Universidade de São Paulo
Centro de Energia Nuclear na Agricultura

**Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por
ativação neutrônica instrumental**

André Luis Lima de Araújo

Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura para a obtenção
do título de Doutor em Ciências, Área de
Concentração: Química na Agricultura e
Ambiente

Piracicaba
2013

André Luis Lima de Araújo

Biólogo

Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por ativação neutrônica instrumental

Orientadora:

Profa. Dra. ELISABETE A. DE NADAI FERNANDES

**Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor
em Ciências, Área de Concentração: Química na
Agricultura e Ambiente**

Piracicaba

2013

“Palavras agradáveis são como favos de mel: doces para a alma e medicina para o corpo.”

Provérbios 16:24

À todos que lutam de alguma forma pela sustentabilidade do planeta.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Às instituições de apoio técnico, científico e financeiro:

- Universidade de São Paulo – USP
- Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq
- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - EPAGRI
- Projeto Meliponários Urbanos
- Meliponário Mantiqueira
- Grupo ABENA – Abelhas Nativas
- Centro Tecnológico da Marinha de São Paulo - CTMSP
- Reator do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IEA-

R1/IPEN

Aos Professores, Pesquisadores e Colaboradores de Pesquisa:

- Profa. Dra. Elisabete A. De Nadai Fernandes pela orientação
- Prof. Dr. Gabriel Adrián Sarries pela colaboração e apoio
- Prof. Dr. Márcio Arruda Bacchi pela colaboração e apoio
- Dr. Ana Paula Packer pela colaboração e apoio
- Andres E. L. Reyes pela colaboração com a estatística
- Gina Tasso pela colaboração com a estatística

Aos meliponicultores:

- Dr. Tertuliano Aires Neto – Macaíba, RN
- Francisco Rodrigo da Silva – Macaíba, RN
- Dr. Cláudio Vieira Lyra – Salvador, BA
- Luiz Fernando Aparecido Paulo – São Francisco Xavier, SP
- Pedro Tarciso de Jesus – Pouso Alegre, MG
- Ivanir Cella – Florianópolis, SC
- Leo Kresch – Vidal Ramos, SC
- Flávio José Majolo – Vidal Ramos, SC

Aos companheiros do Laboratório Radioecológico do CTMSP, pela amizade:

- Ana Cláudia	- Lidiana Leite	- Rando Oliveira
- Bárbara Leite	- Luiza Coelho	- Raquel Silva
- Bruno Arine	- Marcelo Sartoratto	- Raquel Afonso
- Djair Arine	- Márcio Delhanesi	- Renata Saito
- Erika Matoso	- Marco Proença	- Renato Pereira
- Fernanda	- Marcos Lopes	- Rosane Fagundes
- Giuliano Ferro	- SO. Teixeira	- Saulo Costa
- Julia Rosa	- Nádia Segre	- Suely Porto
- Letícia Camargo	- Osmar Hartkoff	- Cmte. Tanise

Aos companheiros do Laboratório de Radioisótopos, pela amizade:

- Adriana de Angelis Fogaça	- Lílian Kato
- Camila Elias	- Luís Gustavo Cofani Santos
- Cláudio Luiz Gonzaga	- Maria Vega Martinez
- Cahue Sbrana	- Mateus Boscaro
- Felipe Biguzzi	- Natália Protti
- Gabriela Chiocchetti	- Nathália Luccas
- Isabel Schiavinatto	- Silvana Sarriés
- Jéssica Gonzaga	- Simone Cofani dos Santos

À família, por ser o alicerce do amor de Deus na Terra :

- Cynthia (alma gêmea)
 - Ana (mãe)
 - Paulo (pai)
 - Ana Paula, Paulo e Leoncastro (irmãos)
 - Suely e Carlos (sogros)
 - Carlos Jr. e Rodrigo (cunhados)
 - Da. Romilda e Da. Matilde
 - Tios Elias, Elisa, Félix, Francisco, Geraldo, José, João, Josevaldo, Lúcio, Luiz, Maria, Maria do Socorro, Maria das Graças, Maricélia, Marineide, Nizeuma, Nízia, Ivan, Pedro e Romoaldo
 - Primos (incontáveis)
- Aos meus queridos familiares que partiram junto a Deus durante a jornada deste doutorado: tio Manoel, tio Antônio, tio Severino e avó Neuza (*in memoriam*).

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Evolução, ecologia e classificação das abelhas	14
2.2 Histórico da domesticação das abelhas	22
2.3 Abelhas como indicadores ambientais	30
2.4 Monitoração de contaminantes e resíduos em mel.....	34
2.4.1 Elementos químicos em mel	37
2.4.2 Identidade físico-química do mel de abelhas sem ferrão.....	39
2.5 Monitoração de elementos químicos em pólen	43
2.6 Análise por ativação neutrônica instrumental.....	45
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3.1 Amostragem.....	51
3.2 Análise por ativação neutrônica instrumental - INAA	55
3.3 Parâmetros físico-químicos do mel.....	58
3.3.1 Determinação da umidade por refratometria	58
3.3.2 pH e condutividade	59
3.3.3 Cinzas.....	59
3.4 Estudos realizados	60
3.4.1 Estudo da qualidade do mel de abelhas nativas sem ferrão por INAA	60

3.4.2 Pólen meliponícola: valor nutricional e discriminador geográfico.....	61
3.4.3 Abelhas como biomonitoros ambientais	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1 Controle analítico.....	63
4.2 Estudo da qualidade do mel de abelhas nativas sem ferrão por INAA	66
4.3 Pólen meliponícola: valor nutricional e discriminador geográfico.....	78
4.4 Abelhas sem ferrão como biomonitoros ambientais.....	84
5 CONCLUSÕES.....	93
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

RESUMO

Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por ativação neutrônica instrumental

As abelhas sem ferrão possuem importante papel na manutenção da produtividade dos diversos biomas terrestres brasileiros e a exploração comercial dos seus méis ainda é pouco difundida. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de mel, no qual sua produção é baseada principalmente na criação da espécie exótica *Apis mellifera*. A produção de mel da *Apis mellifera* é cerca de 10 vezes maior que das espécies de abelhas sem ferrão, contudo, o mel de abelhas nativas possui maior valor comercial. Embora pouco explorado, o mel de abelhas sem ferrão desperta interesse em indústrias de cosméticos e medicinas naturais. A sua produção se apresenta como uma ferramenta com grande potencial para agregar valor econômico aos ecossistemas brasileiros, em especial os florestais, de forma sustentável e com menor potencial de influências de contaminantes traços. A qualidade química do mel é um importante requisito comercial, principalmente o destinado à exportação. Como exemplo, a União Européia em 2006 decidiu suspender a importação do mel produzido no Brasil sob alegação de que o país não possuía equivalência ao bloco quanto as diretrizes para o controle de resíduos e qualidade do produto. Diante do potencial de produção comercial sustentável do mel de abelhas nativas brasileiras e a falta de conhecimento sobre possíveis resíduos encontrados em sua composição, em especial os elementos traços, como objetivo principal deste trabalho pretendeu-se caracterizar a composição de elementos químicos do mel de abelhas sem ferrão, comparar com o de *Apis mellifera* e verificar as possíveis variações causadas pelo ambiente. Este estudo investigou a composição química dos méis de abelhas sem ferrão de cinco estados brasileiros: Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Norte, Santa Catarina e São Paulo; compreendendo um total de 70 colméias de diferentes espécies: *Melipona quadrifasciata*, *Melipona scutellaris*, *Melipona mandacaia*, *Melipona capixaba*, *Melipona rufiventris*, *Melipona compressipes*, *Melipona bicolor*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragona clavipes*, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona sp.*. Pólen, a principal fonte de minerais para a colméia, e as próprias abelhas foram também coletadas para estudos de composição e correlação com os méis. A análise por ativação neutrônica instrumental permitiu a determinação de Br, Ca, Co, Cs, Fe, La, Na, Rb, Sc e Zn nos méis, Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn nas amostras de pólen e As, Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se e Zn em abelhas. Méis das abelhas da subtribo trigonina apresentaram maiores concentrações dos elementos alcalinos. Alta razão K/Na foram observadas nas amostras de mel e pólen. Pólen se apresentou como uma grande fonte de P e Se. Análises quimiométricas indicaram os méis e abelhas como bons indicadores de atividades antrópicas. Arsênio apareceu nas abelhas coletadas em áreas de maior atividade antrópica. Como resultado, este estudo tem demonstrado o potencial nutracêutico do mel e pólen meliponícola e o potencial das abelhas nativas como ferramentas de avaliação da qualidade ambiental.

Palavras-chave: Meliponini, pólen, biomonitoração, nutracêutico, elementos traços

ABSTRACT

Study of the quality of stingless bees honey by instrumental neutron activation analysis

Stingless bees play an important role in maintaining the productivity of many terrestrial Brazilian biomes and commercial exploitation of their honeys is not yet widespread. Brazil is one of the largest producers of honey, which production is based mainly on the creation of exotic species *Apis mellifera*. Honey production of *Apis mellifera* hives is about 10 times higher than the stingless bees species, however, the native bees honey has greater commercial value in Brazil. Although the little exploitation, honey of stingless bees arouses interest in cosmetic industries and natural medicines. The honey production of stingless bees can represent an important tool to add economic value to Brazilian ecosystems, especially forests, sustainably and with less influence of contaminants. The chemical quality of honey is an important business requirement, mainly for exportation. As an example, in 2006 the EU decided to suspend the importation of honey produced in Brazil alleging that the country had no equivalence to the European guidelines for honey quality control. Given the potential for sustainable commercial production of honey of Brazilian native bees and lack of knowledge about possible residues found in its composition, particularly the trace elements, the main objective of this work was intended to characterize the composition of chemical elements in stingless bees honey, comparing with that of *Apis mellifera* and assessing the possible variation caused by the environment. This study investigated the chemical composition of stingless bees honeys from five Brazilian states: Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Norte, Santa Catarina and São Paulo, comprising a total of 70 beehives of different species: *Melipona quadrifasciata*, *Melipona scutellaris*, *Melipona mandacaiá*, *Melipona capixaba*, *Melipona rufiventris*, *Melipona compressipes*, *Melipona bicolor*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragona clavipes*, *Tetragonisca angustula* and *Scaptotrigona* sp. Pollen, the main source of minerals to the bee hives, and the bees themselves were also collected for studies of chemical composition and correlation with their honeys. The instrumental neutron activation analysis allowed the determination of Br, Ca, Co, Cs, Fe, La, Na, Rb, Sc and Zn in honey, Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se and Zn in pollen samples and As, Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se and Zn in bees. Honey of the subtribe trigonina bees had higher concentrations of alkali elements. High ratio K/Na were observed in samples of honey and pollen. Pollen samples presented as an important source of P and Se. Chemometric analysis indicates the stingless bee honeys as good indicators of anthropogenic activities. Arsenic appeared in bees collected in areas of high human activity. As a result, this study has demonstrated the potential of honey and pollen of stingless bees as nutraceutical application and native bees as tools for assessment of environmental quality.

Keywords: Meliponini, pollen, biomonitoring, nutraceutical, trace elements

1 INTRODUÇÃO

O Brasil figura entre os maiores produtores apícolas do mundo, cujos produtos são destinados principalmente para exportação. A apicultura brasileira, que é fortemente atrelada a culturas agrícolas e susceptível à contaminação por agrotóxicos, nos últimos anos tem se adequado as diretivas de controle de resíduos internacionais e tem sido um campo bastante explorado por pesquisas ambientais. Ao mesmo tempo que a apicultura tem crescido no Brasil, observa-se esforços de pesquisadores para a adequação da legislação ou até mesmo a criação de uma legislação própria que atenda às características diferenciadas da meliponicultura, criação racional de abelhas sem ferrão (VILLAS-BOAS; MALASPINA, 2005).

Embora a meliponicultura tenha produtividade inferior à apicultura, a criação geralmente conduzida em ambientes naturais, o sabor suave, levemente ácido e menor teor de açúcar do mel de abelhas sem ferrão torna a atividade um campo econômico com grande potencial a ser explorado. O Brasil possui extensão territorial, clima e diversidade de espécies de abelhas sem ferrão que o colocariam em uma posição de destaque na meliponicultura. Além disso, pouco se conhece sobre as potencialidades do mel de abelhas sem ferrão na indústria alimentícia ou farmacêutica e de outros produtos como pólen na indústria de cosméticos para tratamento de acne e eczemas (YAMAMOTO et al, 2007).

É geralmente aceito pelo consumidor que o mel é um produto puro e natural, e espera que não contenha eventuais resíduos. Entretanto, cientistas têm especulado sobre o que tem provocado a dizimação das abelhas ao redor do mundo, e a hipótese mais forte é a contaminação do ambiente com substâncias tóxicas. O distúrbio do colapso das colônias (DCC) tem afetado o comércio mundial de mel de *Apis mellifera* e a produtividade de algumas atividades agrícolas que dependem diretamente da polinização (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2012). O hábito de forragear grandes áreas e estocar alimento estenderia o contato das abelhas sociais e prolongaria seus efeitos. De fato, considerando sua alta atividade metabólica, abelhas podem concentrar poluentes em seus tecidos, o que os tornam adequados como biomonitores ambientais (CRANE, 1984).

Assumindo a hipótese de que a composição química do mel de abelhas sem ferrão é afetado pela fisiologia ou comportamento da espécie de abelha que a produz ou local onde se encontra o enxame, e pela necessidade de averiguação do atendimento dos Parâmetros Nacionais de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Mel, este trabalho objetivou estudar a qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por ativação neutrônica instrumental (INAA). Os resultados gerados servem como uma base consistente para melhor caracterização da composição química dos produtos meliponícolas e, com isso, pretende-se incentivar a meliponicultura como ferramenta para a agregação de valor econômico e conservação dos ecossistemas brasileiros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Evolução, ecologia e classificação das abelhas

O surgimento das abelhas no planeta foi um dos mais importantes eventos para a formação dos ecossistemas terrestres como conhecemos hoje. A descoberta da abelha mais antiga preservada em âmbar data cerca de 100 milhões de anos e partilha algumas características com as vespas caçadoras atuais - série Spheciformes, fornecendo uma idéia de como essas duas famílias de insetos se separaram no decorrer da evolução (POINAR; DANFORTH, 2006). Essa abelha solitária primitiva visitava as flores das angiospermas para coletar néctar, sua principal fonte de energia, e começou a coletar pólen em substituição à proteína animal, iniciando-se assim uma das mais importantes relações mutualísticas da natureza (POINAR; DANFORTH, 2006).

Concomitantemente ao aparecimento das primeiras abelhas a 100 milhões de anos atrás, as plantas angiospermas começaram a se expandir e iniciar seu domínio no ambiente terrestre (POINAR; DANFORTH, 2006). Até então a flora era dominada pelas gimnospermas, as quais possuem até hoje pouca variabilidade morfológica de suas estruturas reprodutivas e dependem quase que exclusivamente do vento para polinização (LU et al, 2011). Em contraste, as cerca de 225 milhões de espécies angiospermas, 45 milhões ocorrentes no Brasil (BARTHLOTT, 2005), possuem flores com uma grande diversidade de formas, tamanho, cores, aromas, texturas, cada uma com sua estratégia para atrair seu polinizador (MILET-PINHEIRO et al, 2012). Evoluíram nectários florais e extraflorais, glândulas de perfume, óleos e

resinas como recursos para atraírem os animais que levariam o pólen de uma planta a outra da mesma espécie (MILET-PINHEIRO et al, 2012).

Simultaneamente à evolução morfológica das angiospermas, ao contrário das ancestrais vespas caçadoras, as abelhas passaram a apresentar pêlos nas patas e abdômen que facilitam a coleta e transporte dos grãos de pólen e peças bucais apropriadas para sugar o néctar das flores (MICHENER, 2007). Como resultado desta corrida evolutiva, hoje estima-se que haja cerca de 20000 espécies de abelhas no mundo, sendo que no Brasil ocorrem por volta de 3000 espécies (SILVEIRA, 2002). A Figura 1 apresenta o dendrograma que mostra a derivação das famílias de abelhas conforme o dados morfológicos e genéticos.

