, G. Heavy metal deposition in Scandinavia. **Water, Air and Soil Pollution**, Ontario, v. 2, p. 445-455, 1973.

SÁNCHEZ, L.E. **Avaliação de impacto ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 495 p.

STEEN, J.J.M. van der; KRAKER, J.; GROTENHUIS, T. Spatial and temporal variation of metal concentrations in adult honeybees (*Apis mellifera* L.). **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v. 184, p. 4119-4126, 2012.

THOMANZINI, M.J.; THOMANZINI, A.P.B.W. Levantamento de insetos e análise entomofaunística em floresta, capoeira e pastagem no Sudeste Acreano. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Rio Branco, v. 1, n. 35, p. 10-41, 2002.

TONG, S.S.C.; MORSE, R.A.; BACHE, C.A.; LISK, D.J. Elemental analysis of honey as an indicator of pollution. **Archives of Environmental & Occupational Health**, Washington, v. 30, p. 329-332, 1975.

TONIETTO, E.A.; GRASSI, M.T. Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. **Química nova**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 170-174, 2012.

ULUOZLU, O.D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 2, p. 835-840, 2007.

2 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DAS AMOSTRAS DE MEL DE *Apis mellifera* (L.) - UMA IMPORTANTE FERRAMENTA PARA O BIOMONITORAMENTO

Resumo

Abelhas *Apis mellifera* L. apresentam características produtivas e reprodutivas que são diretamente influenciadas pelo clima e a disponibilidade de alimento na região em que são criadas ou mantidas, assim, o armazenamento de recurso alimentar como, mel e pólen, a postura da rainha e o crescimento populacional desses indivíduos estão sujeitos às variações sazonais. Em decorrência dessas variações, esses insetos realizam uma incessante busca por alimento, realizando diversas viagens exploratórias, denominadas forrageamento. A atividade de forrageamento faz com que as abelhas *A. mellifera* visitem diversos ambientes, estando sempre sujeitas ao contato com fontes de contaminação ambiental. Desta forma torna-se cada vez mais necessário o conhecimento desses locais de busca de alimentos por parte desses insetos, para que se possa conhecer toda área que está sendo explorada e compreender não só contaminações de produtos apícolas, como também buscar indicações de possíveis impactos ambientais. O presente estudo foi desenvolvido no apiário experimental do Departamento de Entomologia e Acarologia, no campus “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). O local do estudo apresenta domínio de vegetação de Floresta Estacional Semidecidual (Mata Atlântica), porém com amplas áreas antropizadas, onde existem cultivos agrícolas, estações de tratamento de água e esgoto, área urbana e industrial, aeroporto da cidade e a principal rodovia de acesso à cidade. Portanto, o objetivo foi verificar a origem botânica dos recursos nectaríferos coletado pelas abelhas *A. mellifera* durante seis meses consecutivos de coleta, de outubro/2011 a março/2012 totalizando seis colmeias de *A. mellifera*. Em cada mês de coleta verificaram-se os tipos polínicos presentes nas amostras de mel. Para preparação das amostras para melissopalínologia adotou-se o método da acetólise (ERDTMAN, 1952). A análise quantitativa foi realizada por meio da contagem sucessiva de 900 grãos por amostra e agrupados por espécies botânicas, famílias e/ou tipos polínicos. Com base nos resultados obtidos pode-se afirmar que as abelhas utilizaram diversas plantas presentes na área como fonte de coleta de néctar para manutenção de suas colônias. Famílias como Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae e Myrtaceae, foram predominantes em todo período de coleta. Sempre ocorrendo de forma significativa para manutenção das colônias, sendo as plantas mais indicadas para identificação de possíveis fontes de contaminação ambiental no local de estudo.

Palavras-chave: Biomonitoramento; Melissopalínologia; Néctar; Forrageamento

Abstract

Apis mellifera L. bees have productive and reproductive traits influenced by climate and food availability in the region where they are reared and

kept. Thus, resource food storage as pollen and honey, queen egg laying and population increase of these individuals are subjected to seasonal variations. Due to these variations, such insects display a ceaseless food search, performing several exploratory journeys, named foraging. The foraging activity leads *A. mellifera* bees to visit different environments, being always subjected to the contact with environmental contamination. It makes increasingly necessary to know these insects search food sites in order to know all the exploratory area and understand not just bee's products contamination, but also to search for the likely environmental impact indications. The research was carried out at Entomology and Acarology Department apiary in the "Luiz de Queiroz" campus at São Paulo University (ESALQ/USP). This place is dominated by semideciduous broadleaved forest (Mata Atlântica), though having a wide anthropogenic area, where there are crops, water and sewage treatment station, urban and industrial areas, city airport and the main access road to town. Therefore, the aim was to verify the botanical origin of nectar resources collected by *Apis mellifera* bees for six consecutive months of collection, from October 2010 to March 2012. Six *Apis mellifera* hive. For each collection month it was verified the pollen types presented in the honey samples. To the melissopalynology sample preparing it was adopted acetolysis method (ERDTMAN, 1952). Quantitative analysis was performed by counting successive 900 grains per sample and grouping them by botanical species, families and/or pollen types. Based on the obtained results it can be stated that bees have used several local plants as collecting nectar source to maintain the colony. Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae and Myrtaceae families were predominant in all collecting season. These plants significantly always occur to maintain the colonies, and they are the most indicated plants to identify the possible environmental contamination sources where the study was carried out.

Keywords: Bio-monitoring; Melissopalynology; Nectar; Foraging

2.1 Introdução

O desenvolvimento de uma colônia de abelhas depende totalmente de características qualitativas e quantitativas dos recursos nectaríferos e poliníferos coletados pelas abelhas operárias, uma vez que o mel, fonte de carboidrato, e o pólen, fonte protéica, são essenciais para a nutrição de larvas e adultos de *Apis mellifera* (L.) (ZERBO; MORAES; BROCHETTO-BRAGA, 2001). A composição e a qualidade dos recursos alimentares, assim como outros fatores que interferem no desenvolvimento das colônias, podem variar conforme a localidade e o período do ano (FUNARI et al., 2003; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006).

Para se obter uma ótima reserva de alimento e elevada taxa de crescimento populacional, as colmeias necessitam de um ótimo aporte alimentar para que possam manifestar toda a capacidade que sua genética tem de se expressar. As características produtivas e reprodutivas de colônias de abelhas são

influenciadas diretamente pelo clima e disponibilidade de alimento na região. Assim, o armazenamento de alimento (mel e pólen), a postura da rainha e a ocupação dos favos estão sujeitos a variações sazonais (PINTO et al., 2008).

A caracterização biológica do mel torna-se importante no controle de qualidade e até mesmo na padronização dos produtos apícolas para possível utilização nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e também no meio ambiente como bioindicadores (LINS et al., 2005; NEVES; ALENCAR; CARPES, 2009). Dentro dessas caracterizações do mel, a melissopalínologia, ciência que trata do estudo das características morfológicas externas de grãos de pólen e esporos e também da sua dispersão e aplicações (BARTH, 1989), é uma ferramenta de extrema importância para compor estudos de monitoramento ambiental utilizando abelhas. Esse ramo da ciência ajuda pesquisadores estabelecer locais de alimentação das abelhas durante determinados períodos, podendo assim identificar todo raio de ação das mesmas, facilitando as buscas por fontes de contaminação.

Os produtos apícolas têm sua imagem associada a produtos naturais e, conseqüentemente, livres de impurezas do ponto de vista higiênico-sanitários e toxicológicos. Contudo, produtos apícolas, são produzidos em ambientes muitas vezes inóspitos, estando sujeito a diferentes fontes de contaminação (POHL et al., 2009). As abelhas operárias fazem viagens exploratórias em áreas que cercam seu habitat, recolhendo água, néctar e grãos de pólen. Com isto, todos os setores ambientais, tais como: solo, vegetação, água e ar, são explorados pelas abelhas, (Figura 1) fornecendo numerosos indícios biológicos, que variam de acordo com as diferentes épocas do ano, contribuindo assim para uma compreensão de possíveis contaminações ambientais por metais pesados. Durante este processo, diversos microrganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e podendo ficar armazenados em sua superfície corporal, serem inalados ou, ainda, ingeridos pelas mesmas (RIBEIRO, 2010).

Pautado neste fato, é de extrema importância o estudo melissopalínológico, para que se possa conhecer a área de monitoramento, rastreando-se as fontes alimentares para localização futura das possíveis causas de contaminação por esses metais.

Figura 1 - Ilustração de setores ambientais visitados pelas abelhas. Setores artificiais ou naturais de possíveis contaminações por metais pesados (POHL, 2009)

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local do estudo

O experimento de campo foi desenvolvido no apiário experimental do Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba – ESALQ/USP / Coordenadas Geográficas – 22° 42’ 02” S / 47° 37’ 35.18” O, elevação de 539 metros. O local de instalação do apiário apresenta domínio de vegetação de Floresta Estacional Semidecidual (Mata Atlântica), porém com amplas áreas antropizadas, onde existem cultivos agrícolas, estações de tratamento de água e esgoto, área urbana e industrial, aeroporto da cidade e a principal rodovia de acesso à cidade (Figura 2).

Figura 2 - Imagem de satélite da área de estudo, com detalhes da antropização. Área de estudo representada pela cor amarela. (GOOGLE EARTH, 2012)

2.2.2 Instalação das colônias e período de coleta

Foram instaladas no apiário experimental seis colmeias de abelhas africanizadas (*A. mellifera*) em caixas do tipo Langstroth (Figura 3), inicialmente com ninho para postura da rainha e armazenamento de mel e pólen, para manutenção da colônia, e durante o período de coleta melgueiras eram adicionadas as mesmas. Foi realizada uma assepsia em todas as caixas antes da instalação das abelhas, para se evitar qualquer tipo de contaminação. Dez dias antes de cada mês de coleta, melgueiras eram adicionadas nas respectivas colônias, para que nesse período elas realizassem toda a limpeza e construção de alvéolos, e iniciassem o armazenamento de alimento (mel). As coletas foram realizadas mês a mês, no período de outubro de 2011 a março de 2012, período que foi possível retirar amostras suficientes para realização das análises do estudo.

Figura 3 - Colmeia do tipo Langstroth

2.2.3 Coleta de amostras

Após a adição das melgueiras nos ninhos, com dez quadros cada, foram realizadas inspeções a cada 15 dias, havendo mel depositado nos quadros da melgueira o mesmo era retirado, ensacado individualmente em sacos plásticos esterilizados, centrifugados, armazenados em recipientes plásticos estéreis e colocados em BOD (Biologic Oxygen Demand) a temperatura constante de 20 °C, com a respectiva identificação da colônia. Após a centrifugação, o material foi homogeneizado e cerca de 200 g de mel de cada colônia foi envasado (Figura 4).

Figura 4 - Procedimento de extração e armazenamento das amostras de mel. (A) Quadros ensacados individualmente, pronto para extração. (B) Centrífuga elétrica APILANI, com capacidade para até 42 quadros de melgueira e 24 de ninho. (C) Amostras acondicionadas em recipientes estéreis após centrifugação, devidamente identificadas. (D) Recipientes com as amostras armazenadas em BOD, com temperatura constante de 20 °C

2.2.4 Análises melissopalínológicas

Com as amostras extraídas e devidamente armazenadas, foi dado procedimento a análise melissopalínológica das mesmas.

A preparação melissopalínologia das amostras foi conforme o método padrão americano, com o uso de acetólise (ERDTMAN, 1960). A identificação dos tipos polínicos baseou-se, principalmente, na coleção de referência de lâminas de microscopia da Palinoteca do Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, assim

como catálogos especializados em morfologia polínica de espécies de diversas floras (BARTH, 1989; ROUBIK; MORENO, 1991; CARREIRA et al., 1996; COLINVAUX; OLIVEIRA; PATIÑO, 1999; MORETI et al., 2002; CARREIRA; BARTH, 2003; GIULIETTI; QUEIROZ, 2006). O termo utilizado para identificação dos tipos polínicos não é relacionado ao Código Internacional de Nomenclatura Botânica e sim estabelece uma proximidade do material analisado a um determinado grupo taxonômico (JOOSTEN; KLERK, 2002), entretanto, a nomenclatura científica utilizada segue a normas propostas pelo APG II (Angiosperm Phylogeny Group II), conforme Souza e Lorenzi (2008), sendo adotada a nomenclatura específica conforme Tropicos.Org (2011). Desta maneira, foram identificados e contados aproximadamente 900 grãos de pólen por amostra, sendo cada tipo polínico fotomicrografado, utilizando um fotomicroscópio Zeiss.