Figura 1. Inferência Bayesiana de dados morfológicos e genéticos separam as famílias com língua curta e comprida. Dasypodainae e Meganomiinae (subfamília de Mellitidae) aqui são considerados família (MICHENER, 2007)

A classificação atual considera as abelhas como um grupo monofilético, série Apiformes, que constitui a superfamília Apoidea juntamente com as vespas caçadoras pertencentes à série Spheciformes (ALEXANDER, 1992; MICHENER, 2007). Michener (1986) verificou a prioridade do nome Apoidea sobre Sphecoidea, como era anteriormente denominado o grupo (BROTHERS, 1975). Estudos recentes sobre a filogenia genética, com o uso de metodologia cladística (MICHENER, 2007) apresentam uma nova proposta de classificação para as famílias e subfamílias de abelhas (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação das famílias e subfamílias de abelhas (MICHENER, 2007)

Família	Subfamília
COLLETIDAE	Colletinae
	Diphaglossinae
	Hylaeinae
	Xeromelissinae
	Euryglossinae*
STENOTRITIDAE*	
ANDRENIDAE	Andreninae*
	Panurginae
	Oxaeinae
HALICTIDAE	Rophitinae (=Dufoureae **)
	Nomioidinae*
	Nomiinae*
	Halictinae
MELITTIDAE*	Dasypodinae* (antiga família Dasypodidae)
	Meganomiinae* (antiga família Meganomiidae)
MEGACHILIDAE	Fideliinae ***
	Megachilinae
APIDAE	Xylocopinae
	Nomadinae
	Apinae (incluindo as tribos de abelhas corbiculadas
	Euglossini, Bombini, Apini e Meliponini) mais as tribos das
	antigas famílias Anthophoridae e Ctenoplectridae.

* não ocorre na América do Sul.

** representada, no Brasil, por uma única espécie, *Ceblurgus longipalpis*, só conhecida da zona árida da Bahia, Paraíba e Pernambuco (URBAN;MOURE, 1993; Aguiar; Martins, 1997).

*** na América do Sul, representada apenas por um gênero, Neofidelia, do Chile (Moure & Michener, 1955b).

As abelhas, quanto ao padrão de visitação floral para coleta de pólen, podem ser oligoléticas ou poliléticas. Abelhas oligoléticas possuem adaptações morfológicas e comportamentais que se traduzem em especificidade na visitação floral, alimentando suas crias apenas com pólen de plantas do mesmo gênero ou família (SCHLINDWEIN; MARTINS 2000, ALVES-DOS-SANTOS, 2003). Pelo menos 12 tribos de abelhas ocorrentes no Brasil apresentam comportamento oligolético, exclusivamente de espécies solitárias. Oligoetia é comum nas tribos Calliopsini, Protandrenini, Emphorini, Eucerini, Paracolletini, Rophitini e Lithurgini. Levantamentos regionais da apifauna indicam que a riqueza de espécies oligoléticas diminui do Sul do Brasil em direção norte (SCHLINDWEIN 2004).

As abelhas poliléticas são menos específicas quanto à visitação floral e obtenção de pólen. As abelhas sociais são supergeneralistas e exemplos de adaptação ecológica para maximização de obtenção de recursos florais. A comunicação da localização de um recurso floral pelas abelhas eussociais ocorre por meio de danças, como observado por abelhas da tribo Apini, e feromonal, em abelhas sem-ferrão, tribo Meliponini (ROUBIK, 1989). Segundo Roubik (1989), no passado discutiu-se que as abelhas sem-ferrão possuiriam uma performance navegacional com menos erros ao seguir a trilha química deixada através dos complexos labirintos da floresta tropical. No entanto, tal discussão não considera que ambos grupos são predominantes em florestas tropicais e que a maioria do forrageamento ocorre no dossel da floresta. Gould e Towne (1987) avançaram a discussão de que algumas variáveis ecológicas, como abundância e distribuição de recursos poderiam ter influenciado na evolução da comunicação por danças em abelhas do gênero *Apis*. No Brasil, Kerr et al (1996) considera as abelhas da tribo Meliponini como responsáveis por 40 a 90% da polinização das árvores nativas,

conforme o ecossistema. Com a introdução da *Apis mellifera* na América, estudos sobre competição e comparação da eficácia na comunicação dos recursos foram realizados, mas não conseguiu-se avaliar o efeito sobre as populações das abelhas nativas em florestas climáticas (GOULSON, 2003; PAINI, 2004, MENEZES et al, 2007).

As abelhas sociais apareceram por volta de 20 milhões de anos, precedidas pelas abelhas solitárias, existindo hoje espécies em diferentes estágios de organização social. Colônias de abelhas verdadeiramente sociais ou eussociais são caracterizadas pelo cuidado parental de forma cooperativa, sobreposição de gerações e divisão de trabalhos por grupos reprodutivos e não-reprodutivos (MICHENER, 2007). Diferentes tipos de socialidade são categorizados entre o comportamento solitário e o eussocial:

- ✎ Solitário: nenhuma característica social presente
- ✎ Subsocial: existência de cuidado parental de imaturos
- ✎ Comunal: membros da mesma geração vivem juntos, mas não cooperam no cuidado da prole
- ✎ Quasissocial: membros da mesma geração vivem juntos e cooperam no cuidado da prole
- ✎ Semissocial: como em quasisocial, mas com divisão reprodutiva de trabalho
- ✎ Eussocial: como em semissocial, mas com sobreposição de gerações.

O termo pressocial é aplicado a todos os níveis intermediários entre o solitário e o eussocial, enquanto o termo parassocial engloba os níveis pressociais em que membros de uma mesma geração vivem juntos - comunal, quasissocial e semissocial (MICHENER, 2007). Alguns exemplos de abelhas pressociais são as

famílias Halictidae, Megachilidae, Anthophoridae, Colletidae e Andrenidae, ocorrentes no Brasil.

A corbícula ou cesto de pólen, presentes apenas nas tribos Euglossini, Bombini, Apini e Meliponini da subfamília Apinae, é considerada primordial para o surgimento do comportamento eussocial entre as abelhas (SCHULTZ et al, 2001). A corbícula é uma modificação estrutural altamente derivada nas tíbias das patas traseiras usada para carregar pólen, resina, cera e outras substâncias, o que permite que as abelhas otimizem o tempo de transporte. Outra característica das abelhas corbiculadas é o fato de que o ninho de suas espécies, as células de cria ou as células de depósito de alimentos são feitas de cera ou cerume (NOGUEIRA-NETO, 1997). Dentre todas as espécies de abelhas, apenas as pertencentes às tribos Apini e Meliponini são eussociais. A tribo Bombini é semissocial, ou seja, formam colônias que duram apenas alguns meses do ano. Já as abelhas da tribo Euglossini são solitárias, comunais ou quasisociais (MICHENER, 2007).

Apenas 2% das abelhas identificadas no mundo estocam mel para a alimentação da colônia. As espécies que produzem mel são as abelhas corbiculadas das tribos Apini, Meliponini e Bombini (ROUBIK, 1989). As abelhas da tribo Bombini armazenam mel, mas são mais vulneráveis a escassez de alimento por formarem colônias sazonais e estarem principalmente distribuídas nas regiões temperadas (ROUBIK, 1989), como pode ser visto na tabela 2. As abelhas das tribos Apini e Meliponini estocam quantidades consideráveis de mel por formarem colônias perenes e com grande número de indivíduos, sendo o mel de muitas de suas espécies apreciadas pelo homem (CRANE, 1999). As abelhas da tribo Apini estocam mel em favos, enquanto que as da tribo Meliponini, assim com as da tribo Bombini, estocam em potes de cera (CRANE, 1999).

Tabela 2. Distribuição geográfica das tribos de abelhas produtoras de mel.

Organização social	Tribos melíferas	Gêneros	Espécies Mundo ¹	Espécies Brasil ¹	Distribuição Geográfica ²	Ilustração
Semissocial	Bombini	1	258	6
	Apini	1	7	1*
Eussocial	Meliponini	53	476	280

Fonte: ¹Enciclopedia of Life (2013); ²Natural History Museum (2013).

*Espécie introduzida

A representação de abelhas eussociais, ao contrário das abelhas solitárias, é alta dentro da apifauna tropical como um todo e presumivelmente evoluiu como parte integrante da biota tropical (ROUBIK, 1989). Uma hipótese que tenta explicar a predominância de abelhas eussociais nas regiões equatoriais é de que a exaustão das fontes de alimento pelas colônias populosas de abelhas sociais seria o principal fator da diminuição de riqueza de abelhas solitárias nos trópicos (MICHENER, 1979).

Dentre as abelhas eussociais, as abelhas chamadas popularmente de sem-ferrão (tribo Meliponini) por possuírem os ferrões atrofiados, formam o grupo mais diversificado e fornecem um claro exemplo de oportunidade de dispersão nos trópicos com a deriva continental. Tudo indica que sua larga distribuição pan-tropical já era presente no Cretáceo Superior quando África, América do Sul e Austrália

estavam conectados e formavam o supercontinente do sul Gondwana (CAMARGO; PEDRO, 1992).

Hoje, cerca de 500 espécies de abelhas sem-ferrão (tribo Meliponini) são reconhecidas, sendo que mais da metade são observadas no Brasil (Tabela 2). Moure e Kerr (1950) compilaram informações extensivas sobre a distribuição de abelhas sem-ferrão na América do Sul, particularmente onde abelhas de espécies distintas eram tidas como variações de raças ou subespécies. Seus trabalhos revelaram, por exemplo, mais de 40 espécies onde previamente apenas 12 eram reconhecidas (SCHWARZ, 1932).

Para o Professor Padre Jesus S. Moure (1946), as abelhas sem-ferrão pertenciam na antiga classificação à sub-família Meliponinae (família Apidae) e poderiam ser divididas em três tribos distintas – Meliponini, Trigonini e Lestrimelittini, sendo esta última tribo reagrupada posteriormente em Trigonini pelo mesmo autor (MOURE, 1951). A tribo Lestrimelittini compreenderia um grupo pequeno de abelhas sem-ferrão cleptoparasitas que não possuem corbícula nas tíbias das patas traseiras (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Na classificação atual, a antiga sub-família Meliponinae passou a ser a tribo Meliponini da subfamília Apinae, sendo dividida em subtribos Meliponina, com 1 gênero, e Trigonina, demais gêneros (MICHENER, 2007). As colônias da subtribo Meliponina se caracterizam pela entrada dos ninhos que se localizam no centro de uma estrutura feita de geoprópolis (argila e resina vegetal), crateriforme e raiada e por não construírem células reais, como visto na Figura 2 (NOGUEIRA-NETO, 1997). Todas as rainhas, operárias e machos se desenvolvem até o estágio adulto em células de cria de mesmo tamanho. Diferentemente das abelhas do gênero *Apis* que alimentam suas larvas com geleia real para formarem rainhas, a determinação da

casta real em abelhas sem-ferrão é genética (KERR, 1946). A subtribo Trigonina é um grupo mais diversificado, possuindo dezenas de gêneros. Com raras exceções, constróem células reais que são maiores que as outras de onde surgem as rainhas. Como pode ser visto na Figura 2, a entrada das colméias são construídas com cera e em forma de canudo (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Figura 2. A. Entradas de colméias com geoprópolis e células de cria de mesmo tamanho das abelhas da subtribo Meliponina. B. Entradas de colméias em forma de canudo e células de cria com tamanho diferente para potenciais rainhas da subtribo Trigonina.

A construção das colméias preferencialmente em espaços ocultos de árvores, paredes de casas, ninhos de pássaros e cupinzeiros abandonados pelas abelhas eussociais, possibilitou a domesticação de muitas espécies pelo homem para a exploração de recursos como mel, cera e pólen (CRANE, 1999). Na Europa, a *Apis mellifera* é considerada o 3º animal doméstico de maior importância econômica (TAUTZ, 2010). No Brasil, a importância das abelhas sem ferrão vai além dos aspectos sociais e econômicos, levando-se em conta principalmente os serviços ecológicos prestados (SILVA; DA PAZ, 2012).

2.2 Histórico da domesticação das abelhas

A domesticação das abelhas é considerada um dos processos mais bem documentados pelo homem (CRANE, 1999). Em muitas sociedades do passado o mel era considerado um alimento sagrado, bem como as próprias abelhas ou a cera

por elas produzidas. Desde os tempos pré-históricos, homens caçadores-coletores e suas gerações sucessoras valorizavam o mel pela sua doçura e propriedades medicinais (CRANE, 1999).

O homem paleolítico que inicialmente estava confinado ao velho mundo, onde há pelo menos uma espécie de abelha pertencente ao gênero *Apis*, já era um grande apreciador de mel. Pinturas rupestres do período paleolítico e mesolítico (Figura 3) que representam a coleta do mel de *Apis* sp. pelos homens primitivos foram observadas em cavernas da Espanha, Índia e sudoeste da África (CRANE, 1999).

Há cerca de 30 mil anos, os ancestrais dos aborígenes chegaram na Austrália, encontraram as abelhas sem-ferrão, usaram o seu mel e cera, deixaram registros de como coletavam o mel por meio de pinturas rupestres e por rituais mantidos por seus descendentes, como a tradicional dança que conta a história da coleta do mel, o “corroboree” (McKENZIE, 1975). Algum tempo depois o homem cruzou o estreito de Bearing, deve ter encontrado alguns enxames de abelhas da tribo Bombini na América do Norte, mas não observou colméias com grande estoques de mel até alcançar os trópicos há 15 mil anos, onde vivem as abelhas sem-ferrão. Estes ameríndios colhiam o mel das abelhas, bem como a cera, a qual foi essencial para seus descendentes no processo de escultura por moldagem do ouro chamada de cera perdida ou microdifusão (CRANE, 1999).

Colméias artificiais foram provavelmente usadas pela primeira vez entre 5 mil e 3 mil anos atrás, quando o homem deixou a vida nômade e se estabeleceu próximo aos grandes rios para a prática da agricultura. Na Mesopotâmia, região considerada como o berço das civilizações, registros sumérios sobre o uso do mel como alimento, fins medicinais e bebida alcólica - hidromel - foram encontrados em

um cilindro de cerâmica de cerca de 2450 a. C., e a cera para processos de microdifusão já era utilizada no mesmo período. O mel e a cera provavelmente viriam do norte, região montanhosa onde hoje se encontram as fronteiras do Iraque, Irã e Turquia. O primeiro registro sobre criação utilizando colméias artificiais na Mesopotâmia data, porém, de apenas 700 a. C, quando um governador trouxe abelhas para a região e cita: *‘as quais nenhum de meus ancestrais tem visto...’*, *‘abaixo das montanhas’*. Acredita-se que a ausência das abelhas na Mesopotâmia até então se deva ao calor intenso, falta de lugares apropriados para nidificação e forrageamento (CRANE, 1999).

Figura 3. Artes rupestres representando a coleta de mel de *Apis mellifera* e abelhas sem ferrão em diferentes partes o planeta. Extraído de Crane (1999).

No antigo Egito, a abelha *Apis mellifera* já era suficientemente importante para ser a representação icônica da dinastia do baixo Nilo há cerca de 3100 a. C. e já deveria ser mantida em colméias artificiais bem antes deste período. Ilustrações egípcias em pedras sobre a criação de abelhas em colméias artificiais é datada de cerca de 2400 a. C. Nestas ilustrações (Figura 4) os egípcios já faziam uso de fumegadores para a coleta do mel e as colméias eram horizontais e cilíndricas. Colméias com este formato são encontradas até hoje em países do norte da África ao Oriente Médio, disseminadas provavelmente pelos comércio dos egípcios com os fenícios (CRANE, 1999).

Figura 4. Pintura egípcia representando a criação de abelhas (CRANE, 1999).

Os fenícios, que viviam onde hoje é a região do Líbano, entre 800 e 300 a. C. eram os mais proeminentes mercadores do mar mediterrâneo e comercializavam com os egípcios as colméias e seus produtos apícolas. Parece plausível que os fenícios tivessem um papel importante também na disseminação da apicultura para as ilhas do mediterrâneo onde possuíam assentamentos – Chipre, Sicília, Malta, Sardenha, Ilhas Baleáricas e Creta, mas nenhuma ligação direta tem sido encontrada (CRANE, 1999). Creta esteve sob influência direta do Egito entre 3000 e 2000 a. C., e a partir de 2000 a. C. comercializava com o Egito, Síria, Chipre e Grécia. Durante a civilização Minóica na ilha de Creta, que durou entre 2600 a 1450

a. C., mel era oferecido aos deuses Poseidon e Ilítia, deusa do parto (CHADWICK, 1958). Escavações arqueológicas na ilha trouxeram a luz um pendante com duas abelhas datadas de 2500 a. C., evidenciando a importância das abelhas para a cultura minóica (RUTTNER, 1980). Crane (1999) sugere que o método de apicultura desenvolvido na ilha de Creta se espalhou para as outras ilhas do mar Egeu e para o continente europeu através da Grécia.

Na Grécia antiga, o início da apicultura era atribuído ao personagem mitológico Aristeu, filho de Apolo com Cirene, que criava abelhas na carcaça de animais mortos (CRANE, 1999). A criação de abelhas pelos gregos era considerada uma atividade nobre, como apresenta inscrições em Ática datadas de 415 a. C. que listavam as colméias entre as posses confiscadas de nobres atenienses condenados como malfeitores por cometerem sacrilégios (PRITCHET; PIPPIN, 1956). Aristóteles, considerado o pai da ciência natural, escreveu o compêndio *Historia animalium* e dedicou grande parte do livro V à descrição da biologia das abelhas, como a divisão de castas (BALME, 2002).

A domesticação de abelhas sem-ferrão nas Américas aparentemente ocorreu de forma independente ao processo de domesticação da *Apis mellifera* no velho mundo (CRANE, 1999). Quando Cristóvão Colombo e sua armada aportaram em Cuba em 1492, os habitantes locais os presentearam com mel de uma abelha sem-ferrão local, *Melipona beecheii*, a qual foi e ainda é manejada em colméias feitas de troncos ocos por nativos ou mestiços da América Central (JAMES; PITTS-SINGER, 2008). Há evidências arqueológicas que a criação em colméias artificiais da *Melipona beecheii* já era realizada pela civilização Maia entre 300 a. C. e 300 d. C. na região de Yucatán, México, os quais a chamavam de *colecab* ou abelha moça. O milho era o principal alimento da civilização Maia e a *colecab* seria a próxima em

importância na vida das pessoas e rituais, visto que o mel e o *balche*, sua bebida alcohólica, eram muito apreciados. Os maias também possuíam um deus abelha chamado 'Ah Mucen Cab', os quais se amparavam para obtenção de boas colheitas (CRANE, 1999).

Com a chegada dos espanhóis, a cera da *Melipona beecheii* para a confecção de velas foi um dos itens mais importantes exportados da região de Yucatán em meados do século XVII, juntamente com sal, roupas de algodão, anil e pele. Conhecida como *cera de Campeche*, a cera da *Melipona beechei* era considerada a melhor do Novo Mundo até a introdução da *Apis mellífera* (CRANE, 1999).

Além da *Melipona beechei*, outras duas espécies foram manipuladas pelo homem nativo americano mais que qualquer outra espécie no continente: a *Melipona compressipes*, popularmente conhecida como tiúba do Maranhão, e a *Melipona scutellaris*, a uruçú nordestina. Os indígenas das regiões de Yucatán no México, Maranhão e Nordeste do Brasil as selecionaram para maior produção de mel (KERR et al, 2001).

No Brasil, o primeiro europeu a descrever as abelhas sem-ferrão foi Hans Staden, mercenário alemão que foi refém dos índios tupinambás na região de Ubatuba, São Paulo (ENGELS, 2009). No livro Viagens ao Brasil, em poucas palavras Staden descreve três espécies de abelhas-sem-ferrão – '*A primeira se parece muito com nossas abelhas, a segunda é negra e do tamanho de uma mosca. A terceira, é pequena como um mosquito*'. Certamente Staden se referia as abelhas *Melipona quadrifasciata*, *Scaptotrigona* sp. e *Tetragonisca angustula*, nativas da região onde foi mantido em cativeiro (ENGELS, 2009). Sobre a qualidade dos méis, Staden considerava os obtidos das menores abelhas - subtribo Trigonina - melhores que os das maiores – subtribo Meliponina (ENGELS, 2009).

A meliponicultura, ou criação de abelhas sem-ferrão em colméias artificiais, era comumente observada no século XIX em tribos de índios Guaranis do sudeste brasileiro (NORDENSKIOLD, 1929) e a manutenção das abelhas em cabaças e morangas secas por caboclos e sertanejos possivelmente teria origem na cultura indígena (NOGUEIRA-NETO, 1997; HOLANDA, 1957).

O mel de abelhas sem-ferrão no Brasil era a única opção até a introdução da *Apis mellifera* no século XIX, quando D. Pedro II autorizou o Pe. Antônio José Pinto Carneiro a trazer colméias da Europa pelo Decreto n. 72 de 12 de julho de 1839 (SOUZA, 2000).

Somente a partir de 1851 a apicultura começa a ganhar importância na balança comercial internacional quando o americano Rev. Lorenzo Lorraine Langstroth esclarece o espaço necessário para as abelhas construírem os favos de mel e cria a primeira colméia racional para *Apis mellifera*, tornando o mel de produto escasso a *commodity* (CRANE, 1999).

A introdução da *Apis mellifera* africanizada pelo Professor Walderick Kerr em 1956 na cidade de Rio Claro, SP, possibilitou uma maior produtividade de mel pela apicultura brasileira (KERR; AMARAL, 1957). Mais agressivas, as abelhas africanizadas rapidamente se espalharam pelo continente americano e foram responsabilizadas também pela baixa rentabilidade na produção melífera das abelhas sem-ferrão por competição (IMPERATRIZ-FONSECA, 1989). Segundo Imperatriz-Fonseca (1989), antes da chegada das abelhas africanizadas, colméias mantidas em meliponário na Bahia produziam 15 litros cada. Após a chegada das abelhas africanizadas, as colméias remanescentes no meliponário produziam até 5 litros cada.

O desenvolvimento de sistemas racionais para criação de abelhas sem-ferrão se deu principalmente no Brasil, onde ocorrem cerca de 300 espécies e dezenas são criadas racionalmente (Tabela 3).

Tabela 3. Principais espécies utilizadas na meliponicultura criadas nas diferentes regiões do Brasil. Adaptado de Villas-Boas (2012).

Região	Nome Científico	Nome Popular	Estados
Norte	<i>Melipona compressipes</i>	Jupará, Jandaíra-Preta	AC, AM, AP, PA, RP, RR, TO
	<i>Melipona fasciculata</i>	Tiúba, Uruçu-cinzenta	PA, TO
	<i>Melipona seminigra</i>	Uruçu Boca de renda	AM, PA
	<i>Scaptotrigona sp.</i>	Canudo	AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO
Nordeste	<i>Melipona asilvai</i>	Monduri, Rajada	AL, BA, CE, PB, PE, PI, RN, SE
	<i>Melipona fasciculata</i>	Tiúba, Uruçu cinzenta	MA, PI
	<i>Melipona mandacaia</i>	Mandaçaia	AL, BA, CE, PB, PE, PI, RN, SE
	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Mandaçaia	AL, BA, PB, PE, SE
	<i>Melipona scutellaris</i>	Uruçu nordestina	AL, BA, CE, PB, PE, RN, SE
	<i>Melipona subnitida</i>	Jandaíra	AL, BA, CE, MA, PB, PI, RN, SE
Centro-Oeste	<i>Melipona compressipes</i>	Tiúba, Uruçu cinzenta	GO, MS, MT
	<i>Melipona rufiventris</i>	Uruçu amarela	GO, MS, MT
	<i>Melipona seminigra</i>	Uruçu	MT
	<i>Scaptotrigona sp.</i>	Canudo	GO, MS, MT
	<i>Tetragonisca angustula</i>	Jataí	GO, MS, MT
Sudeste	<i>Melipona bicolor</i>	Guaraipo	ES, MG, RJ, SP
	<i>Melipona capixaba</i>	Uruçu negra	ES
	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Mandaçaia	ES, MG, RJ, SP
	<i>Melipona rufiventris</i>	Uruçu-amarela	ES, MG, RJ, SP
	<i>Tetragonisca angustula</i>	Jataí	ES, MG, RJ, SP
Sul	<i>Melipona bicolor</i>	Guaraipo	PR, RS, SC
	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Mandaçaia	PR, RS, SC
	<i>Melipona mondury</i>	Uruçu-amarela	PR, RS, SC
	<i>Tetragonisca angustula</i>	Jataí	PR, RS, SC

Nogueira-Neto (1948) desenvolveu colméias racionais para diversas espécies de abelhas sem-ferrão, de modo a facilitar a coleta do mel, a transferência dos discos de cria para a colméia e a divisão de colônias. Outros modelos consagrados são o modelo horizontal do Pe. Humberto Bruening (2006) para criação de *Melipona subnitida* no estado do Rio grande do Norte, e o modelo vertical de Portugal-Araújo (1955) modificado por Fernando Oliveira (OLIVEIRA; KERR, 2000) para criação de *Melipona compressipes* no Amazonas. Sob a coordenação de Fernando Oliveira, o meliponário Iraquara em Boa Vista de Ramos, AM, foi o primeiro do gênero a obter

registro no Sistema de Inspeção Federal (SIF) para produção de mel (FIDALGO, 2009).

Em 2004, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) publica a resolução n. 346 que disciplina a utilização das abelhas nativas e implantação de meliponários, na qual veta a criação de abelhas fora da região de ocorrência natural e obriga ao meliponicultor a ter inscrição no Cadastro Técnico Federal e autorização de funcionamento caso possua mais de 50 colméias.

2.3 Abelhas como indicadores ambientais

O início do uso de abelhas para propósitos de biomonitoração data de 1938 quando Svoboda e Peterka (1938) reportaram a interferência de uma região industrial da antiga Tchecoslováquia na bioacumulação de arsênio por estes insetos. Nos anos seguintes, vários estudos foram conduzidos para testar a efetividade destes himenópteros como biomonitores, principalmente de elementos traços e radionuclídeos (SVOBODA, 1962), ou como organismos testes de ensaios ecotoxicológicos de defensivos agrícolas (MUSGRAVE; SALKELD, 1950). Por definição, biomonitores são organismos que expressam quantitativamente a concentração de um determinado contaminante em seu tecido como reflexo das condições ambientais e organismos teste são utilizados para ensaios de toxicidade de uma substância específica, sendo as abelhas amplamente utilizadas em ambas circunstâncias (PORRINI et al, 2002).

A efetividade das abelhas como detectores de impactos ambientais é corroborada por suas características etológicas e morfológicas, as quais são listadas abaixo (PORRINI et al, 2002):

- possuem larga distribuição e não necessitam de grandes requisições alimentares
- corpo coberto de pilosidades, o que facilita a incorporação de poluentes
- alta sensibilidade para a maioria dos defensivos agrícolas
- alta taxa de fecundidade e vida relativamente curta das operárias, o que resulta em uma regeneração rápida e contínua da colônia.
- grande mobilidade e uma extensão de vôo que permite a monitoração de grandes áreas
- diferentes compartimentos ambientais são amostrados, como solo, vegetação, água e ar
- uma variedade de materiais são trazidos para a colméia (néctar, pólen, própolis, geoprópolis) que podem ser amostrados para análises de acordo com o objetivo da pesquisa

Além disso, os custos da monitoração com abelhas são baixos, especialmente devido ao número de amostras que podem ser tomadas de cada colméia (PORRINI et al, 2002). Colméias de *Apis mellifera* possuem cerca de 20000 indivíduos (DEVILLERS, 2002) e algumas espécies de abelhas sem-ferrão podem ter até 4000 indivíduos (FREITAS, 2003). As abelhas operárias duram cerca de 55 dias e as mais velhas, que representam cerca de um quarto da população e já realizaram uma série de outras atividades dentro da colônia, são responsáveis pelo forrageamento e suprimento de alimento para a colméia (PORRINI et al, 2002).

Em colméias de *Apis mellifera*, cada abelha faz uma média de 10 viagens por dia e visitam um total de 1000 flores, estimando-se para a totalidade de abelhas da colônia aproximadamente 10 milhões de microamostragens de néctar e pólen todos os dias. Cerca de 100000 a 150000 vôos são necessários para produzir um

quilograma de mel. Aparentemente as amostras coletadas pelas abelhas representam as melhores performances de amostragens aleatórias compostas e fornecem os valores mais representativos para concentrações médias de elementos químicos biodisponíveis no ambiente (BARISIC et al, 2002).

Como dificuldades no uso de abelhas como biomonitores, pode-se citar que (PORRINI et al, 2002):

- 🐝 não saem para forragear em baixas temperaturas
- 🐝 podem não retornar para a colméia por morte natural ou causada por pesticidas
- 🐝 há dificuldade na distinção do estágio de desenvolvimento e idade dos membros da colônia
- 🐝 não há como controlar a visitação aleatória das abelhas às fontes de alimento

Tanto as abelhas quanto os seus produtos (mel, cera, pólen ou saburá) podem ser utilizados para monitorar as substâncias químicas orgânicas ou inorgânicas no ambiente dependendo das propriedades físico-químicas e objetivo do estudo (PORRINI et al, 2002). O uso dos produtos das abelhas como mel e cera são mais indicados para monitoração de substâncias hidrofóbicas, como os PCB's. C. Conti e Botré (2001) consideram as abelhas como bons biomonitores de elementos traços e em menor proporção os seus produtos.

Em estudos ecotoxicológicos de defensivos agrícolas, todos os pesticidas devem ser testados em abelhas para avaliar a sua toxicidade (DEVILLERS, 2002). Ensaio sobre o efeito de plantas geneticamente modificadas em abelhas também têm crescido em número nos últimos anos (MALONE; PHAM-DELÉGUE, 2002).

Elementos traços e radionuclídeos ocorrem tanto como constituintes do solo quanto por processos de deposição úmida ou seca devido a contaminação

ambiental. Estes contaminantes frequentemente se incorporam no tecido das abelhas, pólen, cera, mel ou na própria colméia (WALLWORK-BARBER et al, 1982; BROMENSHENK et al, 1985). Abelhas tem sido usadas como monitoras da presença e distribuição de elementos químicos, incluindo fluoretos (BROMENSHENK et al, 1988; MAYER et al, 1988), arsênio (TERZIC et al, 1984), chumbo (BARISIC et al, 1999), zinco (ASSMANN-WERTHMÜLLER, 1991) níquel (RUSCHIONI et al, 2013), cádmio (RUSCHIONI et al, 2013), potássio (BARBATINI et al, 1991), e a biodisponibilidade de radionuclídeos, incluindo cézio, trítio, estrôncio e plutônio (HAKONSON; BOSTICK, 1974; FRESQUEZ, 1997). A integração das análises de radionuclídeos e/ou elementos químicos em abelhas com as de seus recursos alimentares, pólen e mel, fornecem uma informação mais detalhada sobre a dinâmica destas substâncias ambiente (PORRINI et al, 2002). Por exemplo, caso as concentrações observadas de um determinado analito nas abelhas sejam muito superiores as observadas em suas fontes de alimento, é provável que a sua incorporação tenha sido de forma exógena (PORRINI et al, 2002). Desde o incidente de 1986 envolvendo a usina Nuclear de Chernobyl, estudos sobre a transferência de radionuclídeos de vida-longa para colméias de abelhas, como Cs-137 e Sr-90, têm sido constantemente publicados (BUNZL et al, 1988; BUNZL et al, 1994);. Todos estes estudos tem apresentado o pólen e as abelhas como excelentes biomonitores de radionuclídeos (PORRINI et al, 2002). Recentemente, pólen tem sido utilizado na monitoração de Cs-137 do acidente de Fukushima, por ser considerado bioacumulador deste radionuclídeo e por ser facilmente aspirado pela população (HIGAKI; HIROTA, 2013). Em áreas de influência de usinas nucleares dos EUA, a biomonitoração de radionuclídeos utilizando abelhas tem sido bastante empregada e desenvolvidos protocolos para amostragem. Estes protocolos indicam

a coleta de cerca de 1200 abelhas para estudos de radionúclídeos, sem a distinção de castas entre as operárias. Enquanto a variação entre as abelhas de uma mesma colméia é considerada desprezível, as diferenças entre colméias diferentes podem ser grandes, devido a fatores como idade da colônia, localização e fonte de alimento (HAARMANN, 2002). Em programas de biomonitoração contínua de uma determinada área, é sugerido que colônias sejam substituídas anualmente para que sempre tenham a mesma idade. Diferenças no padrão de bioacumulação de contaminantes entre raças geográficas e espécies de abelhas também não devem ser subestimadas (HAARMANN, 2002).