2.2.5 Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, com seis repetições (representadas pelas colmeias) e medidas repetidas no tempo onde foram estudadas famílias e tipos polínicos de plantas visitadas pelas abelhas em seis meses de coleta.

Depois do procedimento de contagem dos grãos de pólen, foi realizado um agrupamento dos mesmos seguindo os seguintes critérios internacionais: Pólen dominante (PD)- mais de 45% do total de grãos de pólen contados; Pólen acessório (PA)- de 16 a 45%; Pólen isolado (PI) – até 15%, subdividido em: Pólen isolado importante (PII): 3 a 15% e Pólen isolado ocasional (PIO): menos de 3% (LOUVEAUX et al., 1978).

Classificados, os dados foram analisados através do procedimento MIXED, do programa SAS[®] (Statistical Analysis System), SAS Institute (2001), a fim de se determinar a estrutura de matriz de variância e covariância. O nível de significância adotado para a análise de variância foi de 5%. Os dados foram transformados para raiz ($X+1$) para que se possa atingir a homocedasticidade na análise de variância.

2.3 Resultados e Discussão

De acordo com as análises melissopalínológicas, as amostras foram classificadas conforme os critérios internacionais segundo LOUVEAUX et al. (1978), seguindo a classificação quanto a sua ocorrência, durante o período de coleta, para cada colônia (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação das famílias e tipos polínicos quanto à ocorrência durante o período de coleta das amostras nas seis colônias utilizadas (outubro/2011 a março de 2012)

(continua)

Famílias botânicas / tipo polínico	Período de coleta	Colmeias (Porcentagem de classe de ocorrência)					
		1	2	3	4	5	6
Arecaceae – Tipo Arecaceae Cruciferae - <i>Raphanus</i> sp. Fabaceae/Caesalpiinoidea - <i>Caesalpinia</i> sp. Fabaceae/Caesalpiinoidea - <i>Cassia</i> sp. Fabaceae/Caesalpiinoidea - <i>Centrosema</i> sp. Fabaceae/Mimosoideae - <i>Anadenanthera</i> sp. Fabaceae/Mimosoideae - <i>Leucaena</i> sp. Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa pudica</i> Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa scabrella</i> Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp. Myrtaceae - Tipo Myrcia Rutaceae - <i>Citrus</i> sp. Urticineae - <i>Morus</i> sp.	outubro (2011)	PIO	PII PIO	PIO	PIO	PIO	
		PII	PII	PII	PII	PII	PIO
			PII	PIO	PIO	PIO	PIO
			PII	PII	PIO	PII	PIO
			PA	PII	PII	PA	PD
		PIO	PII	PIO	PIO	PIO	PII
			PIO		PIO	PIO	PII
		PIO					PA
		PA	PII	PII	PII	PII	PIO
		PD	PA	PD	PD	PD	PII
			PIO				
			PIO				
	novembro (2011)	PII	PII	PII	PII		
			PIO				
		PD	PA	PA	PA	PA	PA

Tabela 1 - Classificação das famílias e tipos polínicos quanto à ocorrência durante o período de coleta das amostras nas seis colônias utilizadas (outubro/2011 a março de 2012)

Famílias botânicas / tipo polínico	Período de coleta	(continua)					
		Colmeias (Porcentagem de classe de ocorrência)					
		1	2	3	4	5	6
	novembro (2011)						
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Caesalpinia pelthophoroides</i>		PIO		PII			
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Caesalpinia</i> sp.			PII		PII		PII
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Centrosema</i> sp.		PIO	PII	PII	PII	PII	PII
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Anadenanthera</i> sp.		PII	PII	PII	PII	PII	PII
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Leucaena</i> sp.		PII	PII	PII	PII	PII	PIO
Malvaceae - <i>Dombeya</i> sp.						PIO	
Malvaceae - <i>Wissadula</i> sp.							PA
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		PII	PII	PII	PII	PII	PII
Myrtaceae- Tipo Myrcia		PA	PA	PA	PA	PA	PA
Rubiaceae - Rubiaceae				PIO		PIO	
Rutaceae - <i>Citrus</i> sp.		PIO					
Urticineae - <i>Morus</i> sp.				PIO			
	dezembro (2011)						
Alismataceae - Alismataceae				PII			
Anacardiaceae – Tipo Anacardiaceae				PIO			
Araceae – Tipo Araceae				PIO	PIO	PIO	PIO
Arecaceae – Tipo Arecaceae		PD	PD	PII	PA	PII	PA
Bombacaceae - <i>Paquira aquatica</i>				PIO		PIO	
Compositae - <i>Parthenium</i> sp.				PIO			
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Caesalpinia pelthophoroides</i>						PIO	
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Caesalpinia</i> sp.		PIO	PIO	PII		PIO	
Fabaceae/Caesalpinioideae - <i>Centrosema</i> sp.		PIO	PIO	PII	PII	PIO	PII
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Anadenanthera</i> sp.		PII	PII	PII	PII	PII	PIO
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Leucaena</i> sp.		PIO	PIO	PII	PIO	PII	PIO

Tabela 1 - Classificação das famílias e tipos polínicos quanto à ocorrência durante o período de coleta das amostras nas seis colônias utilizadas (outubro/2011 a março de 2012)

Famílias botânicas / tipo polínico	Período de coleta	Colmeias (Porcentagem de classe de ocorrência)					
		1	2	3	4	5	6
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa pudica</i>	janeiro (2012)			PIO			
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa scabrella</i>				PII		PA	PII
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		PIO	PII	PII	PII	PII	PII
Myrtaceae- Tipo Myrcia		PA	PA	PD	PA	PA	PA
Rutaceae - <i>Citrus</i> sp.				PIO		PIO	
Urticineae - <i>Morus</i> sp.		PIO					
Amarantaceae - <i>Alternanthera ficoidea</i>			PIO				
Amarantaceae - <i>Amarantus</i> sp.			PIO			PIO	
Araceae – Tipo Araceae			PD	PA	PIO	PII	PII
Arecaceae – Tipo Arecaceae		PD	PII	PII	PII	PA	PA
Bombacaceae - <i>Paquira aquatica</i>				PIO			
Fabaceae/Caesalpinioidea - <i>Cassia</i> sp.					PIO		
Fabaceae/Caesalpinioidea - <i>Caesalpinia pelthophoroides</i>					PIO		
Fabaceae/Caesalpinioidea - <i>Caesalpinia</i> sp.					PIO		
Fabaceae/Caesalpinioidea - <i>Centrosema</i> sp.		PIO			PIO		PIO
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Anadenanthera</i> sp.		PIO	PIO	PIO	PII	PIO	PII
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Leucaena</i> sp.		PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa caesalpinifolia</i>			PII	PII	PIO		
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa pudica</i>							PIO
Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa scabrella</i>			PII	PII	PIO		
Fabaceae/Papilionioidea - <i>Macroptilium</i> sp.					PIO	PIO	
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		PII	PII	PII	PA	PA	PII
Myrtaceae- Tipo Myrcia		PA	PA	PA	PD	PD	PA
Rutaceae - <i>Citrus</i> sp.			PIO	PIO			

Tabela 1 - Classificação das famílias e tipos polínicos quanto à ocorrência durante o período de coleta das amostras nas seis colônias utilizadas (outubro/2011 a março de 2012)

Famílias botânicas / tipo polínico	Período de coleta	(conclusão)					
		Colmeias (Porcentagem de classe de ocorrência*)					
		1	2	3	4	5	6
Arecaceae – Tipo Arecaceae Compositae - <i>Mikania laevigata</i> Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Fabaceae/Mimosoideae - <i>Mimosa scabrella</i> Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp. Myrtaceae- Tipo Myrcia	fevereiro (2012)	PII PIO PD PII PA PII	PII PD PII PA PIO	PII PD PII PA PIO	PA PD PII PA PIO	PA PD PA PIO	PA PA
	março (2012)	PII	PII	PII	PII	PII	PII
		PII	PII	PII	PA PA	PII	PII
		PII					
		PIO					
			PIO		PIO		PIO
		PA	PA	PA	PII	PA	PA
		PIO	PII	PII			
			PIO	PIO		PIO	
		PD	PA	PA	PA	PA	PD
			PII	PII			PIO

Nota: PIO – Pólen Isolado Ocasional (menor que 3%); PII – Pólen Isolado Importante (3% a 15%); PA – Pólen Acessório (16% a 45%); PD – Pólen Dominante (maior que 45%).

Foram encontrados 34 tipos polínicos nas amostras de mel ao longo do período de coleta, pertencente a 20 famílias botânicas, sendo Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae e Myrtaceae (Figura 5) as famílias mais representadas (Tabela 2). Comparando os resultados com trabalhos de Modro, et al. (2011) e

Silveira, et al. (2012), realizados na mesma região, porém com identificação botânica das cargas de pólen coletado pelas abelhas *A. mellifera* no período de um ano, observa-se um número reduzido de tipos polínicos na atividade de coleta de néctar por parte dessas abelhas. Segundo os autores, na identificação botânica das cargas de pólen foram encontrados entre 60 e 80 tipos polínicos. Contudo, apesar do número reduzido de tipos polínicos comparado com os dados de coleta de pólen, o estudo melissopalínológico foi realizado em duas estações, mostrando-se assim uma grande diversidade de espécies botânicas visitadas pelas abelhas durante o período. A variação no forrageamento das fontes botânicas por parte das abelhas, independentes do recurso coletado, mel ou pólen, pode ser variável, e dependente de diversos fatores como floração de espécies vegetais, condições climáticas, necessidade da colônia e competição com outras espécies de abelhas (GONZALEZ et al., 1995; VILLANUEVA; ROUBIK 2004; WEBBY, 2004; KELLER; PETER; IMDORF, 2005).