2.4 Monitoração de contaminantes e resíduos em mel

No período de 2005-2010 a produção mundial de mel de *Apis mellifera* aumentou cerca de 10%, de 1,4 milhões de toneladas para 1,54 milhões de toneladas. Neste mesmo período, perdas de colméias de abelhas ocorreram em larga escala nos Estados Unidos e União Européia, afetando negativamente o suprimento mundial. A dizimação em massa de abelhas, conhecida como Distúrbio do Colapso das Colônias (DCC) foi em parte responsável pelos 2% de declínio na produção mundial de mel entre os anos de 2006 e 2007 e pela menor produtividade em alguns setores agrícolas que dependem diretamente da polinização. Muito têm-se especulado sobre as possíveis causas do DCC, sendo a contaminação com substâncias tóxicas a mais provável (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2012).

Essas perdas influenciaram diretamente no comércio mundial de mel, como na importação para suprir o déficit da produção doméstica dos Estados Unidos da América (EUA) e União Européia (UE). A UE possui a maior taxa de consumo per

capita de mel do mundo e produziu mel suficiente para abastecer 60% de sua demanda em 2010 (FAOSTAT,2013). De 2006 a 2011, a importação de mel pela UE aumentou cerca de 8%, de 135,325 toneladas para 146,742 toneladas, e os valores equivalentes aumentaram cerca de 91%, de 222,9 milhões de dólares para 425,2 milhões de dólares. Na UE, A Alemanha é o maior importador de mel da UE e o segundo maior produtor, ficando atrás Espanha. Os EUA é o segundo maior mercado de mel no mundo e é altamente dependente da importação do produto para atender a demanda doméstica. Em 2010 os EUA produziram mel suficiente para atender 42% de sua demanda. Em 2011, este quadro caiu para 35% devido ao declínio na sua produção doméstica. De 2006 a 2011, a importação de mel pelos EUA aumentaram em volume cerca de 4%, de 125,940 toneladas para 130,494 toneladas, enquanto valores equivalentes aumentaram cerca de 124%, de 172,7 milhões de dólares para 387,2 milhões de dólares (FAOSTAT, 2013).

A China, maior produtor mundial de mel, participa de 39% da exportação mundial do produto. Entretanto, a relação de mercado tem histórico conturbado devido a presença de contaminantes (FINANCIAL TRANSACTIONS AND REPORTS ANALYSSIS CENTRE OF CANADA-FINTRAC, 2011). De 2002 a 2004 a União Européia banuiu a importação do mel chinês devido a contaminação do produto com antibióticos como cloranfenicol, streptomycin e tetraciclina. No final da década de 90 os exportadores chineses perderam participação no mercado mundial por falta de produção provocada por bactérias em suas colônias, o que levou ao uso de antibióticos. Em 2004 a UE voltou a importar o mel depois que a China concordou em reduzir o nível de contaminantes. Uma vez maior fornecedor de mel para os EUA, as exportações chinesas caíram drasticamente após uma ação *anti-dumping* imposta pelo governo americano que estava diretamente ligada ao banimento do

mel chinês pela UE. Com a proibição devido a contaminação de antibióticos, a China tentou ganhar mercado vendendo o seu mel 150% abaixo do mercado. A proibição tanto pelos EUA quanto pela UE deu origem ao tráfico ilegal de mel adulterado chinês via países vizinhos. Por exemplo, em 2010, a UE proibiu a importação de mel indiano devido a falta de rastreabilidade de origem e contaminação por antibióticos e elementos traços, o qual se suspeita ser de origem chinesa (FINTRAC, 2011) .

A Argentina foi o segundo maior produtor de mel do mundo em 2010, mas a exportação do mel argentino para o mercado europeu tem declinado de 2006 para 2011 devido a constatação de pólen contendo material geneticamente modificado, barreira técnica imposta pela U.E. Como resultado do declínio, as exportações foram redirecionadas ao mercado americano (FINTRAC, 2011).

Segundo dados da FAO, o Brasil em 2011 foi o 11º produtor mundial de mel e 8º exportador, produzindo um volume de 41600 toneladas de mel e 104 milhões de dólares em valores equivalentes (FAOSTAT, 2013). Esse valor é muito aquém do potencial brasileiro, avaliado em US\$ 1 bilhão (KISS, 2006). Em 2006 a UE também embargou o mel brasileiro pela não equivalência com relação as diretivas de controle de resíduos, sendo então parte da produção brasileira redestinada principalmente aos Estados Unidos. No mesmo ano, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) incluiu a monitoração do mel no Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PCRC), sendo consideradas várias substâncias a serem monitoradas que seguem as exigências internacionais de qualidade. Em 2008 a União Européia decidiu reabilitar as importações do mel brasileiro, reconhecendo que o Brasil havia adotado a equivalência de seus padrões no controle de resíduos e contaminantes do mel (FINTRAC, 2011).

A apicultura brasileira, que é fortemente atrelada a culturas agrícolas e susceptível a contaminação por agrotóxicos, nos últimos anos tem sido um campo bastante explorado por pesquisas (PACKER; GINÉ, 2001; MENDES et al, 2006; ALMEIDA et al. 2006). Sobre contaminantes orgânicos, é apontado mais de 40 espécies de resíduos em méis brasileiros (ALMEIDA et al. 2006).

2.4.1 Elementos químicos em mel

Comparado aos pesticidas, a análise de elementos químicos em mel são consideradas mais complexas (PORRINI et al, 2002). A fração mineral em mel é heterogênea, representa em média apenas 0,2% de sua constituição e fatores fitossociológicos, ambientais e de processamento interferem na sua composição química elementar (PORRINI et al, 2002).

Devido a interferência da matriz, a determinação de elementos químicos em mel tem sido um desafio analítico (MENDES, 2004). A diluição da amostra pode minimizar este efeito, contudo pode reduzir as concentrações dos analitos abaixo do limite de detecção. Por outro lado, a decomposição dos açúcares para a determinação de elementos químicos, por via ácida ou calcinação, aumentam a possibilidade de perdas por volatilização (FODOR; MOLNAR, 1993; MENDES; 2004, LEME, 2012). O Hg e, em menor proporção, o As, são voláteis em grande parte de suas formas químicas, podendo ser perdidos durante a evaporação de soluções ácidas ou combustão de materiais orgânicos (KRUG, 2008). Cd, Pb, Zn são voláteis como cloretos e brometos quando submetidos a temperaturas elevadas (KRUG, 2008)

Apesar disso, com a regulamentação dos limites de 0,5 mg kg⁻¹ para As, Cd, Hg e Pb em Mel pela legislação brasileira (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,

PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA, 2000), e posteriormente a adoção de limites mais restritivos pelo Mercosul - 0,3 mg.kg⁻¹ para As e Pb, e Cd 0,1 mg kg⁻¹ para Cd em mel (MERCADO COMUM DO SUL - MERCOSUL, 2011), houve um aumento em pesquisas relacionadas à determinação de elementos traços para fins de controle de qualidade. Trabalhos (SEVIMLI, 1992; FRIAS, 2008) têm discutido sobre a irrelevância da contribuição toxicológica de As, Cd, Hg e Pb para um consumo diário de 20 g de mel, baseados nos valores da “*Provisional Tolerable Weekly Intakes*” (PTWIs) fixados pela Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 1993).

Diante do crescente número de trabalhos de determinação de elementos químicos em mel, Caroli e coautores (2000) e Forte e coautores (2001) descreveram extensos estudos na tentativa de produzir um material de referência certificado contendo espécies inorgânicas nesta matriz, no qual se prezou a mínima manipulação da amostra durante o preparo como diluição em água. Nestes ensaios, os autores determinaram Hg por AAS e As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se e Zn por ICP-MS. Frações de massa maiores para os elementos Cu, Fe, Mn e Zn também permitiu o uso de ICP-AES.

Os principais elementos químicos constituintes no mel são o K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn e Cu os quais estão diretamente relacionados a coloração do mel e ao teor de cinzas, parâmetros que interferem no valor comercial do produto (POHL, 2009).

Além da determinação de elementos químicos para fins de controle de qualidade, estudos foram conduzidos para a discriminação do mel e do melato – néctar de origem não floral (GREMBECKA; SZEFER, 2013), discriminação da origem botânica (FERNANDEZ-TORRES, 2005; RUOFF, 2006), origem geográfica

(RUOFF, 2006; PELLERANO et al, 2012) e indicação da qualidade ambiental (JONES, 1987; CONTI; BOTRÉ, 2000).

Trabalhos recentes apresentaram a composição de Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Pb e Zn, em méis de abelhas sem ferrão (BANDEIRA et al, 2009; REBELO et al, 2009, PEREIRA, 2010, CARRERO, 2012) .

2.4.2 Identidade físico-química do mel de abelhas sem ferrão

A criação de abelhas para a produção de mel pode ser dividida em duas atividades distintas, de acordo com o grupo de sua espécie: a apicultura tradicional, que utiliza as abelhas *Apis mellifera* e a meliponicultura que utiliza as abelhas sem-ferrão (VILLAS-BÔAS, 2012). O sabor suave, levemente ácido e com menor teor de açúcar do mel de abelhas sem-ferrão torna-o diferenciado quando comparado ao de *Apis mellifera* (NOGUEIRA-NETO, 1997). O mel de abelhas sem-ferrão e suas associações microbiológicas únicas fornece oportunidades para o desenvolvimento de pesquisas ainda pouco exploradas na área alimentícia, farmacológica e de cosméticos. Apesar das potencialidades do mel de abelhas sem-ferrão e pelo maior valor comercial quando comparado com o mel de *Apis mellifera*, o produto não possui ainda diretivas de padrão de qualidade próprio (SOUZA et al, 2006).

O Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS - CODEX STAN 12-1981), o Mercosul (Mercosul/GMC/ N. 89/99) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do governo brasileiro (MAPA/ Instrução normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000) definem mel como '*produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar de flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes*

vivas de plantas, que as abelhas recolhem transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos de colméias’.

Pelas definições internacionais e nacional, o mel é oriundo das abelhas melíferas (do popular, em inglês, *honeybees*), que remete apenas à *Apis mellifera*. No caso das abelhas sem-ferrão, há discussões para que seja criada uma nomenclatura que o diferencie, como iramel – da palavra indígena ira para mel, mas mel de abelhas sem-ferrão é o mais difundido (SOUZA, 2008). Para que seja comercializado para consumo humano, o mel de abelhas sem-ferrão ainda precisa atender os padrões físico-químicos baseados no mel de *Apis mellifera* (Tabela 4) indicados pela legislação (CODEX STAN, 1981; MERCOSUL, 1999; MAPA, 2000).

Tabela 4. Parâmetros de qualidade do mel de *Apis mellifera*. Extraído de Carvalho et al (2005):

Parâmetros	Brasil	Mercosul	Codex Alimentarius
Umidade (%)	Máximo de 20	Máximo de 20	Máximo de 20
HMF (mg.kg ⁻¹)	Máximo de 60	Máximo de 60	Máximo de 80
Atividade diastásica (Goethe)	Mínimo de 8	Mínimo de 8	Mínimo de 8
Açúcares redutores (%)	Mínimo de 65	Mínimo de 65	Mínimo de 65
Sacarose (%)	Máximo de 6	Máximo de 6	Máximo de 5
Cinzas (%)	Máximo de 0,60	Máximo de 0,60	-
Condutividade elétrica (µS.cm ⁻¹)	-	-	Máximo de 800
Acidez (meq.kg ⁻¹)	Máximo de 50	Máximo de 50	Máximo de 50

Por não existir uma legislação própria para o mel de abelhas sem-ferrão, meliponicultores tendem a adequar as características do seu produto à legislação para conseguir o Selo de Inspeção Federal (SIF), como desumidificar o mel a 20% (FIDALGO, 2009) . Há também a idéia de se criar uma legislação específica para o

mel de abelhas sem-ferrão, com valores dos parâmetros de qualidade específicos para o grupo (VILLAS-BOAS; MALASPINA, 2005).

Principal parâmetro divergente à legislação, a umidade no mel de abelhas sem-ferrão dificilmente fica abaixo de 20% (PAMPLONA, 1989; CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991; ALMEIDA, 2002; SOUZA, 2004). A umidade em porcentagens maiores favorece a fermentação, o que diminui a vida útil do produto. O processo de desumidificação comum ao mel de *Apis mellifera* ao ser aplicado ao mel das abelhas sem-ferrão modifica o sabor naturalmente suave, bem como pode haver perdas nutricionais e de antibióticos se o processo for por aquecimento (CARVALHO et al, 2005).

Os parâmetros utilizados para conferir a ocorrência de um aquecimento indesejável ou avaliar o tempo de estocagem do mel são os teores de 5-hidroximetilfurfural (HMF) e o índice de diastase (CARVALHO et al, 2005). O HMF é encontrado em poucas quantidades em méis frescos e o seu conteúdo tende a aumentar durante o processo de aquecimento ou armazenagem, pela reação de Maillard para carboidratos ou desidratação catalítica ácida de hexoses (CARVALHO et al, 2005). A diastase é uma enzima formada nas glândulas hipofaríngeas das abelhas possivelmente envolvida na digestão do pólen, sensível a aquecimentos e um bom indicativo da qualidade do produto (CARVALHO et al, 2005). Na Venezuela, Vit et al. (1998) trabalhando com méis de abelhas sem-ferrão observaram valores de HMF variando de 0,40 a 31,60 mg.kg⁻¹ em méis de Meliponinas e 4,20 a 20 mg.kg⁻¹ em méis de Trigoninas, valores abaixo do máximo indicado pela legislação para a qualidade do mel de *Apis mellifera*. Para atividade diastásica, Vit et al (1998) evidenciaram valores variando de 2,60 a 3,50 na escala

Gothe para méis de abelhas da subtribo Meliponina e 2,50 a 35,60 na escala Gothe para méis de Trigoninas.

O aquecimento do mel também contribui para a acidificação do mel pela formação de hidroximetilfurfural e sua posterior decomposição em ácido levulínico e fórmico (FRIAS; HARDISSON, 1992). A acidez do mel é naturalmente determinada por variáveis como ácidos formados pela ação enzimática das glândulas das abelhas, ácidos presentes em diferentes fontes de néctar, ação de microorganismos durante a maturação do mel e presença de minerais (CARVALHO et al, 2005). Trabalhos realizados com méis de abelhas sem-ferrão apresentaram grande variação nos valores de acidez. Méis com acidez mais elevada da sub-tribo Trigonina quando comparada com a Meliponina também foram observadas por Vit et al. (1998), com valores variando de 20 a 94 meq.kg⁻¹ e 9,2 a 69,6 meq.kg⁻¹, respectivamente.