Figura 5 - Representação dos principais tipos polínicos encontrados em amostras de mel, coletadas de outubro de 2011 a março de 2012. (1) *Mimosa caesalpinifolia*; (2) *Mimosa scabrella*; (3) Tipo *Arecaceae*; (4) *Anadenanthera* sp.; (5); *Eucalyptus* sp.; (6) Tipo *Myrcia*

Tabela 2 - Quadro de médias representando a porcentagem de pólen dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel coletadas durante o período de outubro de 2011 a março de 2012

(continua)

Porcentagem^{1#}						
Família/ Tipo polínico	out	nov	dez	jan	fev	mar
Alismataceae / Alismataceae (1)	0,00±3,29 (1,00±0,34) D	0,00±2,28 (1,00±0,34) C	1,00±3,18 (1,33±0,34) B	0,00±3,26 (1,00±0,34) C	0,00±2,17 (1,00±0,34) D	0,00±2,66 (1,00±0,34) D
Amarantaceae <i>Alternanthera ficoidea</i> (2)	0,00±2,55 (1,00±0,26) D	5,00±1,77 (2,34±0,26) BC	0,00±2,47 (1,00±0,26) B	0,120±2,51 (0,08±0,26) C	0,00±1,68 (1,00±0,26) D	0,00±2,06 (1,00±0,26) D
Amarantaceae <i>Amaranthus</i> sp.(3)	0,00±4,04 (1,00±0,41) D	0,00±2,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	1,00±3,98 (1,41±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Anacardiaceae Anacardiaceae (4)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,25±1,98 (1,10±0,29) C	0,25±2,76 (1,10±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Araceae / Araceae (5)	0,00±2,33 (1,00±0,24) D	0,00±1,61 (1,00±0,23) C	1,00±2,25 (1,38±0,24) B	16,83±2,29 (3,67±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	8,83±1,88 (2,99±0,24) BC
Arecaceae / Arecaceae (6)	1,17±2,33 (1,44±0,24) CD	37,83±1,61 (6,21±0,24) A	34,33±2,25 (5,71±0,24) A	21,67±2,29 (4,47±0,24) AB	13,83±1,53 (3,78±0,24) B	12,00±1,88 (3,49±0,24) B
Asteraceae <i>Bidens</i> sp.(7)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,00±1,98 (1,00±0,29) C	0,00±2,75 (1,00±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Asteraceae <i>Helianthus annuus</i> (8)	0,00±4,04 (1,00±0,41) D	0,00±2,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	0,00±3,98 (1,00±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Bombacaceae <i>Pachira aquática</i> (9)	0,00±3,29 (1,00±0,34) D	0,00±2,28 (1,00±0,34) C	0,67±3,18 (1,28±0,34) B	0,33±3,25 (1,14±0,34) C	0,00±2,17 (1,00±0,34) D	0,00±2,66 (1,00±0,34) D
Compositae <i>Ambrosia</i> sp. (10)	0,00±3,29 (1,00±0,34) D	0,00±2,28 (1,00±0,34) C	0,00±3,18 (1,00±0,34) B	0,00±3,25 (1,00±0,34) C	0,00±2,17 (1,00±0,34) D	0,00±2,66 (1,00±0,34) D
Compositae <i>Mikania laevigata</i> (11)	0,00±2,33 (1,00±0,24) D	0,00±1,61 (1,00±0,24) C	0,00±2,25 (1,00±0,24) B	0,00±2,30 (1,00±0,24) C	0,17±1,53 (1,07±0,24) D	0,00±1,88 (1,00±0,24) D

Tabela 2 - Quadro de médias representando a porcentagem de pólen dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel coletadas durante o período de outubro de 2011 a março de 2012

(continuação)

Família/ Tipo polínico	Porcentagem ^{1#}					
	out	nov	dez	jan	fev	mar
Compositae <i>Parthenium</i> sp. (12)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,00±1,98 (1,00±0,29) C	0,25±2,75 (1,10±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Cruciferae <i>Raphanus</i> sp. (13)	0,40±2,55 (1,15±0,26) D	0,00±1,77 (1,00±0,26) C	0,00±2,47 (1,00±0,26) B	0,00±2,51 (1,00±0,26) C	0,00±1,68 (1,00±0,26) D	3,20±2,05 (1,62±0,26) CD
Euphorbiaceae <i>Croton</i> sp. (14)	0,00±4,04 (1,00±0,41) D	0,00±2,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	0,00±3,98 (1,00±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Fabaceae/ Caesalpiinoidea <i>Cassia</i> sp. (15)	1,75±2,85 (1,57±0,29) CD	0,00±1,98 (1,00±0,29) C	0,00±2,75 (1,00±0,29) B	0,00±2,51 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Fabaceae/ Caesalpiinoidea <i>Caesalpinia</i> <i>pelthophoroides</i> (16)	0,00±2,33 (1,00±0,24) D	0,67±1,61 (1,23±0,23) C	0,17±2,25 (1,07±0,24) B	0,17±2,29 (1,07±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,00±1,88 (1,00±0,24) D
Fabaceae/ Caesalpiinoidea <i>Caesalpinia</i> sp. (17)	4,50±2,33 (2,29±0,24) CD	2,50±1,61 (1,71±0,23) BC	1,83±2,25 (1,59±0,24) B	0,17±2,29 (1,07±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,00±1,88 (1,00±0,24) D
Fabaceae/ Caesalpiinoidea <i>Centrosema</i> sp. (18)	3,17±2,33 (1,96±0,24) CD	3,50±1,61 (2,10±0,24) BC	2,67±2,25 (1,89±0,24) B	0,50±2,29 (1,21±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,00±1,88 (1,00±0,24) D
Fabaceae/ Mimosoideae <i>Anadenanthera</i> sp. (19)	17,33±2,33 (3,89±0,24) B	4,50±1,61 (2,31±0,24) BC	4,17±2,25 (2,23±0,24) B	3,67±2,29 (2,05±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,17±1,88 (1,07±0,24) D
Fabaceae/ Mimosoideae <i>Leucaena</i> sp. (20)	3,83±2,33 (1,99±0,24) CD	5,67±1,61 (2,53±0,23) BC	2,00±2,25 (1,70±0,24) B	1,50±2,29 (1,57±0,24) B	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,50±1,88 (1,21±0,24) D

Tabela 2 - Quadro de médias representando a porcentagem de pólen dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel coletadas durante o período de outubro de 2011 a março de 2012

(continuação)

Família/ Tipo polínico	Porcentagem ^{1#}					
	out	nov	dez	jan	fev	mar
Fabaceae/ Mimosoideae <i>Mimosa</i> <i>caesalpinifolia</i> (21)	0,00±2,33 (1,00±0,24) D	0,00±1,61 (1,00±0,24) C	0,00±2,25 (1,00±0,24) B	1,33±2,29 (1,44±0,24) C	55,00±1,53 (7,47±0,24) A	28,50±1,88 (5,37±0,24) A
Fabaceae/ Mimosoideae <i>Mimosa pudica</i> (22)	1,17±2,33 (1,43±0,24) CD	0,00±1,61 (1,00±0,23) C	0,17±2,25 (1,07±0,24) B	0,17±2,29 (1,07±0,24) C	0,00±1,53 (1,00±0,24) D	0,00±1,88 (1,00±0,24) D
Fabaceae/ Mimosoideae <i>Mimosa scabrella</i> (23)	4,17±2,33 (1,68±0,24) CD	0,00±1,61 (1,00±0,23) C	10,00±2,25 (2,60±0,24) B	2,33±2,29 (1,65±0,24) C	6,83±1,53 (2,76±0,24) C	1,67±1,88 (1,53±0,24) CD
Fabaceae/ Papilioniodeae <i>Macroptilium</i> sp. (24)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,00±1,98 (1,00±0,29) C	0,00±2,75 (1,00±0,29) B	0,50±2,81 (1,21±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Lamiaceae / <i>Hyptis</i> sp (25)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,00±1,98 (1,00±0,29) C	0,00±2,75 (1,00±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	1,00±2,30 (1,39±0,29) CD
Malvaceae / <i>Dombeya</i> sp. (26)	0,00±2,85 (1,00±0,29) D	0,50±1,98 (1,18±0,29) C	0,00±2,76 (1,00±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D
Myrtaceae / <i>Eucalyptus</i> sp. (27)	9,20±2,55 (3,08±0,26) BC	9,80±1,77 (3,26±0,26) B	6,20±2,46 (2,61±0,26) B	13,40±2,51 (3,76±0,26) B	20,80±1,68 (4,66±0,26) B	40,80±2,05 (6,44±0,26) A
Myrtaceae / Tipo <i>Myrcia</i> (28)	54,17±2,33 (7,07±0,24) A	27,50±1,61 (5,31±0,24) A	34,67±2,25 (5,93±0,24) A	36,33±2,30 (6,03±0,24) A	2,00±1,53 (1,68±0,24) C	1,33±1,88 (1,44±0,24) CD
Rhamnaceae <i>Havena dulcis</i> (29)	0,00±4,03 (1,00±0,41) D	0,00±1,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	0,00±3,98 (1,00±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Rubiaceae / Rubiaceae (30)	0,00±3,29 (1,00±0,34) D	0,67±2,28 (1,28±0,34) BC	0,00±3,18 (1,00±0,34) B	0,00±3,25 (1,00±0,34) C	0,00±2,17 (1,00±0,34) D	0,00±2,66 (1,00±0,34) D

Tabela 2 - Quadro de médias representando a porcentagem de pólen dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel coletadas durante o período de outubro de 2011 a março de 2012

(conclusão)

Família/ Tipo polínico	Porcentagem ^{1#}					
	out	nov	dez	jan	fev	mar
Rutaceae / <i>Citrus</i> sp. (31)	0,20±2,55 (1,08±0,26) D	0,20±1,77 (1,08±0,26) C	0,60±2,46 (1,23±0,26) B	0,40±2,51 1,16±0,26)C	0,00±1,68 (1,00±0,26) D	0,00±2,05 (1,00±0,26) D
Sapindaceae / Sapindaceae (32)	0,00±4,04 (1,00±0,41) D	0,00±2,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	0,00±3,98 (1,00±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Solanaceae / <i>Datura</i> sp. (33)	0,00±4,04 (1,00±0,41) D	0,00±2,80 (1,00±0,41) C	0,00±3,90 (1,00±0,41) B	0,00±3,98 (1,00±0,41) C	0,00±2,65 (1,00±0,41) D	0,00±3,25 (1,00±0,41) D
Urticineae <i>Morus</i> sp. (34)	0,25±2,85 (1,10±0,29) D	0,25±1,98 (1,10±0,29) C	0,25±2,76 (1,10±0,29) B	0,00±2,81 (1,00±0,29) C	0,00±1,87 (1,00±0,29) D	0,00±2,30 (1,00±0,29) D

Nota: Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$)

¹ Médias entre parêntesis são médias transformadas para Raiz de (X+1)

estatística referente a dados transformados

Os tipos polínicos da família Arecaceae estiveram presentes nos meses de novembro/2011, dezembro/2011 e janeiro/2012. No entanto, ocorreram de forma dominante somente nas colônias 1 e 2 no período de novembro/2011 e dezembro/2011, permanecendo como pólen acessório e isolado nas outras colônias. Fato esse, de dominância bastante interessante, pois espécies dessa família normalmente apresentam uma ocorrência maior durante estudos palinológicos de cargas de pólen coletados por parte das abelhas. A família Arecaceae apresenta uma taxa elevada de produção de pólen devido à síndrome de polinização existente na maioria das espécies (BARFOD; HAGEN; BORCHSENIUS, 2011). No entanto, é possível ocorrer uma atividade de coleta de néctar nessas espécies, pois apesar da grande produção de pólen, as flores também são produtoras de néctar (KÜCHMEISTER et al., 1997; MANTOVANI; MORELLATO, 2000; VENTURIERI,

2008; KIDYOO; McKEY, 2012). Segundo Aronne (2012), durante grande parte da atividade de seleção de recursos alimentares por parte das abelhas, com atividade baseada principalmente na qualidade dos recursos poliníferos, tornando num recurso primário de coleta, deixando o néctar, na maioria das vezes, em um plano secundário. Pautado nesse fato, pode-se explicar a presença de tipos polínicos da família Arecaceae durante o estudo palinológico das amostras de mel, compreendendo que as abelhas poderiam estar buscando recursos poliníferos e “otimizaram” a atividade de forrageamento, realizando também a coleta de néctar.

Tipos pertencentes à família Fabaceae/Mimosoideae, como *Anadenanthera* sp., foram dominantes nas colônias 5 e 6, nos meses de outubro/2011, não apresentando significância nos outros meses. Já *Mimosa scabrella* foi representativa apenas em outubro/2011 e dezembro/2011, nas colmeias 5 e 6, respectivamente. Ainda na mesma família, *Mimosa caesalpinifolia* foi predominante nos meses de fevereiro e março/2012, mostrando-se como uma fonte de recurso alimentar importante para todas as colônias, visto que, em fevereiro foi dominante em 83,33% das colônias, acontecendo da mesma forma no mês de março.

Na família Myrtaceae, dois tipos polínicos estiveram presentes, *Eucalyptus* sp. e tipo Myrcia. Tipo Myrcia mostrou-se nessa família como uma importante fonte alimentar para as abelhas, pois esteve presente de forma significativa (dominante e acessório) de outubro/2011 a janeiro/2012, podendo ser considerada como uma das espécies principais para manutenção das colônias de abelhas. Já *Eucalyptus* sp. só esteve presente a partir do mês de janeiro/2012, mas também se mostrou uma importante fonte de recurso alimentar para as abelhas durante o período que foi encontrado.

Estudos anteriores na região mencionam as famílias Fabaceae/Mimosoideae e Myrtaceae, como fontes dominantes de alimento para as abelhas *A. mellifera*, mostrando a importância dessas famílias para a alimentação das colônias, tanto para recursos nectaríferos como poliníferos durante determinados períodos do ano (MODRO et al., 2011).

Do ponto de vista do biomonitoramento ambiental, podemos pontuar espécies que se destacaram como relevantes fontes de recurso alimentar, através dos tipos polínicos encontrados, como espécies de plantas com potencial para localização de fontes de contaminação, visto que apesar da ocorrência de outros

tipos polínicos, as abelhas apresentaram uma atividade de coleta de alimento intensa sobre essas espécies de plantas.

No entanto, para estudo de localização geográfica de recursos alimentares utilizados pelas abelhas, o pólen considerado de ocorrência isolada pode servir também como um importante indicativo para monitoramento da área do estudo, mesmo apresentando pouca importância com relação à quantidade de néctar fornecido (BARTH, 1989).

2.4 Conclusões / Considerações finais

Apesar de pouco recurso nectarífero, espécies da família Arecaceae são importantes fornecedoras de recurso alimentar para as abelhas, durante algumas estações do ano.

Tipos polínicos, pertencentes às famílias Arecaceae, Fabaceae/Mimosoideae e Myrtaceae são possíveis pontos-chaves para localização de contaminação ambiental, fornecendo um direcionamento para estudos posteriores.

A família Myrtaceae, representada pelo tipo polínico Tipo Myrcia (que engloba as espécies *Psidium*, *Myrcia* e *Myrciaria*), apresenta grande importância no fornecimento de recurso alimentar durante o período de estudo.

Referências

ARONNE, G.; GIOVANETTI, M.; GARRACINO, M.R.; MICCO, V. Foraging rules of flower selection applied by colonies of *Apis mellifera*: ranking and associations of floral sources. **Functional Ecology**, London, v. 26, p. 1186-1196, 2012.

BARFOD, A.S.; HAGEN, M.; BORCHSENIUS, F. Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). **Annals of Botany**, Exert, v. 108, p. 1503-1516, 2011.

BARTH, O.M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 1989. 150 p.

CARREIRA, L.M.M.; BARTH, O.M. **Atlas de pólen da vegetação de Canga da Serra dos Carajás, Pará**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2003. 112 p.

- CARREIRA, L.M.M.; SILVA, M.F. da; LOPES, J.R.C.; NASCIMENTO, L.A.S. **Catálogo de pólen das leguminosas da Amazônia Brasileira**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 137 p. (Coleção Adolpho Ducke)
- COLINVAUX, P.; OLIVEIRA, P.E. de; PATIÑO, J.E.M. **Amazon pollen manual and atlas**. Amsterdam: Harwood Academic, 1999. 332 p.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**: Angiosperms. Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952. 539 p.
- FUNARI, S.R.C.; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M.; CURI, P.R. ; FUNARI, A.R.M.; ORSI, R. O. Efeitos da coleta de pólen no desenvolvimento de colônias e na composição bromatológica de pupas de *Apis mellifera* L. **Archivos Latinoamericanos Produccion Animal**, Mayaguez, v. 11, n. 2, p. 80-86, 2003.
- GIULIETTI, A.M.; QUEIROZ, L.P. de. **Apium plantae**. Recife: IMSEAR, 2006. v. 3, 130 p.
- GONZALEZ, A.; ROWE, C.L.; WEEKS, P.J.; WHITTLE, D.; GILBERT, F.S. BARNARD, C.J. Flower choice by honey bees (*Apis mellifera* L.): sexphase of flowers and preferences among nectar and pollen foragers. **Oecologia**, Marbug, v. 101, p. 258–264, 1995.
- GOOGLE EARTH. **Image IBICAO Data SIO, U.S. Navy, NGA, GEBCO**. Disponível em: <<http://www.google.com/earth/index.html>> Acesso em: 27 ago. 2012.
- JOOSTEN, H.; KLERK, P. What's in name? some thoughts on pollen classification, identification, and nomenclature in quaternary palynology. **Review of Paleobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 122, p. 29-45, 2002.
- KELLER, I.; PETER, F.; IMDORF, A. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. **Bee World**, London, v. 86, p. 3–10, 2005.
- KIDYOO, A.M.; McKEY, D. Florewing phenology mimicry on the rattan *Calamus castaneus* (Arecaceae) in southern Thailand. **Botany-Botanique**, Paris, v. 90, n. 9, p. 856-865, 2012.
- KÜCHMEISTER, H.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G. Flowering, pollination, nectar standing crop, and nectaries of *Euterpe precatoria* (Arecaceae), an Amazonian rain forest palm. **Plant Systematics and Evolution**, Jena, v. 206, p. 71–97, 1997.
- LINS, A.C.S. ; SILVA, T.M.S.; CAMARA, C.A.; DÓREA, M.C. SANTOS, F.A.R.; SILVA, R.A. Estudo químico, análise palinológica e atividade antiradicalar do pólen apícola (*Apis mellifera*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29., 2005, Águas de Lindóia. **Anais...** Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cd29ra/listaresumo.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2012.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of Melissopalynology. **Bee World**, London, v. 59, p. 139–157, 1978.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L.P.C. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmitreiro. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis Martius – (Palmitreiro)***: biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 283-301.

MARCHINI, L.C.; REIS, V.D.A.; MORETI, A.C.C.C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, estado de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 949-953, 2006.

MODRO, A.F.H. **Influência do pólen sobre o desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.)** 2011. 98p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba 2011.

MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P. da.; MEIRA NETO, J.A.A. Flora de importância polinífera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1145-1153, 2011

MORETI, A.C.C.C.; MARCHINI, L.C.; RODRIGUES, R.R.; SOUZA, V.C. **Atlas do pólen de plantas apícolas**. Rio de Janeiro: Papel Virtual, 2002. 52 p.

NEVES, L.C.; ALENCAR, S.M.; CARPES, S.T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, p. 107-110, 2009.

PINTO, M.R.; ORENHA, C.E.; LEITE, F.P.L.; DALLMANN, P.R. Avaliação de áreas de cria e de reserva de alimento em colônias de *Apis mellifera* africanizadas submetidas à diferentes dietas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Resumos...** Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/lista_area_15.htm>. Acesso em: 16 ago. 2012.

POHL, P.; SERGIEL, I.; STECKA, H. Determination and fractionation of metals in honey. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 39, n. 4, p. 276-288. 2009.

RIBEIRO, R.O.R. **Elementos traços em méis de abelhas (*Apis mellifera*) do estado do Rio de Janeiro, Brasil**: influências da sazonalidade. 2010. 106 p. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

ROUBIK, D.W.; MORENO, J.E.P. **Pollen and spore of barro Colorado Island**. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1991. 268 p. (Monographs in Systematics Botany, 36).

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software**: changes and enhancements through release 8.02. Cary, 2001. 1167 p.

SILVEIRA, T.A.; CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; MORETTI, C.C.C.A.; OTSUK, I.P.; MARCHINI, L.M. Botanical origin of protein sources used by honeybees (*Apis mellifera* L.) in Atlantic Forest. **Sociobiology**, Chico, v. 59, n. 4, p. 1-10, 2012.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das família fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, Baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Intituto Plantarum, 2008. 704 p.

TROPICOS.ORG. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em: 22 jan. 2011.

VENTURIERI, G. Floral biology and management of stingless bees to pollinate assai palm (*Euterpe oleracea* Mart., Arecaceae) in eastern amazon. In: ALVAREZ, C.A.B; LANDEIRO, M. **Pollinators management in Brazil**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. p. 10-13.

VILLANUEVA, G.R.; ROUBIK, D.W. Why are African honey bees and not European bees invasive? Pollen diet diversity in community experiments. **Apidologie**, Paris, v. 35, p. 481–491, 2004.

WEBBY, R. Floral origin and seasonal variation of bee-collected pollens from individual colonies in New Zealand. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 43, p. 83–92, 2004.

ZERBO, A.C.; MORAES, R.L.M.S.; BROCHETTO-BRAGA, M.R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidia, Meliponinae) midgut proteolytic activity and pollen digestion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 129, p. 139 -147, 2001.

3 DETERMINAÇÃO DE HMF, CINZAS E ELEMENTOS TRAÇOS (Zn, Pb, Cd e Cu) EM MEL DE ABELHAS *Apis mellifera* (L.) – UMA BASE PARA A BIOINDICAÇÃO

Resumo

Considerado como um dos alimentos mais antigos da história humana, com o passar do tempo desde o seu descobrimento, notou-se o quanto esse o mel era benéfico, sendo utilizado em diversas finalidades. Coletado a partir de fontes florais ou não, o mesmo é elaborado por abelhas operárias, sofrendo transformações físicas e químicas. As abelhas no momento da coleta de alimento realizam viagens exploratórias em busca de pólen e néctar visitando diversos ambientes, e por essa razão são considerados indivíduos biomonitoradores natos, podem ser utilizados para identificação de diversas fontes de contaminação, como na detecção de metais pesados no ambiente. No entanto, para tal função esses insetos precisam ser melhores entendidos com relação a esses elementos. Portanto, o objetivo do estudo foi caracterizar as amostras de méis, em relação à presença de 5-hidroximetilfurfural (HMF) e o teor de cinzas, bem como realizar a quantificação de quatro elementos traços (Zn, Cd, Pb e Cu) presentes nas amostras. O trabalho foi realizado no apiário experimental e no laboratório de Insetos Úteis no Departamento de Entomologia e Acarologia, em parceria com o laboratório de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciências do Solo. Todas as amostras apresentaram HMF e teores de cinzas dentro do padrão estabelecido pela legislação, apresentando flutuações durante o período de estudo. Em relação aos metais detectados, o chumbo (Pb) foi o elemento que apresentou, em média, a maior concentração no mel de *Apis mellifera*, cerca de 2,11 mg.kg⁻¹, seguido do Zinco, com média de 1,56 mg.kg⁻¹, e logo após o Cobre com valores médios de 0,35 mg.kg⁻¹. Cádmio não esteve presente em nenhuma amostra analisada. O estudo comprova a importância do monitoramento de características físico-químicas, bem como a identificação de metais pesados no mel, podendo ser utilizado junto com outros produtos apícolas como bioindicador de poluição ambiental.

Palavras-chave: Metais pesados; Produtos apícolas; Zinco; Cobre; Cádmio; Chumbo

Abstract

As one of the most ancient food in the human history, it has been over time realized how this product was beneficial, being used for several goals. Collecting from floral sources or not, it is made by worker bees that undergo different transformations. At the collecting food moment, these bees display several exploratory flights, searching for these resources in different environments. Thus, they can be born bio-monitor individuals and can be used in order to identify distinct contamination sources, like detecting heavy metal in the environment. However, for such role, these insects need to be better understood in regard to these elements. Therefore, the aim of this study was to characterize the honey samples in relation to 5-hidroximetilfurfural (HMF) and ashes content, as well as to quantify four trace

elements (Zn, Cd, Pb e Cu) in the samples. The study was carried out at the experimental apiary and at the Economically Important Insects laboratory in Entomology and Acarology department, in partnership with Plant Tissue laboratory in the Soil Science department. All the samples showed HMF and ashes content within the standard established by law, exhibiting fluctuations during the study season. Regarding to detected metals, lead (Pb) was the element which showed the highest average concentration in *Apis mellifera* honey, about 2,11 mg.Kg⁻¹ throughout the study. Zinc followed, with average of 1.56 mg.kg⁻¹, and just after the copper with average values of 0.35 mg.kg⁻¹. Cadmium was not present in any sample analyzed. The study demonstrates the importance of monitoring the physical and chemical characteristics as well as the identification of heavy metals in the environment, the honey can be used with other bee products as a environmental pollution bio-indicator.

Keywords: Heavy metals, Bee products, Zinc, Copper, Cadmium, Lead.