Glicose e Frutose, também chamados de açúcares redutores pela capacidade de redução dos íons de cobre em solução alcalina, representam 85 a 95% dos carboidratos presentes no mel. O teor de glicose, determina a tendência da cristalização do mel devido a sua pouca solubidade, e o teor de frutose determina a doçura e a tendência a solubidade do mel pela sua alta higroscopicidade (CARVALHO et al, 2005). A sacarose é um *dissacarídeo* hidrolisável em glicose e frutose pela enzima invertase produzida pelas abelhas e representa em média 2 a 3% dos carboidratos do mel de Apis (CARVALHO et al, 2005). Quando a sacarose é encontrada em valores superiores, há indicação de adulteração do produto. Vit et al (1998) observaram valores de açúcares redutores variando de 53,7 a 73,1% em méis de abelhas da subtribo Meliponina, 51,2 a 70,4% para a subtribo Trigonina e valores de sacarose variando de 0,30 a 6,10% para os méis de abelhas sem-ferrão

em geral. Trabalhando com *Melipona asilvae* no estado da Bahia, Souza et al. (2004) observou valores de açúcares redutores e sacarose variando na faixa de 66 a 76,2% e 1,13 a 8,35%, respectivamente. Também na Bahia, Alves (2004) observou valores médios de 74,82% para açúcares redutores e 2,91% para sacarose.

A fração mineral representa em média 0,2% da constituição do mel e para o cumprimento da legislação deve representar menos que 0,6%, sendo seu teor expresso em porcentagem de cinzas da massa total (CARVALHO et al, 2005). Elementos químicos como Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Rb, Sb, Sc, Sm, Th e Zn foram identificados na constituição da fração mineral em méis (PELLERINO et al, 2012). O teor de cinzas pode ser modificado por fatores relacionados às abelhas, apicultor/meliponicultor e seu sistema de produção, solo, clima e origem botânica (CARVALHO et al, 2005). Quanto a origem botânica, méis de origem floral possuem menos cinzas que melato, o mel de origem não floral (BOGDANOV, 1999). Méis mais claros também tendem a possuir menor teor de cinzas que méis mais escuros (WHITE JR., 1980). Pamplona (1989) constatou que o mel de abelhas sem-ferrão possuem um teor de cinzas de duas a três vezes maior que o mel de *Apis mellifera*. White Jr. (1980) observou teores de cinzas em méis de *Apis mellifera* variando entre 0,02 a 1%, com média de 0,17% em 490 amostras analisadas. Em amostras de méis de abelhas sem-ferrão, foram observados teores de cinzas variando de 0,02 a 0,40% em méis de abelhas da subtribo Meliponina da região Amazônica e 0,29 a 0,52% para méis de abelhas da subtribo Trigonina da mesma região (VIT et al, 1998).

2.5 Monitoração de elementos químicos em pólen

Pólen é a principal fonte de proteínas e minerais necessários para o desenvolvimento larval das abelhas (ZERBO; BROCHETTO-BRAGA, 2001).

Schmidt e Buchmann (1993) comparou a média de proteínas, lipídios, minerais e vitaminas do pólen com outros alimentos básicos. Pólen se apresentou mais enriquecido para a maioria dos seus constituintes quando comparado com alimentos como carnes, cereais, pães, frutas e verduras. Enquanto comparável em proteínas e minerais com carnes e cereais, pólen apresentou concentrações médias dez vezes maiores de tiamina, riboflavina e niacina.

Pesquisas médicas indicaram a eficácia da ingestão de pólen para a prevenção de problemas prostáticos (HABIB et al, 1995). A suplementação de pólen na dieta de frangos, leitões e novilhos, resultou em ganho de peso e outros efeitos positivos. (COSTANTINI; RICCIARDELLI D'ALBORE, 1971). Efeitos antibactericidas do pólen apícola é atribuído à enzima glicose oxidase adicionada pela abelha ao regurgitar néctar ao pólen estocado na colméia (WESTON, 2010). A este pólen modificado e estocado pelas abelhas se dá o nome de pão de abelhas ou saburá (VILLAS-BÔAS, 2012). Baixos efeitos antimicrobianos são observados em pólen coletados manualmente (LAVIE, 1968).

Somente alguns países, como o Brasil, Argentina, Espanha, França e Suíça, tem reconhecido legalmente o pólen coletado pelas abelhas como complemento alimentar e estabelecido padrões de qualidade (CAMPOS et al, 2008). A Instrução Normativa nº 3, de 19 de Janeiro de 2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, define o pólen apícola como sendo o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido ao regresso da colônias (MAPA, 2001). A comercialização do pólen apícola no Brasil deve seguir requisitos de qualidade, como umidade (máximo de 30% para pólen fresco e 4% para pólen desidratado); cinzas (máximo de 4% m/m, na base seca); lipídios (mínimo de 1,8% m/m, na base

seca), proteínas (mínimo de 8% m/m, na base seca), açúcares totais (14,5 a 55% m/m, na base seca), fibras brutas (mínimo 2% m/m, na base seca), acidez livre (máximo 300 mEq kg⁻¹), pH (4 a 6) e presença de flavonóides (MAPA, 2001). Entretanto, ainda faltam regulamentos específicos ao comércio de pólen apícola, como parâmetros para controle de contaminantes orgânicos e inorgânicos (MARTINS, 2010).

Desde a década de 80 experimentos tem apresentado que o pólen coletado pelas abelhas refletem os níveis de poluição ambiental quando examinado para elementos traços e radioisótopos (FREE et al 1983; CRANE, 1984; BROMENSHENK et al, 1985). Pela grande área coberta pelo forrageamento das abelhas, a quantificação de poluentes em amostragens de pólen apícola se torna uma alternativa interessante para estudos de monitoração ambiental (CRANE, 1984).

2.6 Análise por ativação neutrônica instrumental

Na década de 30, Hevesy e Levi quantificaram instrumentalmente a radioatividade induzida de amostras contendo elementos terras raras expostos a uma fonte de nêutronse por este feito é creditado a eles a descoberta da análise por ativação neutrônica - NAA (GUINN, 1980; REVEL; AYRAULT, 2000). A partir de então reconheceu-se o emprego de reações nucleares seguido da medição de radioatividade induzida para quantificar elementos químicos (GUINN, 1980).

A análise por ativação neutrônica (NAA) é uma técnica analítica de alta sensibilidade utilizada para a determinação de macroelementos, microelementos e elementos traços presentes em diversos tipos de amostras das mais variadas matrizes. Para a determinação de muitos elementos químicos, a NAA oferece

sensibilidade superior a de outras técnicas, na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ ou melhor (REVEL; AYRAULT, 2000). Nesta técnica, a amostra é sujeita a um fluxo de nêutrons de um reator nuclear e, então, radionuclídeos são produzidos como mostra a Equação (1):

Com o decaimento dos radionuclídeos, são emitidos raios gama com energia característica para cada nuclídeo. Na reação apresentada, ^{58}Fe é um isótopo estável e ^{59}Fe é um radioisótopo. Os raios gama emitidos durante o decaimento do núcleo de ^{59}Fe têm energias de 142,4, 1.099,2 e 1.291,6 keV, características deste nuclídeo. Comparando a intensidade dos raios gama com aqueles emitidos por um material de referência com valores certificados, é possível medir a concentração de vários nuclídeos na modalidade reconhecida como método relativo. A medição da radioactividade induzida em detectores de cristais de germânio e o processamento simultâneo dos dados por sistemas informatizados permitem quantificar mais de 30 elementos químicos (Figura 5), dispensando tratamento químico da amostra. A detecção da radioatividade induzida é obtida pela relação da taxa de contagem (I) e o produto do número de raios gama emitidos por decaimento (α), eficiência de detecção (ε) e tempo de contagem da amostra (t_c), representada pela Equação 2:

$$A = I/(\alpha \cdot \varepsilon \cdot t_c) \quad (2)$$

A aplicação de uma análise meramente instrumental caracteriza a análise por ativação neutrônica instrumental (INAA). Outra modalidade da NAA é a análise por ativação neutrônica radioquímica (RNAA), na qual as amostras após a irradiação sofrem a ação de reagentes para a remoção ou concentração de um radionuclídeo de interesse.

1																	2		
H																	He		
3	4													5	6	7	8	9	10
Li	Be													B	C	N	O	F	Ne
11	12													13	14	15	16	17	18
Na	Mg													Al	Si	P	S	Cl	Ar
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36		
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr		
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54		
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe		
55	56	57	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86		
Cs	Ba	¹ La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn		
87	88	89	104	105															
Fr	Ra	² Ac	Rf	Db															
¹ Lantanídeos		58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71				
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu				
² Actínídeos		90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103				
		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr				
	Isótopos estáveis																		
	Radioisótopos que podem ser produzidos. Limitação é a meia-vida ou fluxo de energia																		
	Elementos rotineiramente determinados por INAA																		

Figura 5. Elementos químicos passíveis de determinação pela análise por ativação neutrônica instrumental

De acordo com o método de padronização k_0 , desenvolvido por De Corte et al. (1987), ao considerar as constantes físicas ao invés de padrões primários para cada analito, permitiu-se analisar um número maior de amostras com eficiência nos cálculos.

Bode et al. (2000) apresentaram a potencialidade da INAA como método de razão primário em metrologia química, por atender requisitos de comparabilidade, rastreabilidade, exatidão, incerteza e estabilidade a longo-prazo das medições. Uma visão geral dos níveis potencialmente atingíveis de incerteza é dada na Tabela 5.

Estes níveis de incerteza são valores indicativos a serem obtidos quando a execução das análises é aprimorada. A maioria das incertezas da INAA pode ser quantitativamente avaliada. Os aspectos físicos das fontes de incerteza são bem entendidos, cujas contribuições são tão pequenas que podem ser consideradas desprezíveis comparadas com as fontes de incertezas principais. Cuidados na preparação (homogeneidade), tempo de irradiação, medição da radiação induzida pela espectrometria-gama e condições de contagem podem minimizar as fontes de incertezas.

Tabela 5. Fontes de incerteza potencialmente atingíveis para as melhores condições de medições em INAA, em geral, não limitadas por estatísticas de detecção. Adaptado de Bode et al. (2000)

	1 σ , %
<i>Preparação da amostra</i>	
Determinação da massa – amostra	0,003
Determinação da massa – padrão	0,011
Concentração do padrão	0,03
Variabilidade isotópica	desprezível*
Correção do branco	0,003
<i>Irradiação</i>	
Diferença de geometria	0,018
Diferença devido a auto-atenuação/espalhamento de nêutrons	0,03
Cronometragem	desprezível*
Interferências da irradiação	0,014
<i>Espectrometria de raios γ</i>	
Estatística de detecção	0,03
Diferença de geometria de detecção	0,011
Perda por efeito de “empilhamento”	0,003
Efeito de tempo morto	desprezível*
Efeito de tempo de meia-vida	desprezível*
Auto-atenuação de raios γ	0,014
Interferências de raios γ	0,014
Integração do fotopico	0,003
Incerteza geral (1 σ)	0,062

* Desprezível na maioria dos casos, podendo ser significativo em alguns casos

Diante da comprovação dos elevados níveis metrológicos, durante a 13th Meeting of the Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in

Chemistry, Bureau International des Poids et Measures – CCQM/BIPM, Paris, França (BIPM, 2007), a INAA foi adicionada formalmente aos 5 métodos primários listados originalmente em 1995 pelo CCQM juntamente com a gravimetria, coulometria, titulometria, espectrometria de massas por diluição isotópica e calorimetria.

Em estudos sobre a composição mineral de méis, diferentes métodos analíticos são comumente usados, como espectrometria de absorção atômica (POHL, 2009), espectrometria por fluorescência de raio-x (GOLOB et al, 2005), espectroscopia de emissão atômica por plasma induzido (CAMIÑA et al, 2008) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010). Entretanto, há grandes dificuldade na análise de elementos traços em méis devido a presença em baixas concentrações da maioria dos analitos. A preparação das amostras também podem ocasionar grandes diferenças nos resultados. Em geral, digestões por via úmida, seca ou em microondas são requeridas para a eliminação da matriz orgânica seguida por uma dissolução ácida, o que pode ser uma considerável fonte de incerteza analítica. Comparabilidade, exatidão e rastreabilidade das medições químicas são características que tornam a INAA um método bastante difundido na pesquisa de elementos traços causados por variáveis ambientais (REVEL; AYRAULT, 2000). Muitos trabalhos de biomonitoração utilizando mel foram realizados por espectrometria-gama para determinação de radionuclídeos (COKESA et al, 1995; BARISIC et al, 1999; MUJIC et al, 2011) enquanto que a utilização da INAA tem se tornado cada vez mais difundida nos últimos anos (SEVIMLI et al, 1992; ISKANDER, 1996; FREITAS et al, 2006; POPOVIC et al, 2008; ALMEIDA-SILVA et al, 2011; PELLERANO et al, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho, foi realizado o estudo da qualidade do mel de abelhas nativas sem ferrão. Existem no Brasil inúmeras espécies de abelhas sem-ferrão e ainda há muito trabalho de pesquisa a ser feito para conhecer essa diversidade. Há aquelas que produzem mel só para o consumo da colméia e outras produzem excedentes que podem ser aproveitados para o consumo humano. Para a seleção das espécies, foram consideradas as espécies mais comumente criadas de forma racional e que produzem os méis mais apreciados para o consumo humano. Para facilitar o entendimento se há influência da espécie ou do ambiente na dinâmica de elementos químicos nas colméias, foram coletadas abelhas, pólen e mel em cada colméia.

Pela dificuldade de isolar variáveis geográficas e ambientais para a caracterização química, seria interessante a coleta de amostras oriundas de uma mesma espécie em cada região amostrada. Embora a maioria das espécies de abelhas sem-ferrão sejam endêmicas, a *Melipona rufiventris* foi a única espécie encontrada em todos os estados onde foram realizadas as amostragens.

Devido ao maior conhecimento difundido sobre bioacumulação em abelhas da espécie *Apis mellifera* e em produtos apícolas, também seguiu o protocolo de amostragem para este grupo de abelhas para fins de comparação.

3.1 Amostragem

Atualmente não é difícil encontrar criadores de abelhas sem ferrão pela Internet, por meio de *blogs* e comunidades em redes sociais. Um grupo bastante difundido é o ABENA¹ (Abelhas Nativas), onde criadores por *hobby*, para fins de reprodução de colônias ou produção de mel debatem sobre a atividade em fóruns de discussão.

Utilizando deste recurso, para este trabalho, foram selecionados meliponários de cinco estados diferentes: Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina, São Paulo e Rio Grande do Norte, compreendendo um total de 70 colméias de onze diferentes espécies: *Melipona bicolor*, *Melipona capixaba*, *Melipona compressipes*, *Melipona mandacaia*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragona clavipes*, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona* sp.

Entre o segundo semestre de 2010 e primeiro semestre de 2011, foram coletadas de cada colméia cerca de 60 ml de mel com seringa descartável, 2 g de pólen metabolizado (saborá) com colher descartável e cerca de 2 g de abelha diretamente com tubetes etiquetados (Figura 1).

Figura 1. A. Coleta das abelhas em tubetes; B. Coleta de 60 ml de mel em seringa descartável; C. Coleta de pólen

¹ <http://br.groups.yahoo.com/group/abena/>

As unidades amostrais foram selecionadas de acordo com consulta no grupo ABENA com meliponicultores que poderiam fornecer as amostras. Os locais escolhidos constantes da Tabela 1 são descritos abaixo e podem ser visualizados na Figura 2.

Tabela 1. Espécies amostradas nas cidades de Macaíba-RN, Pouso Alegre-MG, S. F. Xavier-SP, Salvador, BA e Vidal Ramos-SC. P = Polen, A = Abelha, M = Mel.