3.1 Introdução

O mel, em conjunto com o pão e o vinho, certamente é um dos alimentos mais antigos da história humana, e a sua importância não se restringe somente às civilizações antigas, tendo uma inegável relevância nos dias atuais como um produto natural, de grande apelo e com diversas aplicações funcionais (COUTO; COUTO, 2002). Portanto, este alimento, seu processamento e consumo se mesclam com a evolução humana, de modo que ele já era reconhecido por seus aspectos sensoriais peculiares e por sua disponibilidade vinculada à existência das abelhas melíferas. Entretanto, mesmo com esta observação, os primórdios da atividade apícola não se caracterizavam por um caráter preservacionista das abelhas, e conservação de características do mel (COUTO; COUTO, 2002).

Com o passar dos anos, aprendeu-se, empiricamente, que o mel possuía propriedades benéficas à saúde como a sua ação cicatrizante, o que difundiu o seu consumo e distintos usos (GUDGER, 1925; WEISS, 1947; CONCONI; PINO, 1988; ANTONIO, 1994; COSTA NETO, 2002). De fato, esta expansão se manifesta até os dias atuais, em que o alimento é utilizado em diversos produtos de origem natural, assim como, em produtos industrializados. A grande relevância atribuída ao mel, atualmente, é oriunda do aumento do interesse do consumo e de pesquisas. Certamente, ele não é designado simplesmente como um excelente adoçante, mas como um alimento com propriedades nutricionais significativas, devido à presença de moléculas com potencial antioxidante, probióticos e vitaminas

(COSTA NETO; PACHECO, 2005), e até mesmo como um bioindicador de poluição ambiental (PORRINI et al., 2003).

Entende-se por mel,

O produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores das mesmas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam amadurecer no interior da colônia (BRASIL, 2000, p. 1).

O mel, produto resultado da desidratação e transformação do néctar, possui geralmente diferenças de acordo com sua origem botânica. A quantidade de néctar que pode ser obtida pelas abelhas, em uma determinada planta, varia com os fatores que influenciam a produção e concentração de néctar, e ainda com a concentração e proporções de carboidratos, com a qualidade de flores e o número de dias, às vezes horas, que as flores estão secretando néctar (CRANE, 1990). Todavia, o mel depende das características de cada planta e das influências climáticas sobre as mesmas (WHITE JUNIOR, 1978).

De acordo com a Instrução Normativa nº 11, 20 de Outubro de 2000, mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose, contendo, ainda uma mistura complexa de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen podendo conter cera de abelhas procedente do processo de extração. Assim definido no regulamento, proibido de sofrer qualquer tipo de adulterações, como adição de outros açúcares ou substâncias que alterem a composição original. Torna-se dessa forma importante conhecer alguns parâmetros que conferem a autenticidade do mel, como 5-hidroximetilfurfural (HMF) e cinzas, bem como a identificação de teores de contaminantes, como os metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu).

O HMF geralmente não está presente em méis frescos e seu conteúdo tende a aumentar durante o processo de aquecimento e o longo tempo de

estocagem (GOKMEN; ACAR, 1999; ZAPALA et al., 2005), pela reação de Maillard em carboidratos ou desidratação catalítica ácida das hexoses. O HMF é um dos principais produtos de degradação do mel, sendo de grande importância seu conhecimento para comprovação de possíveis alterações, como adição de outros elementos que alteram a constituição do mel, como a sacarose (SPANO et al., 2006). A flutuação de HMF em méis tem sido investigada como um parâmetro muito importante para certificar sua qualidade. A presença de componentes potencialmente tóxicos em alimentos vêm aumentando a atenção de agências protetoras do consumidor e de controle de qualidade. Em particular, alguns estudos mostram que o HMF está entre as substâncias de risco de citotoxicidade, genotoxicidade e atividade mutagênica (SPANO et al., 2009). O máximo de HMF permitido pela Legislação do Mercosul e do Codex Alimentarius é de 60 mg.kg^{-1} , sendo aceito até 80 mg.kg^{-1} para regiões tropicais (MARCHINI; SODRÉ; MORETTI, 2004).

Os minerais presentes no mel são expressos em teor de cinzas, parâmetro bastante utilizado em teste para comprovar a qualidade do mel. Minerais presentes no mel podem ser modificados por diversos fatores sejam climáticos, origem botânica, manejo apícola, etc. (LASCEVE; GONNET, 1974; BOGDANOV et al., 1997; CARVALHO et al., 2000, 2005). Assim méis de origem floral apresentam teores de minerais reduzidos quando comparados com méis de origem não floral (BOGDANOV, 1999). Apesar de estarem presentes em pequenas porcentagens, variando entre 0,01% a 1,2% dependendo da origem, os minerais são considerados importantes do ponto de vista alimentício por serem encontrados na forma diretamente assimilável (FRIAS; HARDISSON, 1992). Apesar da faixa que pode ser encontrado, a legislação aceita até 0,06% de cinzas presentes no mel (CARVALHO et al., 2005)

Além desses parâmetros físico-químicos, a detecção de elementos traços em méis é outro fator importante, tanto do ponto de vista de segurança alimentar como na utilização das abelhas como bioindicadores para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos (RISSATO et al., 2006). Atualmente a apicultura vem sendo praticada em ambientes cada vez mais urbanizados, deixando as mesmas expostas mais facilmente a contaminantes. Devido a grande atividade de forrageamento em busca de alimento, as abelhas visitam diversos setores do ambiente, contaminando-se diretamente em possíveis

fontes poluentes, e em consequência disso, indiretamente, contaminam seus produtos (WOLF; REIS; SANTOS, 2008).

No entanto, a detecção de elementos traços (metais pesados) requer um método de análise sensível e eficiente, constituindo uma etapa crucial em estudos desse tipo. Vários são os métodos multirresíduos capazes de detectar e quantificar diversos elementos, em um período de tempo relativamente curto (ALBERO; SÁNCHEZ-BRUNETE; TADEO, 2005), porém o custo operacional elevado pode inviabilizar sua realização por partes de muitos setores de produção, dentre eles a apicultura, que apresenta em sua maioria pequenos produtores. Assim, é proposta para esse tipo de análise, a técnica analítica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV), considerada simples e de baixo custo operacional, apresentando alta sensibilidade (detecções a níveis de ng.kg^{-1}) e uma especiação em relação a diversos elementos como, Zinco (Zn), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb) e Cobre (Cu) (TONIETTO; GRASSI, 2012), fornecendo uma resposta segura em relação a quantificação desses elementos.

Portanto, o objetivo do estudo foi caracterizar as amostras de méis, em relação à presença de 5-hidroximetilfurfural (HMF) e o teor de cinzas, bem como realizar a quantificação de quatro elementos traços (metais pesados) presentes nas amostras.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local da área experimental

O experimento de campo foi desenvolvido no apiário experimental do Laboratório de Insetos Úteis, do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo / Coordenadas Geográficas – 22° 42’ 02” S / 47° 37’ 35.18” O, elevação de 539 metros. O local de instalação do apiário apresenta domínio de vegetação de Floresta Estacional Semidecidual (Mata Atlântica), porém com amplas áreas antropizadas, onde existem cultivos agrícolas, estações de tratamento de água e esgoto, área urbana e industrial, aeroporto da cidade e a principal rodovia de acesso à cidade.

3.2.2 Instalação das colônias e período de coleta

Foram instaladas no apiário experimental seis colmeias de abelhas africanizadas (*A. mellifera*) em caixas do tipo Langstroth, inicialmente com ninho para postura da rainha e armazenamento de mel e pólen, para manutenção da colônia, e durante o período de coleta melgueiras eram adicionadas às mesmas. Foi realizada uma assepsia em todas as caixas antes da instalação das abelhas, para se evitar qualquer tipo de contaminação. Dez dias antes de cada mês de coleta, melgueiras eram adicionadas nas respectivas colônias, para que nesse período elas realizassem toda a limpeza e construção de alvéolos, e iniciassem o armazenamento de alimento (mel). As coletas foram realizadas mês a mês, de outubro de 2011 a março de 2012, período que foi possível retirar amostras suficientes para realização das análises do estudo.

3.2.3 Coleta de amostras

Após a adição das melgueiras nos ninhos, com dez quadros cada, foram realizadas inspeções a cada 15 dias. Existindo mel depositado nos quadros da melgueira os mesmos eram retirados, ensacado individualmente em sacos plásticos esterilizado, centrifugado, depositado em recipientes plásticos estéreis e armazenados em BOD (Biologic Oxygen Demand) a temperatura constante de 20 °C, com a respectiva identificação da colônia. O material era homogeneizado e cerca de 200 g de mel para cada colônia era envasado. Durante todo o procedimento as amostras não tiveram contato com nenhuma superfície ou material metálico para evitar qualquer tipo de contaminação externa.

3.2.4 Dados meteorológicos e de monitoramento da qualidade do ar

Os dados climáticos referentes à: Umidade, Vento, Precipitação, Temperatura e Evapotranspiração, do período de coleta das amostras de mel, foram fornecidos pelo Posto Meteorológico do Departamento de Engenharia de Biossistemas da ESALQ/USP, dados esses coletados diariamente.

Já as informações sobre partículas inaláveis (MP_{10}) suspensas no ar na região de estudo foram fornecidas pelo Sistema de Informação da Qualidade do Ar (QUALAR) da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB. A companhia possui dois pontos de monitoramento na cidade de Piracicaba/SP, onde esse estudo foi conduzido. Segundo informações da CETESB, a denominação geral de partículas inaláveis se encontra um conjunto de poluentes constituídos de poeiras, fumaças e todo tipo de material sólido e líquido que se mantém suspenso na atmosfera por causa de seu pequeno tamanho. As principais fontes de emissão de material particulado para a atmosfera são: veículos automotores, processos industriais, queima de biomassa, ressuspensão de poeira do solo, entre outros. Informações essas de grande relevância para o trabalho.

3.2.5 Parâmetros físico-químicos

3.2.5.1 HMF

A determinação do 5-hidroximetilfurfural (HMF) é baseada na leitura, em diferentes escalas, da absorbância UV. Foi determinado conforme o método de White Junior (1978), modificado por Bogdanov et al. (1997) (Figura1).

O procedimento foi realizado no Laboratório de Insetos Úteis do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba – ESALQ/USP.

- Equipamentos utilizados

Espectrofotômetro (utilizando o comprimento de onda de 284 a 336 nm), misturador turbilhão e balança analítica.

- Vidraria e utensílios

Bécher de 50 mL, bastão de vidro, balão volumétrico de 50 mL e 100 mL, pipeta de 1 mL e 10 mL, tubos (18 x 150mm), papel filtro, espátula e cubeta de quartzo de 10 mm .

- Reagentes

Ferrocianeto de potássio $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, acetato de zinco $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ e bissulfito de sódio $NaHSO_3$.

- Preparo de soluções

- Solução de Carrez I: foram dissolvidos 15 g de ferrocianeto de potássio em água destilada e completado o volume em balão volumétrico até o menisco de 100 mL.

- Solução de Carrez II: foram dissolvidos 30 g de acetato de zinco e completada com água destilada até o volume de 100 mL no balão volumétrico.

- Solução bissulfito de sódio a 0,20%: foram dissolvidos 0,20g de bissulfito de sódio em 100 mL de água destilada (esta solução foi preparada todos os dias até o fim das análises, pois a mesma não pode ser armazenada).

- Procedimento

Foram pesados 5 g de cada amostras de mel, com suas respectivas repetições em bécheres de 50 mL, depois as amostras foram dissolvidas em aproximadamente 25 mL de água destilada e transferidas, quantitativamente para balões de 50 mL. Foram adicionadas, em seguida, em cada amostra 0,5 mL da solução I, homogeneizadas em agitador, e adicionada 0,5 mL da solução II, novamente homogeneizadas, completando-se o volume com água destilada até o menisco. Após esse procedimento cada amostra foi filtrada e os primeiros 10 mL foram rejeitados.

Em seguida foram preparadas as amostras e os brancos para posterior leitura nos comprimentos de onda (Tabela 1).

Tabela 1 - Diluição das amostras e dos brancos

Adições nos tubos testes	Amostra	Branco
Solução inicial preparada	5,0 mL	5,0 mL
Água	5,0 mL	-
0,2% de NaHSO ₃	-	5,0 mL

Na sequência determinou-se a absorvância da amostra e do branco em 284 e 336 nm numa célula de quartzo (cubeta) de 10 mm.

Determinada a absorvância de todas as amostras, os valores foram calculados para expressão dos resultados em mg.kg⁻¹, através da seguinte fórmula:

$$\text{HMF (mg.kg}^{-1}\text{)} = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times D/W$$

Onde:

- A_{284} = absorvância em 284 nm.
- A_{336} = absorvância em 336 nm.
- 149,7 = fator de correção.
- 5 = valor teórico do peso da amostra.
- D = fator de diluição, caso seja necessário.
- W = peso em g da amostra de mel.

Figura 1 - Detalhes das etapas de preparo das amostras, para determinação do HMF. (A) Pesagem das amostras. (B) Amostras prontas para diluição. (C) Soluções de NaHSO_3 , II e I. (D) Agitador turbilhão para homogeneizar as amostras durante a diluição. (E) Filtragem das amostras. (F) Espectrofotômetro METROLAB 1700 Uv Vis Spectrophotometer, e no detalhe a cubeta de quartzo de 10 mm. (Imagem: Diogo Araujo)

3.2.5.2 Teor de Cinzas

O teor de cinzas (%) foi determinado pelo método proposto por Pregmolato (1985), cujo princípio do método é baseado na perda de massa ocorrida na incineração do produto por meio da calcinação em mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C}$, com destruição da matéria orgânica, sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda por volatilização (Figura 2).

- Equipamentos utilizados

Balança analítica, mufla, bico de Bunsen e dessecador.

- Vidraria e utensílios

Cadinho (cápsula de platina), pinça e suporte para transporte dos cadinhos.

- Reagentes

Azeite de oliva livre de minerais.

- Procedimento

Os cadinhos foram levados para mufla, previamente aquecida a 300 °C, por cerca de 25 minutos, em seguida para o dessecador com sílica por 10-20 minutos para esfriar e posteriormente pesados. Os cadinhos foram pesados e tarados na balança analítica, e em seguida um grama de amostra de mel era pesada (massa ideal), sendo registrada a massa obtida. Nos cadinhos, com as amostras, foram pingadas duas gotas de azeite de oliva (puro), levados ao bico de Bunsen para uma queima inicial, e posteriormente com o auxílio de um pinça foram acondicionados na mufla, previamente aquecida a 550 °C por três horas. No final foram obtidas as cinzas, e pesadas.

Ao fim de todo o processo foi realizado o cálculo e expressão dos resultados através da seguinte fórmula:

$$\text{Cinzas (\%)} = m_1 - m_2 / m_3 \times 100$$

Onde:

- m_1 = peso do cadinho com as cinzas.
- m_2 = peso do cadinho
- m_3 = peso da amostra (massa de mel)

Figura 2 - Processo da análise do teor de cinzas nas amostras de mel. (A) Dessecador, com sílica, e cadinho de platina esfriando, após passar 25 minutos a 300 °C. (B) Pesagem do cadinho. (C) Pesagem das amostras de mel, após a balança ser tarada com o cadinho. (D) Queima inicial da amostra, após a adição de duas gotas de azeite puro. (E) Massa da primeira queima da amostra. (F) Mufla com a temperatura ajustada em 550 °C, para incineração das amostras. (G) Cinzas restantes após a incineração depois de três horas. (Imagem: Diogo Araujo)

3.2.5.3 Análise de metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu) através da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV)

Na área da química analítica, a missão é propor meios para determinação de uma ou mais espécies químicas de maneira direta, *in situ*. Entretanto são poucos os equipamento e técnicas apropriadas para este procedimento, existindo assim, em grande parte de análises químicas a necessidade de preparação da amostra, transformando-a em uma solução possível de ser analisada (KRUG, 2008). Na técnica eletroquímica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV) não é diferente, existe a necessidade de preparo das amostras, de maneira que as espécies químicas, a serem detectadas, estejam em um estado livre, passível de determinação.

A análise dos metais pesados, Zinco, Cádmio, Chumbo e Cobre procedeu da seguinte forma:

- Etapa de preparo das amostras – Decomposição de matérias orgânicas por via úmida.

O procedimento de preparo das amostras foi realizado no Laboratório de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba – ESALQ/USP. Sendo indicado para determinação de baixas concentrações de elementos.

O método indicado por KRUG (2008) implica no aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidantes concentrado, no caso do trabalho o ácido nítrico (HNO_3), misturado a peróxido de hidrogênio:

- Foram pesados aproximadamente 2 g de cada amostra em tubos de digestão aferido a 50-100 mL, acrescentaram-se 5 mL de ácido nítrico 65% (HNO_3) e deixou-se a mistura em repouso por 24 horas, para iniciar a decomposição dos compostos orgânicos mais facilmente. Após esse período os tubos foram colocados no bloco de digestão e aquecido até 160 °C por 30 minutos. Em seguida, esperou o balão esfriar um pouco, e foram adicionados 2 mL de ácido nítrico + 1,5 mL de ácido Perclórico (H_2O_2) nessa sequência, pois caso seja feito o contrário existe um grande risco de explosão. Depois dessa etapa, os balões voltaram para o bloco de digestão

e permaneceram por aproximadamente 1 hora e 30 minutos (foi observado o clareamento do líquido). Em seguida, deixamos os balões na chapa, até a evaporação total dos gases. Por fim, uma lâmina pequena da amostra no balão, foi transferida para o balão de 25 mL e então foi adicionado água ultra-pura (18,2 Mohm.cm) para completar o volume do balão. Finalmente, essas amostras foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL esterilizados e armazenadas em geladeira ($\approx 4^{\circ}\text{C}$).

◦ Determinação dos metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu)

Nesta segunda etapa, a determinação dos elementos traços, foi realizada através da técnica DPASV. Um analisador voltamétrico 767 VA Computrace Metrohm[®] foi utilizado para medidas eletroquímicas (Figura 3). O analisador estava interligado a um computador que possui um software para registro e aquisição das medidas, 767 VA Computrace versão 1.3.1 Metrohm[®]. A calibração foi feita por adição de padrão a cada amostra analisada, seguindo assim os parâmetros e condições de análises apresentados na tabela 2. Toda a vidraria foi deixada em HNO_3 a 10% durante 24 horas para descontaminação. Antes do uso, todo o material foi enxaguado com água ultra pura.

Figura 3 - Analisador voltamétrico (direita), interligado ao computador para registro das análises. (Foto: Diogo Araujo)

Tabela 2 - Parâmetros e condições utilizadas na célula voltamétrica para as determinações de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}

(continua)

Parâmetros voltamétricos	Unidade	Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}
Volume da amostra diluída	mL	1
Volume de água ultra pura	mL	10
<i>Eletrólitos</i>		
KCl 1,5 mol L ⁻¹ e Acetato de Sódio 0,5 mol L ⁻¹	mL	2
Eletrodo de trabalho		HMDE
Número de gotas		4
Número de adições		2
Número de replicações		3

Tabela 2 - Parâmetros e condições utilizadas na célula polarográfica para as determinações de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}

(conclusão)

Parâmetros voltamétricos	Unidade	Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}
Eletrodo de referência		Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$)
Eletrodo auxiliar		Platina
Velocidade de agitação	rpm	2000
Tempo de purga (N_2 ultra puro)	s	300
Tempo de purga adicional	s	10
Potencial de deposição	V	- 1,15
Tempo de deposição	s	90
Tempo de equilíbrio	s	10
Amplitude do pulso	mV	0,05
Potencial inicial	V	-1,15
Potencial final	mV	50
Degrau de tensão	mV	6
Tempo de degrau de tensão	s	0,1
Taxa de varredura	V/s	0,06
Zn^{2+}	V	- 0,98
Cd^{2+}	V	- 0,61
Pb^{2+}	V	- 0,38
Cu^{2+}	V	- 0,16

3.2.6 Análise dos dados

Uma análise de regressão foi realizada com os dados de HMF, Cinzas (%) e metais pesados (elementos traços) referentes aos seis meses de coleta. Uma análise de correlação de Pearson foi realizada com todos os dados referidos acima, incluindo os dados climáticos e de partícula em suspensão no ar.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 HMF

Todas as amostras foram submetidas às análises de HMF para verificar a flutuação desse parâmetro ao longo dos seis meses de coleta nas seis colônias estudadas, para comprovar sua autenticidade, fornecendo informações importantes sobre a qualidade das amostras (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios de HMF obtidos após análise das amostras coletadas durante o período de out/2011 a mar/2012

Meses de coleta	HMF (mg.kg ⁻¹)					
	Colmeia 1	Colmeia 2	Colmeia 3	Colmeia 4	Colmeia 5	Colmeia 6
outubro (2011)	3,461	6,132	50,322	11,569	29,395	14,153
novembro (2011)	24,750	34,862	8,758	54,263	56,807	52,725
dezembro (2011)	19,139	53,831	34,849	20,183	38,463	25,402
janeiro (2012)	58,330	58,409	37,602	10,804	35,323	25,801
fevereiro (2012)	5,265	28,321	15,673	17,319	8,029	16,270
março (2012)	0,148	4,660	4,924	1,140	2,185	1,638

De acordo com a legislação estabelecida no Brasil e no exterior, nenhuma colônia/amostra apresentou valores acima do estabelecido, que é de até 80 mg.kg⁻¹ em regiões tropicais (MARCHINI; SODRÉ; MORETI, 2004).

Através das análises de regressão (Gráfico 1) pode-se observar que o valor de HMF inicia um crescimento a partir do mês de outubro/2011 (1), atingindo seu valor máximo no período em dezembro/2011(3). Após esse período é iniciado uma redução no valor. Esse fato pode estar associado à elevação da temperatura do ambiente durante o período estudado (Gráfico 2), pois sabe-se que a elevação do HMF em mel, está diretamente relacionado com o aumento de temperatura (MELO; DUARTE; MATA, 2003; LEMOS; SANTOS; SANTOS, 2010). Mesmo assim esse aumento do HMF durante o período não ocasionou alterações nas amostras coletadas.

Gráfico 1 - Análise de regressão dos dados de HMF durante seis meses de coleta das amostras de mel. (1 – outubro/2011, 2 – novembro/2011, 3 – dezembro/2011, 4 – janeiro/2012, 5 – fevereiro/2012 e 6 – março/2012)

Gráfico 2 - Temperaturas médias durante o período de coleta das amostras

3.3.2 Teor de cinzas (%)

De acordo com a legislação, o teor máximo de cinzas permitido para mel de origem floral é de 0,6% (MARCHINI; SODRÉ; MORETTI, 2004). Esse tipo de análise tem como objetivo detectar a pureza do mel, com relação a sólidos insolúveis, relacionados à matéria inorgânica presente, trazendo também informações a respeito da qualidade do produto que está sendo estudado como bioindicador.

Pelos resultados tabela 4, observa-se que a colmeia 5 no mês de dezembro/2011, apresentou valor acima do permitido pela legislação. Contudo, o valor ultrapassado não foi elevado, a variação no teor de cinzas encontradas em méis de *Apis mellifera* pode oscilar de acordo, principalmente, com a origem floral. O clima e aspectos no ambiente que está sendo explorado podem exercer influência também (MENDONÇA et al., 2008). Esse fato pode ser um indicativo para estudos de biomonitoramento, servindo como um ponto de partida para uma investigação mais minuciosa sobre as possíveis causas dessa alteração de valor do referido parâmetro.