[illegible]

Meliponário do Dr. Tertuliano Aires Neto, Macaíba, Rio Grande do Norte. O meliponário conta com espécies de *Melipona scutellaris* (uruçu nordestina), *Melipona rufiventris* (uruçu amarela), *Melipona mandacaia* (mandaçaia), *Melipona quinquifasciata* (mandaçaia-de-chão), *Melipona asilvae* (rajada), *Melipona compressipes* (tiúba), *Frieseomelitta varia* (marmelada), *Scaptotrigona* sp. (canudo, tubiba) e *Tetragonisca angustula* (jataí). A propriedade se localiza em uma área de Mata Atlântica com 4 hectares de plantas nativas e cultivadas de interesse das abelhas. As jandaíras (*Melipona subnitida*) não se desenvolvem em sua propriedade, mas somente a 5 km de distância em direção a caatinga, onde as colméias desta espécie foram amostradas.

Projeto Meliponários Urbanos, Salvador, Bahia. O projeto Meliponários Urbanos é uma Organização Não-Governamental (ONG) que visa conscientizar alunos de escolas de Salvador sobre a importância das abelhas sem ferrão para os ecossistemas terrestres brasileiros, bem como oferecer cursos de capacitação sobre a criação racional dessas abelhas. As amostras foram coletadas com a supervisão do médico veterinário Dr. Cláudio Vieira Lyra em uma área da Mata Atlântica onde está localizado o Quartel do 19º Batalhão de Caçadores, cerca de 2 km do oceano Atlântico.

Meliponário Mantiqueira, São Francisco Xavier, SP. Situada na Serra da Mantiqueira, as abelhas são criadas dentro de uma representativa área da Mata Atlântica onde ocorrem espécies raras como o macaco Muriqui. No meliponário são encontradas as espécies *Melipona quadrifasciata*, *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris* e a raríssima *Melipona capixaba*. O meliponário é de propriedade do Sr. Luiz Fernando Aparecido Paulo, o qual é voltado à divisão de

colônias. Devido à atividade de reprodução de enxames, amostras de pólen não foram coletadas em todas as colméias pela sua importância no desenvolvimento da cria.

Meliponário do Sr. Pedro Tarciso de Jesus, Pouso Alegre, MG. Pequeno meliponário residencial encontrado dentro do perímetro urbano da cidade de Pouso Alegre, onde se encontram espécies da subtribo trigonina como *Nannotrigona testaceiformis* (Iraí), *Tetragona clavipes* (jataí ou borá), *Tetragonisca angustula* (jataí) e da subtribo meliponina como *Melipona rufiventris*. Neste meliponário foram amostrados apenas pólen e as abelhas de *Nannotrigona testaceiformis*, *Tetragona clavipes* e *Melipona rufiventris* devido ao fato das abelhas serem alimentadas com complemento de xarope de açúcar por falta de pasto meliponícola nas proximidades. A região é definida com tropical de altitude, Mata Atlântica.

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão Tecnológica – Epagri, Vidal Ramos, SC. Amostras de mel, pólen e abelhas foram coletadas em colônias de *Melipona bicolor* (guaraipo), *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), *Melipona rufiventris* (urucu amarela), *Tetragonisca angustula* (jataí), *Scaptotrigona* sp. (canudo, tubiba) e *Apis mellifera* (abelha europa), propriedades dos Srs. Flávio José Majolo, Ivanir Cella, técnicos agrícolas da Epagri, e Leo Kresch. Alguns meses que antecederam a coleta, foi observada perdas significativas de enxames de *Apis mellifera* pelos criadores da cidade. A cidade é localizada em área de Mata Atlântica, possui cerca de 6000 habitantes e tem uma economia gerada basicamente pela produção agrícola de cebola, milho e fumo. A partir do segundo semestre de 2011, seis meses após a campanha de

amostragem, iniciou-se na cidade as atividades da maior unidade de produção de cimentos do Brasil, pela Votorantim Cimentos.

Figura 2. Localização os pontos de amostragem

3.2 Análise por ativação neutrônica instrumental - INAA

Para a análise por INAA, é ideal que as amostras sejam submetidas à secagem antes de serem irradiadas, evitando que processos de hidrólise gerem pressão interna à cápsula durante a ativação e provoque perdas do material. Amostras líquidas submetidas à INAA são envazadas em cápsulas de cristal de quartzo para contornar este problema durante a irradiação e para a contagem é realizada a retirada da amostra para evitar a interferência da atividade do recipiente. Contudo, devido às características físicas da matriz do mel, este procedimento não se mostra adequado. O mel quando submetido a processos de desumidificação sem destruição da matéria orgânica, em contato com o ambiente rapidamente se liquefaz devido a sua higroscopicidade. Dentre os poucos trabalhos de mel utilizando INAA (SEVIMLI et al, 1992; ISKANDER, 1995;

FREITAS, 2006; ALMEIDA-SILVA et al, 2011; PELLERANO et al, 2012), Sevimli et al (1992) detalhou as dificuldades de preparo das amostras, injetando as amostras de mel liofilizadas com seringa em um pequeno orifício na cápsula de quartzo, posteriormente selando-a e fazendo a contagem de uma cápsula vazia como branco. Mais recentemente, Pellerano et al, (2012) irradiaram as cinzas do mel.

Neste trabalho, um lote teste foi irradiado contendo méis submetidos a diferentes tratamentos: mel natural, liofilizado, digerido por H_2O_2 concentrado (20% v/v) e seco em estufa à 40 °C, 100 °C e 150 °C. Com exceção dos méis submetidos a estufa à 150 °C, todas as cápsulas de polietileno se romperam durante a irradiação. Análises termogravimétricas de mel indicam que a 180 °C ainda ocorrem eliminações de umidade e a cerca de 200 °C se inicia a carbonização da matéria orgânica (FELSNER et al, 2005). Seguindo os resultados preliminares, cerca de 10 g de cada amostra de mel foram pesados em cadinhos de porcelana, submetidas à estufa à 150 °C por 24 horas, e novamente pesadas após este período. Durante a secagem, houve uma perda de massa de cerca de $47 \pm 0,02$ (%) frente a uma média de umidade de 29 ± 4 (%) entre os méis de abelhas sem ferrão, indicando perda de matéria além da umidade. As amostras de mel tiveram o tamanho das partículas reduzidas com o auxílio de um pistilo, descontaminado com HCl 0,01M e água destilada após cada procedimento.

As amostras de pólen e abelhas foram congeladas à 18 °C e submetidas a liofilização em equipamento modelo SNL216V (Thermo Electron Corporation, USA) à temperatura de -50 °C e pressão na câmara de vácuo de 10 mbar.

Cerca de 300 mg de cada amostra foram transferidos para cápsulas de polietileno de elevada pureza fabricadas pela Vrije Universiteit, Amsterdã, Holanda, especiais para irradiação com nêutrons. Devido à inexistência de materiais de

referência certificados para determinação de elementos químicos em pólen, mel ou insetos, em cada lote foram utilizados dois materiais de referências de origem botânica ou animal: IAEA 336 Lichen e SRM1577b Bovine Liver nos lotes de mel e IAEA V-10 Hay Powder e SRM 1515 Apple Leaves nos lotes de pólen e abelhas (Tabela 2).

Tabela 2. Materiais de referência certificados (MRC) utilizados na avaliação da qualidade do procedimento analítico por INAA. n = número de porções-teste analisadas

Matriz	MRC	n	Fabricante
Mel	IAEA 336 Lichen	4	IAEA ¹
	SRM1577b Bovine Liver	4	NIST ²
Pólen e Abelhas	IAEA V-10 Hay Powder	4	IAEA
	SRM 1515 Apple Leaves	4	NIST ²

¹ IAEA – International Atomic Energy Agency, Áustria

² NIST – National Institute of Standards & Technology, Estados Unidos

As amostras foram enviadas ao reator nuclear de pesquisas IEA-R1m do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/SP) para a irradiação em fluxo de nêutrons térmicos de $10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, por 4 horas os lotes contendo mel e 8 horas os lotes contendo pólen e abelhas. Para a monitoração do fluxo de nêutrons, foram irradiados fragmentos de 10 mg de liga Ni-Cr de concentração conhecida dos elementos monitores (FRANÇA et al., 2003).

Após atingir nível de radioatividade seguro, as amostras foram manipuladas de modo a possibilitar a detecção da radioatividade induzida por espectrômetros de germânio hiperpuro no Laboratório de Radioisótopos do Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA), Piracicaba. Seguinte a análise dos espectros de radiação gama, as concentrações de elementos químicos nas amostras e nos materiais de referência foram calculadas por meio do programa de computador Quantu (BACCHI; FERNANDES, 2003) a partir do método k_0 (BACCHI et al., 2000). As incertezas

analíticas individuais foram estimadas de acordo com os critérios internacionais consolidados para amostras analisadas por INAA.

A qualidade do procedimento analítico foi avaliada pelo cálculo de *E_n numbers*, que levam em consideração o valor certificado do material de referência (MR) com sua respectiva incerteza expandida (*I*²) e o valor obtido com sua incerteza expandida em nível de 95% de confiança, conforme descrito na Equação (1). A faixa crítica para os resultados dos materiais de referência foi atribuída entre 1 e -1, de acordo com a ISO 13528 (2005).

$$E_n = \frac{(MR_{obtido}) - (MR_{certificado})}{\sqrt{I_{obtido}^2 - I_{certificado}^2}} \quad (1)$$

Para a avaliação das diferenças nas frações de massa de elementos químicos quanto à homogeneidade, amostras de mel de *Scaptotrigona* SP, *Melipona mandacaia*, *Melipona capixaba*, *Melipona scutellaris* e *Melipona rufiventris* foram analisadas por INAA em triplicata. Como medida de variação, foi utilizada o desvio padrão relativo e a incerteza analítica de cada amostra.

3.3 Parâmetros físico-químicos do mel

3.3.1 Determinação da umidade por refratometria

A determinação de umidade por refratometria é aplicável na determinação de umidade em mel e também em xaropes. Baseia-se no método refratométrico, no qual é utilizado o índice de refração da luz da amostra para ser convertida em porcentagem de umidade (Equação 1).

$$Umidade = 100 - ^{\circ}Brix \quad (1)$$

A umidade das amostras de méis foi determinada por refratômetro manual ATAGO a 20°C, no qual foi transferido de 3 a 4 gotas da amostra de mel para o prisma do refratômetro (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC, 1995; BOGDANOV et al, 1997).

3.3.2 pH e condutividade

As medições de potencial hidrogeniônico - pH e condutividade foram determinadas nos méis por meio de equipamentos voltamétricos Hanna do Centro Experimental Aramar, Iperó. Ao volume de 5 mL de mel foi adicionada água destilada na proporção 1:5. As amostras foram agitadas por cerca de 30 minutos e na sequência foram determinados o pH e a condutividade elétrica (BOGDANOV et al, 1997)

3.3.3 Cinzas

Cinzas é o resultado do resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550 °C e um dos parâmetros prioritários para a determinação da qualidade do mel. Nem sempre as cinzas representam toda substância inorgânica presente na amostra, pois alguns elementos químicos podem sofrer redução ou volatilização durante o aquecimento. Para a determinação das cinzas nas amostras de mel, foram pesados 5 g de cada amostra em cadinhos de porcelana de 50 ml (AOAC, 1996). As amostras foram submetidas à mufla a 550 °C por 4 horas, até obter a coloração branca ou acinzentada. Posteriormente, as amostras foram resfriadas em

dessecador até temperatura ambiente e pesadas para a obtenção percentual do resíduo (Equação 2).

$$Cinzas (\%) = \frac{100 \cdot \text{Peso (g)}_{cinzas}}{\text{Peso (g)}_{amostra}} \quad (2)$$

3.4 Estudos realizados

3.4.1 Estudo da qualidade do mel de abelhas nativas sem ferrão por INAA

As abelhas sem ferrão englobam uma grande diversidade de espécies no Brasil e não existe conhecimento sobre a composição química dos méis. Além da influência das espécies de abelhas e do próprio néctar, fontes exógenas de elementos químicos também podem modificar a composição química do mel. Por esta razão, foram avaliadas as frações de massa totais de elementos químicos de diferentes espécies de abelhas sem ferrão coletadas em quatro diferentes regiões: Macaíba-RN, Vidal Ramos-SC, Salvador-BA e São Francisco Xavier-SP. Parâmetros físico-químicos, como pH, condutividade, umidade e teor de cinzas, também foram avaliados e comparados com a legislação baseada no mel de *Apis mellifera*. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para cada variável para verificação das diferenças por espécie e local de coleta, utilizando-se os testes de Duncan e Wilcoxon/Kruskal–Wallis, respectivamente, na presença e ausência de normalidade e homocedasticidade das variâncias (SAS INSTITUTE, 1996). A discriminação dos méis por espécies ou área de coleta foi realizada por análise de variância multivariada (MANOVA), análise de agrupamentos (*cluster analysis*) e análise de variação canônica. A análise por componentes principais (PCA) foi realizada nas amostras de mel para identificar as correlações segundo a distribuição das variáveis.

3.4.2 Pólen meliponícola: valor nutricional e discriminador geográfico

O pólen é a principal fonte de elementos químicos para as colméias de abelhas sem ferrão. Considerando que a composição química do mel pode ser influenciada pelo pólen adsorvido ou por ambas matrizes serem originárias de um mesmo grupo botânico, é interessante observar a correlação entre o pólen meliponícola e o mel. A estatística descritiva foi utilizada para comparar a composição do pólen das abelhas sem ferrão com o pólen apícola, de modo a facilitar a discussão de sua aplicação à dieta humana.

A análise de variância multivariada (MANOVA) e análise de variação canônica foram utilizadas para observar a discriminação dos locais de coleta segundo a composição química do pólen.

Matriz de gráfico de dispersão dos valores das frações de massa dos elementos químicos presentes no pólen e mel, foram obtidos segundo o local de coleta de modo a permitir a avaliação das interrelações das variáveis (STATSOFT, 1996).

3.4.3 Abelhas como biomonitores ambientais

O desaparecimento das abelhas pelo mundo, fenômeno chamado de distúrbio do colapso das colônias (DCC), tem a contaminação do ambiente com substâncias tóxicas a principal hipótese para sua causa. Considerando a alta atividade metabólica das abelhas, o hábito de forragear grandes áreas e estocar alimento, torna as abelhas elegíveis biomonitores ambientais.

Como hipótese de que as abelhas são organismos bioacumuladores de elementos químicos, foram realizados testes de ANOVA para identificar possíveis diferenças entre as espécies.

A variabilidade química das frações de massa dos elementos químicos determinados nas abelhas de acordo com a área de estudo foi comparada pela MANOVA e pela análise de variação canônica (STATSOFT, 1996).

Matriz de gráficos de dispersão foi realizada entre as variáveis observadas em abelhas e mel para identificação das entradas de traços na composição do mel (STATSOFT, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Controle analítico

Foram irradiados um total de 8 lotes de amostras de matrizes biológicas, sendo 4 lotes de mel, 2 de abelhas e 2 de pólen. Devido a inexistência de materiais de referência certificados para determinação de elementos químicos em pólen, mel ou insetos, em cada lote foram utilizados dois materiais de origem botânica ou animal: IAEA 336 Lichen e SRM1577b Bovine Liver nos lotes de mel e IAEA V-10 Hay Powder e SRM 1515 Apple Leaves nos lotes de pólen e abelhas. Devido ao baixo teor de elementos químicos observados nos méis, procurou-se utilizar um material de referência que representar a dificuldade da matriz, como no caso do SRM1577b Bovine Liver.

Os resultados da composição química dos materiais de referência estiveram de acordo com os valores apresentados em seus respectivos certificados de análise, uma vez que os valores médios de *En numbers* estiveram dentro da faixa admissível de -1 e 1 para incertezas expandidas em nível de 95% de confiança (Figura 1). Nos lotes de mel, o controle da qualidade do procedimento analítico possibilitou a determinação dos elementos químicos As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc e Zn, com valores certificados para pelo menos um material de referência de cada lote. Nos lotes de pólen e abelhas, ao menos um material de referência apresentou valor certificado para As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, La, Na, Rb, Sb, Se e Zn.

A

B

Figura 1. Resultados médios de *En numbers* dos elementos químicos para os materiais de referência. A. Materiais de referência irradiados em lotes de mel: IAEA 336 Lichen e SRM1577b Bovine Liver. B. Materiais de referência irradiados em lotes de pólen e abelhas: e IAEA V 10 Hay Powder e SRM 1515 Apple Leaves

Com relação aos efeitos da subamostragem, seis amostras de mel foram analisadas em triplicata. Os resultados das frações de massa dos elementos químicos foram considerados satisfatórios devido a compatibilidade observada entre os desvios-padrão estimados (em %) para cada elemento avaliado e as suas respectivas incertezas expandidas (Figura 2). Apesar de não ter sido possível aplicar análise de variância para teste de homogeneidade, dado ao reduzido número de repetições, os resultados permitem afirmar que não há indícios de diferenças substanciais entre as subamostras tomadas, garantindo a comparabilidade dos resultados.

O coeficiente de variação das triplicatas esteve próximo dos 40% para Ca, Fe, La e Sc, 20% para Co e Cs e menos que 15 % para Br, Na, Rb e Zn. Em geral, o coeficiente de variação das triplicatas acompanhou a incerteza analítica, com exceção de La, cuja incerteza expandida (%) esteve quase o dobro do coeficiente de variação devido os resultados estarem próximos do limite de detecção. Cs nos méis de *Scaptotrigona* sp e *Melipona scutellaris* coletados em Macaíba-RN e Salvador-BA, foi o elemento que apresentou maior variação com relação a incerteza analítica (Figura 3). A

maior variabilidade deste analito pode estar relacionada com problemas na homogeneização do material ou com a preparação das amostras para análises.

Figura 2. Coeficiente de variação (CV%) calculado para os elementos químicos determinados em méis de cinco espécies analisadas em triplicata por INAA e as respectivas incertezas analíticas.

Figura 3. Coeficiente de variação (CV%) calculado para os elementos químicos determinados em méis de cinco espécies analisadas em triplicata por INAA.

A Figura 4 apresenta gráficos de dispersão entre os coeficientes de variação (CV%) estimados a partir das triplicatas analisadas e a variabilidade populacional para

as cinco espécies analisadas. É evidenciado pelo coeficiente de variação obtido para as subamostras que a rotina de análise empregada possui precisão adequada.

Figura 4. Coeficiente de variação (CV%) calculado para os elementos químicos determinados em méis de cinco espécies analisadas em triplicata por INAA

4.2 Estudo da qualidade do mel de abelhas nativas sem ferrão por INAA

A Figura 5 apresenta a estatística descritiva e o teste de análise da variância (ANOVA) das frações de massa de elementos químicos na base úmida das amostras de mel das abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*, bem como os valores de cinzas (%),

condutividade ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), umidade (%) e pH. Os resultados foram agrupados com o intuito de mostrar as particularidades das espécies.

Figura 5.

Valores médios com desvio padrão dos resultados reportados em méis de acordo com a espécie. Letras representam os agrupamentos da ANOVA. Valores de cinzas e umidade apresentados em porcentagem, condutividade em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e elementos químicos em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Amel = *Apis mellifera*; Mbic = *Melipona bicolor*; Mcom = *Melipona comporessipes*; Mman = *Melipona mandacaia*; Mqua = *Melipona quadrifasciata*; Mruf = *Melipona rufiventris*; Mscu = *Melipona scutellaris*; Msub = *Melipona subnitida*; Scap = *Scaptotrigona sp*; Tang = *Tetragonisca angustula*

Os elementos químicos As Cd e Hg considerados prioritários pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC/Mel (MAPA, 2010) e determináveis por análise por ativação neutrônica instrumental - INAA, ficaram abaixo do limite de detecção com respectivos valores limites de 0,1, 0,13 e 0,008 mg kg⁻¹. Os valores desses elementos são limitados a 0,5 mg.kg⁻¹ pela legislação brasileira (MAPA, 2010), embora as suas concentrações sejam consideradas pouco representativas quanto a contribuição toxicológica para uma dieta baseada em 20 g diárias de mel, segundo os valores fixados pela Organização Mundial da Saúde - OMS (SEVIMLI et al, 1992; FRIAS et al, 2008; CARRERO et al, 2012). Cromo apareceu acima do limite de detecção em 4 amostras de méis de *Scaptotrigona* sp coletadas na Bahia e Rio Grande do Norte, com valor médio de 0,3 ± 0,2 mg kg⁻¹.

Pelo análise da variância não-paramétrica, teste de Wilcoxon/Kruskal-Wallis, o pH das abelhas *Apis mellifera*, *Melipona compressipes* e *Melipona bicolor* apresentaram as maiores diferenças significativas ($p < 0,05$) quando os méis de todas as espécies foram intercomparados. O valor de pH mais alto foi 4,45 no mel de *Melipona compressipes*, e o mais baixo 3,45 em mel de *Melipona bicolor*, coletado em Santa Catarina. O mel de *Apis mellifera* teve uma média de 3,65 ± 0,1. A acidez do mel é importante para a inibição da ação dos microorganismos e seus valores podem ser influenciados pela concentração de ácido glucônico, enzimas, elementos químicos alcalinos e o tempo de armazenamento. Méis de *Apis mellifera* normalmente se encontram abaixo de pH 4 (VENTURINI, 2007), enquanto em méis de abelhas sem ferrão já foi observado pH variando na faixa de 3,4 e 4,6 (CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991).

A umidade apresentou diferenças entre os méis de *Apis mellifera*, cujo valor médio foi de $19,8 \pm 1,1\%$, e os das abelhas sem ferrão apresentaram valor médio de $29,2 \pm 3,6\%$. A umidade nos méis de abelha sem ferrão é considerada a diferença mais significativa com relação aos méis de *Apis mellifera* (PAMPLONA, 1989; CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991; ALMEIDA, 2002; SOUZA, 2004). Para a espécie *Melipona bicolor* foram reportados os maiores valores de umidade nos méis, com media de $34,4 \pm 3 \%$. O valor limite de umidade em mel é regulamentado em 20%, pois porcentagens maiores facilitam a atividade de microorganismos.

Diferenças significativas foram observadas entre os méis da espécie *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona* sp. comparados aos méis de outras espécies para cinzas, condutividade, Br e os elementos alcalinos Ca, K, Na e Rb (Figura 5). Pôde-se observar que apenas as amostras destas duas espécies estiveram acima dos limites estabelecidos para condutividade e cinzas em mel. *Scaptotrigona* sp. e *Tetragonisca angustula* apresentaram, respectivamente, $0,6 \pm 0,6 \%$ e $1,06 \pm 0,30 \%$ de cinzas. Os parâmetros de qualidade baseados em mel de *Apis mellifera* indicam um limite de 0,6 % de cinzas, enquadrando-se na categoria de melato ou mel de melato os méis com teor de até 1,2 % de cinzas (MAPA, 2000). É sabido que o melato, méis de origem não floral, possuem maiores concentrações de cinzas (BOGDANOV, 1999).

Os méis de *Scaptotrigona* sp e *Tetragonisca angustula*, representantes da subtribo trigonina, também apresentaram valores de condutividade acima do limite de $800 \mu\text{S.cm}^{-1}$, estabelecido pelo Codex Alimentarius. Os valores médios de condutividade nos méis de *Scaptotrigona* sp. foi de $760 \pm 500 \mu\text{S.cm}^{-1}$ e os de *Tetragonisca angustula* $1140 \pm 320 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Os resultados mais elevados de condutividade e teor de cinzas em méis de abelhas da subtribo trigonina comparadas

às da subtribo meliponina e *Apis mellifera* corroboram os resultados observados por Pamplona (1989), Vit et al. (1998), Souza (2004) e Pereira (2010), no entanto os aqui reportados se mostraram superiores. Santos (1956) evidenciou que é comum espécies da subtribo trigonina, furarem a base do tubo das corolas para terem acesso ao néctar floral ou mesmo preferirem nectários extraflorais devido a sua língua reduzida. A alta correlação entre a condutividade, teor de cinzas e os elementos alcalinos fundamentam a importância da composição desse grupo de elementos químicos na fração mineral do mel. Além disso, a alta correlação entre cinzas e condutividade ($r=0,85$; $p= <0,001$) permite inferir a quantidade da fração mineral do mel por uma simples análise de condutividade.

Figura 6. Correlação entre condutividade, K, Na e Ca com cinzas. T = Trigonina, M, Meliponina, A = *Apis mellifera*. 0,6% de cinzas = limite de teor de cinzas regulamentado em méis.

Como importância nutracêutica, os elementos alcalinos encontrados em sua maior parte no mel são considerados vitais para o bom funcionamento celular devido suas características eletrolíticas (MARTINS, 2010). A razão entre K/Na superior a 1 em

alimentos é considerada ideal para o bom funcionamento cardiovascular (YANG et al, 2011), sendo que os méis de *Melipona capixaba* apresentaram uma razão de 121 ± 38 , enquanto as demais espécies 21 ± 14 .

A análise fatorial, método da análise por componentes principais e rotação varimax (Tabela 1), permitiu estudar as diferenças na composição química elementar dos méis de acordo com as correlações dos elementos químicos.

Tabela 1. Cargas fatoriais obtidas pela análise fatorial, método da análise por componentes principais, rotação varimax, aplicada aos resultados de composição química elementar no mel. Potencial hidrogeniônico (pH); condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$). F = Fatores. C = comunalidade (porção da variância explicada pelas cargas fatoriais). Valores em negrito indicam alta correlação ($\geq 0,50$)

	F1	F2	F3	C
pH	0,11	0,022	0,74	0,52
$\mu\text{S cm}^{-1}$	0,81	0,069	-0,03	0,87
Umidade%	0,09	-0,059	-0,77	0,58
Cinzas%	0,80	0,108	0,079	0,86
Br	0,11	0,338	0,052	0,72
Ca	0,47	0,040	0,057	0,72
Co	-0,2	0,648	-0,13	0,53
Cs	0,81	-0,005	-0,01	0,78
Fe	0,02	0,863	0,23	0,79
K	0,93	0,085	0,13	0,96
La	0,29	0,672	-0,09	0,70
Na	0,52	0,676	-0,03	0,79
Rb	0,92	-0,09	-0,06	0,95
Sc	-0,03	0,94	0,048	0,90
Zn	0,63	-0,08	0,48	0,81

Três fatores explicam 76% de toda a variância. No fator 1 estão as variáveis inerentes ao néctar obtido pelas abelhas: condutividade, cinzas, e os elementos químicos Cs, K, Rb e Zn, que são de grande mobilidade pelo sistema vascular de plantas. O fator 2 apresenta os elementos químicos Co, Fe, La, Na e Sc que indicaram fatores ambientais exógenos ao néctar, incorporados pelas abelhas ou durante o processo de coleta. O fator 3 apresenta a umidade e o pH do mel, relacionados às

variáveis ligadas ao processamento do néctar pelas abelhas para a produção de mel. Essa relação é plausível devido ao fato de que, quanto maior a umidade, maior a necessidade de incorporação de enzimas antimicrobianas pelas abelhas que são naturalmente ácidas, como a glicose oxidase e ácido glucônico (WHITE JR, 1980).

A Figura 7 apresenta o agrupamento das variáveis pela análise dos componentes principais, considerando os fatores 1, 2 e 3, que explicam 76% da variância. É interessante observar que 52% do Sódio é explicado pelo Fator 1, no qual se correlaciona com outros elementos químicos alcalinos inerentes ao néctar, enquanto que outros 68% correspondem aos elementos químicos referentes ao Fator 2, cujos elementos são traçadores ambientais. Sódio é um elemento químico comum no material particulado atmosférico, tendo o *spray* marinho e poluentes como fontes (ARAÚJO, 2009).

Figura 7. Análise por componentes principais. Rotação varimax. Gráfico em três dimensões considerando os Fatores, 1, 2 e 3, que correspondem a 76% da variância.

No teste da análise de variância multivariada (MANOVA), os méis das espécies *Melipona bicolor*, *Melipona capixaba*, *Melipona mandacaia*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris* e *Melipona subnitida* não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,01$). As espécies *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona* sp apresentaram diferenças significativas entre suas populações e entre outras espécies ($p < 0,01$). As populações das espécies *Apis melifera* e *Melipona compressipes* não apresentaram diferenças entre si, mas foram significativamente diferentes quando comparadas as demais espécies ($p < 0,01$), agrupados principalmente pelos teores de K, cinzas e condutividade. O mel de *Melipona compressipes* apresentou a menor média percentual de umidade entre as abelhas sem ferrão: $25 \pm 4 \%$, superior apenas quando comparada com a média de *Apis mellifera*. A Figura 8 corrobora os resultados apresentados da MANOVA, utilizando a Análise de Agrupamentos.

Figura 8. Dendrograma das frações de massa de elementos químicos determinados nos méis de abelhas nativas sem ferrão e *Apis mellifera*.

Ferro não foi observado em frações de massa menores que 1 mg kg^{-1} nos méis de *Tetragonisca angustula*, *Scaptotrigona sp*, *Apis mellifera* e *Melipona compressipes*. Ferro quando correlacionado com escândio, é considerado um traçador terrígeno (FERNANDES; BACCHI, 1994). Embora as abelhas das espécies da subtribo meliponina colem argila para a produção de geoprópolis ou batume, cujo material é utilizado na vedação do ninho, esta atividade aparentemente não interferiu na qualidade do mel. Houve um aumento generalizado de Co, Fe, La, Sc e Zn nos méis de abelhas coletados em Salvador, em especial nos méis de *Melipona mandacaia*. A seguir será discutido o uso dos méis para discriminação geográfica.

Discriminação dos méis de abelha sem ferrão de acordo com a região de origem

A Figura 9 apresenta os resultados médios, desvio padrão e teste de ANOVA para percentual de cinzas, condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), percentual de umidade, potencial hidrogeniônico (pH) e as frações de massa na base úmida dos elementos químicos determinados nos méis de abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*. Os resultados foram classificados de acordo com a região de coleta. Devido a falta de normalidade e homocedasticidade dos resultados de pH, condutividade, cinzas, Br, K, Na e Rb, foi realizado o teste não-paramétrico Wilcoxon/Kruskal-Wallis nestas variáveis para observar as diferenças entre as diferentes regiões.

Nos testes não-paramétricos, os méis obtidos em São Francisco Xavier-SP apresentaram diferenças significativas ($p < 0,01$) para as variáveis condutividade, cinzas, e os elementos químicos Br, K, Na e Rb quando comparados com os méis obtidos nas cidades de: Macaíba-RN, Salvador-BA e Vidal Ramos-SC. É importante observar que os méis das abelhas representantes da subtribo trigonina, *Scaptotrigona*

sp e *Tetragonisca angustula*, não foram amostradas na cidade de São Francisco Xavier. A análise de variância (ANOVA) por espécies apresentou valores superiores de cinzas, condutividade, Br, K, Na e Rb nos méis das trigoninas, e por isso as médias de onde estas espécies foram coletadas foram superiores com relação as coletadas em São Francisco Xavier-SP.

Figura 9. Média e desvio padrão dos resultados reportados em méis de acordo com o local de coleta. Letras representam os agrupamentos da ANOVA. Cinzas e umidade em porcentagem, condutividade em $\mu\text{S.cm}^{-1}$ e elementos químicos em mg kg^{-1} .

As amostras obtidas em Salvador, BA, apresentaram um valor médio de Na de $51 \pm 60 \text{ mg kg}^{-1}$, mais elevado que os outros locais. Esses resultados evidenciam a influência do ambiente na composição química do mel, tanto pela proximidade das colméias com relação ao oceano (2 km) como pela proximidade de fontes urbanas poluidoras, pois está inserida dentro da região metropolitana (ARAUJO, 2009). Em Salvador, maior valor de Na foi obtido no mel de *Scaptotrigona* sp, cujo valor foi de $290 \pm 7 \text{ mg kg}^{-1}$. Para a mesma espécie, os valores de Na nos méis de Vidal Ramos-SC variaram de 83 a 140 mg kg^{-1} , e de 16 a 50 mg kg^{-1} nos méis obtidos em Macaíba-RN.