Tabela 4 - Médias dos teores de cinzas (%) das amostras de méis de cada colônia estudada, no período de outubro/2011 a março/2012

Meses de coleta	% Cinzas					
	Colmeia 1	Colmeia 2	Colmeia 3	Colmeia 4	Colmeia 5	Colmeia 6
outubro (2011)	0,2620	0,2829	0,3350	0,3442	0,4027	0,2413
novembro (2011)	0,5001	0,4358	0,4003	0,4336	0,3135	0,3530
dezembro (2011)	0,4086	0,3436	0,2983	0,3661	0,8623	0,3631
janeiro (2012)	0,3365	0,3629	0,2489	0,3825	0,2532	0,2762
fevereiro (2012)	0,1957	0,2494	0,2469	0,1594	0,2853	0,3170
março (2012)	0,2901	0,2734	0,0627	0,0596	0,0708	0,3380

Realizando uma análise de regressão dos dados de teor de cinzas (%) (Gráfico 3), observou-se um comportamento semelhante ao HMF, durante os seis meses de coleta, com uma leve elevação dos valores a partir do início do período de coleta até o mês de dezembro/2011. Após esse mês, um declínio é iniciado até o último mês de coleta.

Gráfico 3 - Análise de regressão dos dados de teor de cinzas durante seis meses de coleta de amostras de mel. (1 – outubro/2011, 2 – novembro/2011, 3 – dezembro/2011, 4 – janeiro/2012, 5 – fevereiro/2012 e 6 – março/2012)

O teor de cinzas está relacionado com a quantidade de minerais existente no mel, devido principalmente as fontes florais. Observando a análise de regressão junto com dados de precipitação (Gráfico 4), pode-se levantar possíveis causas do comportamento de declínio do teor de cinzas no mel durante o período de dezembro/2011 a março/2012. Analisando do ponto de vista fisiológico podemos associar a redução de precipitação a uma diminuição da produção de néctar pelas plantas, reduzindo quantitativamente os minerais nele existentes, possibilita afirmar que plantas melitófilas da região não são adaptadas a redução buscas de precipitação (EMBRAPA, 2008). Todavia, não existe um fator isolado que possa ser responsável por esse comportamento.

Todas as amostras apresentaram-se dentro dos valores máximos estabelecidos, conferindo assim, um “certificado” de qualidade das mesmas.

Gráfico 4 - Temperaturas médias durante o período de coleta das amostras

3.3.3 Análise de metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu) através da técnica de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV)

O Chumbo foi o elemento que apresentou, em média, a maior concentração no mel de *Apis mellifera*, cerca de $2,11 \text{ mg.kg}^{-1}$. Seguido do Zinco, com média de $1,56 \text{ mg.kg}^{-1}$, e logo após o Cobre com valores médios de $0,35 \text{ mg.kg}^{-1}$. O Cádmio não esteve presente em nenhuma amostra analisada.

Em estudos realizados por Silveira (2012), para detecção de metais pesados em pólen apícola, utilizando a mesma técnica analítica, o comportamento de concentração desses elementos foi elevado, comparados com os encontrados para mel. O autor relata os elementos e seus respectivos valores médios: Zinco ($540,7 \text{ mg.kg}^{-1}$), Chumbo ($28,7 \text{ mg.kg}^{-1}$), Cobre ($56,55 \text{ mg.kg}^{-1}$) e Cádmio ($280,75 \text{ mg.kg}^{-1}$). Um ponto interessante de discussão sobre a eficiência de cada produto como ferramenta para bioindicação, é que para pólen o cádmio foi um dos elementos com elevada concentração, enquanto no presente trabalho com mel não existiu a presença do elemento.

O chumbo apresenta mobilidade baixa, persistência em sedimentos marinhos, forma sais como ácidos orgânicos, ácido láctico e acético, além de formar

compostos orgânicos estáveis, como o chumbo tetraetílico e o tetrametílico. O chumbo tetraetílico considerado como a maior fonte antropogênica deste elemento no ambiente nos anos passados (TAVARES, 1990). As indústrias são as fontes mais comuns de chumbo no ambiente (PAOLIELLO; CHASIN, 2001). Intoxicações podem acontecer por vias aéreas, alimentos ou bebidas (KOSNETT, 2003). Intoxicações essa que em níveis elevados podem levar a morte (VANZ et al., 2003). De acordo com a Organização Mundial da Saúde o limite tolerável para ingestão de chumbo é de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ peso corpóreo/semana para adultos e $0,025 \text{ mg.kg}^{-1}$ peso corpóreo/semana para crianças (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2005). Se considerarmos uma criança com 30 kg de peso corpóreo, teríamos um valor próximo de $0,75 \text{ mg.kg}^{-1}$. Assim, analisando os valores obtidos, com o máximo permitido pela legislação, podemos considerar a média de $2,11 \text{ mg.kg}^{-1}$ de chumbo, como um valor que pode ser considerado elevado dependendo do consumo de mel por indivíduo. Sendo a concentração 2,81 vezes maior que o aceitável. Fatores como indústrias e rodovia, podem ser assinalados como as possíveis causas dessa contaminação, devido à proximidade do local do estudo. Fato que merece ser estudado com maior profundidade, mostrando assim não só a preocupação com o consumo de mel proveniente deste ambiente, como também a importância da utilização do mel para detecção eficiente de chumbo presente no ambiente, utilizando-se de um monitoramento periódico da região.

Para observação do comportamento desses elementos durante o período de pesquisa estabelecido, foi realizada uma análise de regressão para cada elemento (Gráficos 5, 6 e 7).

Pode-se observar que a concentração do elemento chumbo no período não é sempre elevada, chegando a valores mínimos em alguns meses. Pautado nessa questão, pensando do ponto de vista de produção de mel, podemos direcionar o período produtivo para meses de baixa concentração de chumbo. No caso de bioindicação, pode-se buscar identificar e pontuar as possíveis fontes de contaminação, tentando controlá-las posteriormente.

Gráfico 5 - Análise de regressão dos dados de concentração de chumbo (mg.kg^{-1}), durante seis meses de coleta, em amostras de mel (1 – outubro/2011, 2 – novembro/2011, 3 – dezembro/2011, 4 – janeiro/2012, 5 – fevereiro/2012 e 6 – março/2012)

Quando analisamos o comportamento do zinco, durante os seis meses de coleta, observamos um acréscimo da concentração com o passar dos meses, formando assim na análise de regressão, uma reta crescente. O zinco é um elemento essencial e está presente em vários componentes da dieta humana. Para dietas com moderada disponibilidade de zinco, a ingestão diária recomendada é, $7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ para crianças e $13,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ para adultos (SANDSTEAD et al., 1990). Os valores encontrados estão abaixo dos limites máximos, tornando o elemento acessível ao consumo, porém, o fato de ser essencial, não o isenta que determinados sais de zinco possam prejudicar a vida e levar um indivíduo a morte (HEIN, 2003), devendo o mesmo ser consumido com cautela e monitorado constantemente.

Gráfico 6 - Análise de regressão dos dados de concentração de zinco (mg.kg⁻¹), durante seis meses de coleta, em amostras de mel (1 – outubro/2011, 2 – novembro/2011, 3 – dezembro/2011, 4 – janeiro/2012, 5 – fevereiro/2012 e 6 – março/2012)

O Cobre foi o elemento em menor concentração encontrado. É um elemento em estado puro, dentro de poucos metais, que ocorrem na natureza. Amplamente distribuído na natureza no estado elementar, como sulfetos, arsenitos, fios condutores, galvanoplastia, utensílios, tubulações, inseticidas, algicidas, conservantes de madeiras, baterias, pigmentos, entre outros (GUNTHER, 1998). É um elemento traço essencial para diversas funções orgânicas, sendo utilizado como co-fator de diversas enzimas celulares (LIMA; PEDROZO, 2001). Por outro lado, o excesso deste elemento pode desenvolver doenças e toxicidade (CHAN et al., 1998). A Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998, da agência nacional de vigilância sanitária – ANVISA estabelece limites máximos de tolerância de contaminantes inorgânicos em alimentos, e tolera até 1 mg.kg⁻¹ de cobre em mel. Apesar de a concentração ter atingido o valor médio de 0,35 mg.kg⁻¹, o gráfico 7, de regressão mostra uma curva, que em um momento há um crescimento e depois dos três primeiros meses iniciais acontece uma queda na curva. Junto a isso, observamos

uma grande variação das concentrações durante o período. Podemos também discutir os dados, com resultados obtidos por Silveira (2012), onde os resultados para cobre atingiram valores de $56,55 \text{ mg.kg}^{-1}$. Situação essa que vem mais uma vez mostrar a importância de se conhecer a flutuação em determinados elementos, em diferentes produtos apícolas. Em mel a concentração se apresentou próximo aos limites permitidos ou abaixo deles, diferentes do pólen em que as concentrações dos elementos ultrapassaram limites admissíveis e atingiram altas concentrações.

Gráfico 7 - Análise de regressão dos dados de concentração de cobre (mg.kg^{-1}), durante seis meses de coleta, em amostras de mel (1 – outubro/2011, 2 – novembro/2011, 3 – dezembro/2011, 4 – janeiro/2012, 5 – fevereiro/2012 e 6 – março/2012)

Dos quatro metais pesados (Zn, Cd, Pb e Cu) investigados, o cádmio não esteve presente em nenhuma das amostras (Figura 4). É uma situação bastante intrigante, porém do ponto de vista socioambiental é uma excelente informação. O cádmio é encontrado na natureza quase sempre junto com o zinco, em proporções que variam de 1:100 a 1:1000, na maioria dos minérios e solos. É um metal que pode ser dissolvido por soluções ácidas e pelo nitrato de amônio, encontrado como

subproduto da refinação do zinco e de outros minérios, como chumbo-zinco e cobre-chumbo-zinco (ALBERTINI et al., 2007; AVILA-CAMPOS, 2010). A FAO (2005) estabeleceu para a ingestão semanal tolerável de $7 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de massa corpórea. Segundo pesquisas com análises de metais pesados em pólen apícola, o níveis encontrados de cádmio no pólen apícola foi em média $276,68 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (SILVEIRA, 2012).

Provavelmente devido a características químicas, físicas e biológicas, do mel, desde produção de néctar na flor até o transporte para colônia, o mesmo passa por uma exposição a fatores ambientais externos “restritas”. Enquanto o pólen, desde a sua liberação da flor até a colônia tem contatos com diversos ambientes e partículas passíveis de contaminação, suspensas no ar.

Figura 4 - Exemplo do resultado da análise de metais pesados fornecido pelo software do analisador voltamétrico. Gráfico maior contendo os quatro elementos analisados, e no detalhe, o gráfico do elemento cádmio (Cd) para ilustrar sua ausência ($c = ---$)

3.3.4 Correlação das variáveis

Uma correlação de Pearson, (Tabela 4) entre todas as variáveis apresentadas nesse capítulo foi utilizada para que se pudesse conhecer a influência real entre todos os fatores envolvidos.

Com respeito a variável “cinzas”, podemos observar uma correlação positiva com a presença dos metais pesados zinco (Zn), chumbo (Pb) e cobre (Cu). Entende-se então pela análise, que no momento que existir um teor elevado de cinzas no mel, essa variável pode ser um indicativo de existência dos metais pesados citados, funcionando assim como um indicador secundário. Acontecendo da mesma forma para o HMF, em níveis abaixo do permitido, como visto anteriormente, o que indica uma possível necessidade de maiores investigações caso os valores encontrados sejam elevados.

Da mesma forma, o HMF também apresentou uma correlação positiva com os metais Zn, Pb e Cu. Todavia, ocorre uma correlação negativa apresentada em relação à temperatura e umidade. No entanto, este dado não pode fornecer informações precisas, pois apresentou um erro próximo a 0,5, valor esse que não garante uma confiabilidade adequada para correlação.

Quanto aos metais pesados, os mesmos apresentaram correlação positiva entre si. Existindo também entre esses elementos, uma correlação positiva moderada com a precipitação. Esse fator pode ser explicado pelo fato de que no momento em que ocorre precipitação elementos presentes na atmosfera são carregado para o solo e vegetação.

Outro ponto importante é a não correlação de partículas inaláveis, suspensas no ar com os metais pesados encontrados no mel, mostrando assim que essa variável não seria um bom indicativo para detectar existência de metais pesados no ambiente. Ainda com a variável de partículas inaláveis, observamos uma correlação negativa com a umidade, comprovando o fato de que quando a umidade está elevada, o número de partículas é reduzido no ambiente. De forma contrária se a umidade estiver baixa a tendência é ser identificado um número elevado de partículas inaláveis suspensas no ar.

Tabela 4 - Correlação de Pearson entre as variáveis envolvidas no capítulo, exceto cádmio que não esteve presente nas amostras.

<i>Pearson Correlation Coefficients, N = 6</i>											
Prob > r under H0: Rho=0											
	Cinzas	HMF	Zn	Pb	Cu	Precipitação	Umidade	Vento	Temperatura	Evapotranspiração	Partículas Inaláveis
Cinzas	100.000										
HMF	0.99267 <.0001	100.000									
Zn	0.96804 0.0015	0.98821 0.0002	100.000								
Pb	0.98323 0.0004	0.99174 0.0001	0.98536 0.0003	100.000							
Cu	0.99410 <.0001	0.99814 <.0001	0.98456 0.0004	0.99649 <.0001	100.000						
Precipitação	0.64034 0.1708	0.59287 0.2149	0.49856 0.3141	0.50736 0.3043	0.57092 0.2367	100.000					
Umidade	-0.25392 0.6273	-0.20912 0.6909	-0.23990 0.6471	-0.25448 0.6265	-0.24065 0.6460	0.21399 0.6839	100.000				
Vento	0.40589 0.4246	0.35658 0.4878	0.27564 0.5970	0.32801 0.5256	0.36571 0.4759	0.34604 0.5017	-0.46241 0.3558	100.000			
Temperatura	-0.40325 0.4279	-0.35422 0.4909	-0.23507 0.6539	-0.33092 0.5217	-0.36630 0.4751	-0.46048 0.3581	0.12083 0.8196	-0.89757 0.0152	100.000		
Evapotranspiração	0.10822 0.8383	0.11792 0.8239	0.20758 0.6931	0.18474 0.7260	0.14366 0.7860	-0.54800 0.2603	-0.88273 0.0198	0.20102 0.7025	0.15160 0.7743	100.000	
Partículas Inaláveis	0.10714 0.8399	0.05588 0.9163	0.08313 0.8756	0.08186 0.8775	0.08043 0.8796	-0.21254 0.6860	-0.97283 0.0011	0.47717 0.3386	-0.10172 0.8479	0.83153 0.0402	100.000

3.4 Conclusões / Considerações Finais

O HMF pode ser uma variável importante para trabalhos relacionados à bioindicação, pois comprova a qualidade do mel, excluindo qualquer fonte de recurso alimentar artificial visitada pelas abelhas. Com auxílio também das análises melissopalínológicas.

O teor de cinzas presentes no mel é um indicativo de contaminação, mesmo variando com as condições ambientais, indicando indiretamente a presença de metais pesados.

O mel, agregado ao pólen pode ser um bioindicador, fornecendo informações de bioacumulação de metais pesados (Zn, Pb e Cu) presentes no ambiente.

A análise de elementos traços, através da técnica voltamétrica, pode ser indicada para detecção de metais em produtos apícolas, trazendo respostas que podem ser associadas à outras análises como a melissopalínológicas para buscar possíveis fontes de contaminação.

A presença de material particulado no ar não traz informações a respeito da existência de metais como Zn, Pb e Cu.

O mel se mostrou como o bioindicador auxiliar para detecção de contaminantes no ambiente. No entanto, o mel e o pólen, devem ser biomonitorados em conjunto.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998**: regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm>. Acesso em: 03 out. 2012.

ALBERO, B.; SANCHEZ-BRUNETE, C.E.; TADEO, J.L. Analysis of pesticides in honey by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 5828-5835, 2005.

ALBERTINI, S.; CARMO, L.F.; PRADO FILHO, L.G. Utilização de serragem e bagaço de cana-de-açúcar para adsorção de cádmio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 113-118, 2007.

ANTONIO, T.M.F. Insects as remedies for illnesses in Zaire. **The Food Insects Newsletter**, Bozeman, v. 7, p. 4-5, 1994.

AVILA-CAMPOS, M.J. **Metais pesados e seus efeitos**. 2010. Disponível em: <http://www.mundodoquimico.hpg.ig.com.br/metais_pesados_e_seus_efeitos.htm>. Acesso em: 21 abr. 2012.

BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidologie**, Paris, v. 37, p. 1–18, 1999.

BOGDANOV, S.; IMDORF, A.; CHARRIERE, J.; FLURI, P.; KILCHENMANN, V. **The contaminants of the bee colony**. Bern: Swiss Bee Research Centre, 1997. 12 p.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa n.11 de 20 de Outubro de 2000**: regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de mel (Anexo). Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690>>. Acesso em: 09 set. 2012.

CARVALHO, C.A.L. de; MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S. Características físico-químicas de amostras de méis da Bahia: 1. Porcentagem de cinzas. In: CONGRESSO BAIANO DE APICULTURA, 1., 2000, Salvador. **Anais...** Salvador: Editora UESC, 2000. p. 105.

CARVALHO, C.A.L. de; SOUZA, B.A; SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; ALVES, R.M.O. **Mel de abelhas sem ferrão**: contribuição para caracterização físico-química. Cruz das Almas: UFBA; SEAGRI, 2005. 42 p.

CHAN, S.; GERSON, B.; SUBRAMANIAM, S. The role of copper, molybdenum, selenium and zinc in nutrition and health. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 18, n. 4, p. 678-685, 1998.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Sistema de informação da qualidade do ar (QUALAR)**. São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/ar/qualidade-do-ar/32-qualar>>. Acesso em: 20 out. 2012.

CONCONI, J.R.E.; PINO, J.M. The utilization of insects in the empirical medicine of ancient Mexicans. **Journal of Ethnobiology**, Denton, v. 8, p. 195-202, 1988.

COSTA-NETO, E.M. The use of insects in folk medicine in the state of Bahia, Northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine. **Human Ecology**, London, v. 30, p. 245-263, 2002.

COSTA-NETO, E.M.; PACHECO, J.M. Utilização medicinal de insetos no povoado de Pedra Branca, Santa Terezinha, Bahia, Brasil. **Biotemas**: Florianópolis, v. 18, p. 113-133, 2005.

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura**: manejo e produtos. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 191 p.

CRANE, E. **Bees and beekeeping-science, practice and world resources**. London: Neinemann Newnes, 1990. 614 p.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Abelhas melíferas**: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica. Pelotas, 2008. 38 p.

FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)**. 2005. Disponível em <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summary_report_64_final.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2012.

FRÍAS, I.; HARDISSON, A. Estudio de los parámetros analíticos de interés en la miel. II: Azúcares, cenizas y contenido mineral y color. **Alimentaria**, Madrid, v. 28, n. 235, p. 41-43, 1992.

GOKMEN, V.; ACAR, J.J. Simultaneous determination of 5-hydroxymethylfurfural and patulin in apple juice by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 847, p. 69, 1999.

GUDGER, E.W. Stitching wounds with the mandibles of ants and beetles. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 84, p. 1861-1864, 1925.

GUNTHER, W.M.R. **Contaminação ambiental por disposição inadequada de resíduos industriais contendo metais pesados**: estudo de caso. 1998. 129 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

HEIN, M.S. Cooper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxity: a case report. **South Dakota Journal of Medicine**, Sioux Falls, v. 56, n. 4, p. 143-147, 2003.

KOSNETT, M.J. Intoxicação por metais pesados e quelantes. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica & clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 867-870.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba: O Autor, 2008. 340 p.

LASCEVE, G.; GONNET, M. Analyse par radioactivation du contenu mineral d'un mile: possibilité de préciser son origine géographique. **Apidologie**, Paris, v. 5, n. 3, p. 201-223, 1974.

LEMOES, G.S.; SANTOS, J.S. dos; SANTOS, M.L.P. dos. Validação de método para a determinação de 5-hidroximetilfurfural em mel por cromatografia líquida e sua influência na qualidade do produto. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 8, p. 1682-1685, 2010.

LIMA, I.V.; PEDROZO, M.F.M. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 2001. 2 v. (Séries Caderno de Referências Ambientais). Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas>>. Acesso em: 11 set. 2012.

MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S; MORETI, A.C.C.C. **Mel brasileiro**: composição e normas. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 111 p.

MELO, Z.F.N.; DUARTE, M.E.M.; MATA, M.E.R.M.C. Estudo das alterações do hidroximetilfurfural e da atividade diastásica em méis de abelha em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 5, n. 1, p. 89-99, 2003.

MENDONÇA, K.; MARCHINI, L.C.; SOUZA, B.A.; ALMEIDA-ANACLETO, D. de; MORETI, A.C.C.C. Caracterização físico-química de amostras de méis produzidas por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1748-1753, 2008.

PORRINI, C.; SABATINI, A.G; GIROTTI, S.; GHINI, S.; MEDRZYCKI, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L.; GATTAVECCHIA, E.; CELLI, G. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. **Apiacta**, Bucarest, v. 38, p. 63–70, 2003.

PAOLIELLO, M.M.B.; CHASIN, A.A.M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 2001. v. 3, 144 p. (Séries Caderno de Referências Ambientais). Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas>>. Acesso em: 15 set. 2012.

PREGNOLATO, W.; PREGNOLATO, N.P. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. In: PREGNOLATO, W.; PREGNOLATO, N.P. (Coord.). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p. 287-314.

RISSATO, S.R.; GALHIANE, M.S.; KNOLL, F.R.N.; ANDRADE, R.M.B. de; ALMEIDA, M.V. de. Método multirresíduo para monitoramento de contaminação ambiental de pesticidas na região de bauru (SP) usando mel como bio-indicador. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 950-955, 2006.

SANDSTEAD, H.H.; DINTZIS, F.R.; BOGYO, T.; MILNE, D.A.; JACOB, R.A.; KLEVAY, L. M. Dietary factors that can impair calcium and zinc nutritive of the elderly. In: PRINCELY, J.; SANDSTEAD, H.H. (Ed.). **Nutrition and aging**. New York: Alan R Liss, 1990. p. 241-262.

SILVEIRA, T.A. da. **Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental**. 2012. 67 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SPANO, N.; CASULA, L.; PANZANELLI, A.; PILO, M.I.; PIU, P.C.; SCANU, R.; TAPPARO, A.; SANNA, G. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: the case of strawberry tree honey. **Talanta**, Amsterdam, v. 68, p. 1390, 2006.

SPANO, N.; CIULUA, M.; FLORIS, I.; PANZANELLI, A.; PILO, M.I.; PIUA, P.C.; SALIS, S.; SANNA, G. A direct RP-HPLC method for the determination of furanic aldehydes and acids in honey. **Talanta**, Amsterdam, v. 78, p. 310, 2009.

TAVARES, T.M. **Avaliação dos efeitos das emissões de cádmio e chumbo em Santo Amaro da Purificação – BA**. 1990. 271 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

TONIETTO, E.A.; GRASSI, M.T. Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 170-174, 2012.

VANZ, A.; MIRLEAN, N.; BAISCH, P. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 25-29, 2003.

WEISS, H.B. Entomological medicaments of the past. **Journal of the New York Entomological Society**, New York, v. 55, p. 155-168, 1947.

WHITE JÚNIOR, J.W. **Honey**. Maryland Heights: Advances in Food Research, 1978. v. 22, 374 p.

WOLFF, L.F.; REIS, V.D.A. dos; SANTOS, R.S.S. dos. **Abelhas melíferas: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 38 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Lead in drinking-water**. Copenhagen, 2005. Disponível em: <http://www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/chemicals/mercuryfinal.pdf>. Acesso em: 12 set. 2012.

ZAPALA, M.; FALLICO, B.; ARENA, E.; VERZERA, A. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. **Food chemistry**: Amsterdam, v. 85, p. 305, 2005.