O teste não-paramétrico também apontou diferença significativa para pH entre os méis de Vidal Ramos-SC com relação aos méis obtidos em S. Francisco Xavier, SP ($p = 0,02$) e Salvador, BA ($p < 0,001$). A menor média de pH observada em Vidal Ramos-SC, $3,63 \pm 0,1$, foi acompanhada pelos maiores valores de umidade, cujo valor médio foi de $30,8 \pm 2,2$. Essa média foi claramente influenciada pelos méis da abelha *Melipona bicolor* (guaraipo), cujo pH médio foi de $3,5 \pm 0,3$, os quais também apresentaram o maior valor médio de umidade, $33 \pm 3\%$.

Pela ANOVA, a umidade dos méis obtidos em Vidal Ramos-SC se apresentaram significativamente diferentes dos méis de Macaíba-RN e Salvador-BA ($p < 0,01$), cujas respectivas médias percentuais foram 28,35 e 28,34 %. Os méis de S. Francisco Xavier-SP, cuja média percentual foi de 28,7%, se apresentaram significativamente semelhantes a todos os locais de amostragem.

Além da umidade, a presença de normalidade e homocedasticidade permitiu a aplicação da ANOVA para as variáveis Ca, Co, Fe, La, Sc e Zn. As amostras obtidas na região metropolitana de Salvador-BA tiveram os maiores valores para estas variáveis.

A MANOVA apresentou similaridade apenas entre os méis coletados em Macaíba-RN e São Francisco Xavier-SP ($p = 0,14$). Os méis coletados em Vidal Ramos-SC e São Francisco Xavier-SP foram significativamente diferentes ($p = 0,04$). As diferenças entre as amostras obtidas em Salvador-BA com relação as demais localidades foram altamente significativas ($p < 0,01$). Da mesma forma, o conjunto de amostras dos méis de Vidal Ramos-SC e Macaíba-RN se apresentaram significativamente diferentes.

A análise de variação canônica (Figura 11) apresentou os elementos químicos mais importantes para discriminação dos méis de acordo com sua origem geográfica. O tamanho dos vetores dos elementos químicos e a sua direção com relação aos grupos apresenta a importância na discriminação dos locais. Zn, Na, Sc, Br, Cs, Fe e Co foram os elementos químicos de maior peso para discriminação dos locais.

Figura 10. Análise da variação canônica. Gráfico bidimensional corresponde a 78% da variância

O gráfico bidimensional (Figura 10), que considera os fatores 1 e 2 da variação canônica corrobora o observado pela ANOVA e MANOVA, o qual apresentou similaridades entre os méis coletados no Rio Grande do Norte e São Paulo e diferenças entre as outras localidades. Nele, podemos observar que Zn e Na foram os elementos químicos de maior peso para discriminação dos méis da Bahia, Sc em Santa Catarina, Br nos méis de São Paulo e Cs nos méis do Rio Grande do Norte.

4.3 Pólen meliponícola: valor nutricional e discriminador geográfico

As concentrações médias na base seca dos elementos químicos observados nos pólenes coletados nas colmeias de abelhas sem ferrão é reportada na Tabela 4.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos elementos químicos determinados em pólen meliponícolas agrupados de acordo com o local de coleta.

Estado	Cidade		Br	Ca	Co	Cs	Fe	K	Na	P	Rb	Sc	Se	Zn
BA	Salvador (n=12)	$\bar{x}$	1,24	1990	0,63	0,04	119	6455	194	6800	21	0,018	1,13	61
		σ	0,78	355	0,97	0,03	67	1590	156	2800	10	0,016	0,95	26
MG	Pouso Alegre (n=3)	$\bar{x}$	1,86	2265	1,77	0,22	67	5495	65	4300	33	0,011	0,08	40
		σ	1,81	304	0,08	0,10	23	1025	29	165	12	0,009	-	4
RN	Macaíba (n=15)	$\bar{x}$	1,82	1840	0,03	0,09	90	10327	95	7500	25	0,004	0,35	75
		σ	1,35	391	0,01	0,04	18	2290	52	1450	7	0,002	0,19	15
SP	S. F. Xavier(n=3)	$\bar{x}$	1,29	2565	0,05	0,15	50	6740	70	5400	43	0,008	0,08	45
		σ	1,35	559	0,06	0,04	20	2022	40	3530	36	0,010	-	25
SC	Vidal Ramos (n=18)	$\bar{x}$	1,49	1844	0,07	0,06	89	9128	108	6300	28	0,011	0,25	67
		σ	1,41	584	0,06	0,05	48	3043	135	1990	18	0,015	0,15	20

Potássio, fósforo, cálcio, sódio, ferro e zinco foram os elementos predominantes no pólen meliponícola. A faixa de valores dos elementos químicos observados nos pólenes meliponícolas é compatível aos observados em pólenes apícolas.

O maior valor observado de K, $15100 \pm 600 \text{ mg kg}^{-1}$, foi em pólen coletado em uma colmeia de *Melipona compressipes* do Rio Grande do Norte. Funari et al (2003)

reportaram valores de K variando de 5900 a 7200 mg kg⁻¹ em pólen coletados no estado de São Paulo. Em pólen apícolas da Argentina, os valores de K variaram entre 2250-9800 mg kg⁻¹ (CORONEL, 2004). Martins (2010) considera que a alta razão K/Na torna o pólen apícola um produto valioso para dietas com balanço eletrolítico definido. Nos pólen meliponícolas a concentração média de K se apresentou em cerca de 120 vezes superior a concentração de Na.

Fósforo foi o segundo elemento químico em predominância observado nos pólen. Os valores de P variaram de 2500 a 10350 mg kg⁻¹ e se equivalem a faixa observada em pólen apícolas reportados na Austrália, 1400-8000 mg kg⁻¹ (SOMMERVILLE; NICOL, 2002) e Brasil, de 3900-8865 mg kg⁻¹ (FUNARI *et al*, 2003; CARPES *et al*, 2008). As concentrações de P em pólen se apresentam superiores dos observados em alimentos reconhecidamente ricos deste elemento, como leite. As concentrações de P em leite variam de 17 a 280 mg kg⁻¹ na base úmida, com umidade em torno de 90% (DOREA, 1999). Fósforo, componente do nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia – a adenosina trifosfato ou ATP (LEHNINGER *et al*, 2007), é um elemento químico de grande requisição às abelhas devido as suas altas atividades metabólicas.

As concentrações de Ca no pólen meliponícola variaram de 1500 a 2950 mg kg⁻¹. Em pólen apícolas coletados na região sul do Brasil, Ca variou entre 290-2150 mg kg⁻¹ (CARPES *et al*, 2008). Ca em leite apresenta uma média 250 mg kg⁻¹ na base úmida, com umidade em torno de 90% (DOREA, 1999).

Pólen florais expostos a um ambiente urbano são mais enriquecidos de ferro que os obtidos de áreas rurais (OKUYAMA *et al*, 2007; KALBANDE *et al*, 2008). O maior valor médio de Fe em pólen observado foi o obtido na região metropolitana de

Salvador, com média de $119 \pm 67 \text{ mg kg}^{-1}$. Outros trabalhos no Brasil apresentaram frações de massa de Fe em pólen variando de 27,9 a 203,3 mg kg^{-1} . (FUNARI *et al*, 2003; CARPES *et al*, 2008). Apesar das abelhas sem ferrão coletarem solo para a produção de geoprópolis, as concentrações de Fe, traçador geológico, indicam que este comportamento não interfere na qualidade do pólen quando comparado ao pólen apícola.

Em pólen apícolas coletados de 11 estados brasileiros e distrito federal, Martins (2010) observou Na variando de $<0,004$ (limite de detecção) a 1466 mg kg^{-1} . Nos pólen meliponícolas, sódio variou de 20 a 650 mg kg^{-1} . Assim como ferro, os maiores valores de sódio foram observados em pólen de abelhas da subtribo trigonina da cidade de Salvador. Enquanto os pólen coletados pelas abelhas trigoninas apresentaram uma média de $215 \pm 195 \text{ mg kg}^{-1}$, os pólen coletados pelas meliponinas apresentaram $95 \pm 51 \text{ mg kg}^{-1}$.

Selênio em pólen apresentou concentrações de $> 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ (limite de detecção) até $1,98 \pm 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$ na base seca. Alimentos reconhecidamente ricos em Se, como a castanha-do-Pará e lentilha, apresentam respectivamente, 2,96 e $0,083 \text{ mg kg}^{-1}$ (DI PIERO *et al*, 2008). Selênio é um elemento essencial para animais, cuja função metabólica mais conhecida é antioxidante. Selênio também tem importância no metabolismo da tireoide e alguns estudos o indicam como importante fator para prevenção de certos tipos de câncer (ALAEJOS *et al*, 2000). As maiores concentrações em pólen foram observadas em Salvador-BA ($1,13 \pm 0,95 \text{ mg kg}^{-1}$), seguidos de Macaíba-RN ($0,35 \pm 0,19 \text{ mg kg}^{-1}$) e Vidal Ramos ($0,25 \pm 0,15 \text{ mg kg}^{-1}$). As maiores concentrações de Se em solos do mundo foram observadas em regiões áridas com presença substancial de rochas sedimentares (IHNAT *et al*, 1989).

Ao comparar todas as regiões, A ANOVA indicou diferenças significativas ($p = 0,05$) nas concentrações de Co e Cs em Pouso Alegre-MG, K em Macaíba-RN, Rb em São Francisco Xavier-SP, Fe e Se em Salvador-BA

A MANOVA indicou semelhanças entre os polens coletados em São Francisco Xavier-SP e Pouso Alegre-MG ($p = 0,14$) e diferenças entre as demais localidades ($p < 0,05$).

Pela análise de variação canônica (Figura 11), é possível observar que os agrupamentos refletem as ecofisionomias das regiões, com Pouso Alegre e São Francisco Xavier próximas e Macaíba mais distante das outras regiões. Enquanto Pouso Alegre e São Francisco Xavier pertencem a região da serra da Mantiqueira e distam entre si cerca de 70 km, Macaíba fica em uma área de transição de Mata Atlântica com a Caatinga.

Figura 11. Análise da variação canônica para os resultados dos elementos químicos em pólen. Gráfico bidimensional corresponde a 83% da variância

Correlação entre os elementos químicos dos pólen meliponícolas e os méis de abelhas

A Figura 12 apresenta o gráfico da matriz de correlação entre os elementos químicos determinados em pólen e as variáveis determinadas em mel – pH, condutividade, umidade, cinzas e elementos químicos. Pelo gráfico, é possível observar uma tendência de separação dos méis pela região amostrada. Maiores concentrações de K, P e Zn nos pólen corresponderam com maiores valores de pH em méis.

O coeficiente de correlação residual de Pearson (MANOVA), tirando efeito do local de coleta e espécie, foi altamente significativo entre as concentrações de Fe no pólen e Co ($r = 0,35$, $p = 0,03$) e Na ($r = 0,41$, $p = 0,01$) presentes nos méis. Na no pólen se correlacionou com Fe ($r = 0,41$, $p = 0,01$) e Na ($r = 0,36$, $p = 0,03$). Os maiores valores médios de Co, Fe e Na observados nos pólen de Salvador, acompanharam as médias dos mesmos elementos observados nos méis coletados na capital da Bahia.

Os dados sem tratamento apresentaram uma tendência dos méis e pólen das abelhas da subtribo trigonina, *Scaptotrigona* sp *Tetragonisca angustula*, apresentarem maiores concentrações de Na, como pode ser visto na Figura 13. Esta tendência pode indicar uma diferença no padrão de forrageamento entre as abelhas da subtribo trigonina e da subtribo meliponina. É sabido que as abelhas do gênero *Melipona* se diferenciam das abelhas trigoninas e da *Apis mellifera* pela capacidade de extração de pólen por vibração da musculatura de vôo (RAMALHO et al, 2007). Tal comportamento pode indicar uma menor manipulação do pólen pelas abelhas meliponinas durante o forrageamento.

Figura 13. Matriz de gráficos de dispersão para potencial hidrogeniônico (pH), condutividade (S/m) e frações de elementos químicos determinados no em méis de abelhas sem ferrão e pólen.

Figura 13. Gráfico de dispersão. Correlação entre Na em mel e Na no pólen e ausência de correlação entre Na em mel e Fe em pólen. Evidências de maiores teores de Na nos méis e pólenes coletados por abelhas da subtribo trigonina.

4.4 Abelhas sem ferrão como biomonitores ambientais

A Tabela 5 apresenta os resultados médios e desvio padrão dos elementos químicos observados nas abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*. Maiores concentrações de Br foram observadas em *Apis mellifera* e nas abelhas da subtribo trigonina - *Nannotrigona testaceiformis*, *Scaptotrigona sp*, *Tetragona clavipes* e *Tetragonisca angustula*, diferenciadas das abelhas do gênero *Melipona* pelo teste de ANOVA ($p = 0,05$). Padrão similar foi observado com o elemento Na, com a adição da espécie *Melipona rufiventris* ao grupo formado de *Apis mellifera* e as abelhas trigoninas.

A espécie *Melipona mandacaia* apresentou diferenças significativas pelo teste de ANOVA para os elementos Co e Se como resultado das maiores frações de massa observadas nas abelhas coletadas em Salvador-BA. *Melipona scutellaris* formou um segundo agrupamento no teste de ANOVA para Se, também devido aos resultados obtidos nas abelhas coletadas em Salvador-BA. Maiores concentrações de Cs e Rb foram observadas nas abelhas coletadas em São Francisco Xavier-SP e Pouso Alegre-

MG, com diferenças significativas para Cs em *Tetragona clavips* e Rb em *Melipona capixaba* quando comparadas às demais espécies ($p = 0,05$).

Tabela 5. Média e desvio padrão dos valores observados em abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*

Espécie		As	Br	Ca	Co	Cs	Fe	K	Na	Rb	Sb	Sc	Se	Zn
<i>Apis mellifera</i>	$\bar{x}$	0,08	3,8	950	0,12	0,023	151	6440	460	15	0,007	0,007	0,34	102
	σ	0,01	1,1	313	0,10	0,015	43	1510	184	12	0,004	0,007	0,24	16
<i>Melipona bicolor</i>	$\bar{x}$	0,46	2,4	978	0,17	0,029	269	6457	314	16	-	0,038	-	136
	σ	0,49	1,2	264	0,12	0,020	203	2420	107	16	-	0,057	-	26
<i>Melipona capixaba</i>	$\bar{x}$	-	2,2	974	0,12	0,034	372	5895	322	39	-	0,092	-	116
	σ	-	0,9	225	0,14	0,022	420	3486	246	8	-	0,127	-	42
<i>Melipona compressipes</i>	$\bar{x}$	-	2,0	728	0,06	0,010	170	8103	337	9	0,007	0,002	0,50	117
	σ	-	0,3	111	0,03	0,001	1	372	53	1	0,005	0,001	0,07	1
<i>Melipona mandacaia</i>	$\bar{x}$	0,13	2,0	1338	1,27	-	343	8300	384	12	-	0,024	2,66	163
	σ	0,01	0,3	405	0,70	-	123	3586	138	4	-	0,009	0,73	32
<i>Melipona quadrifasciata</i>	$\bar{x}$	0,25	2,1	1026	0,34	-	274	5460	194	16	-	0,039	0,33	117
	σ	0,42	1,0	415	0,61	-	211	2278	104	12	-	0,055	0,22	22
<i>Melipona rufiventris</i>	$\bar{x}$	0,6	2,5	1010	0,10	0,02	160	8800	450	30	0,005	0,004	0,44	112
	σ	-	0,8	236	0,05	0,015	41	2092	237	17	0,004	0,003	0,26	22
<i>Melipona scutellaris</i>	$\bar{x}$	-	2,2	575	0,10	0,016	125	6556	236	13	0,003	0,005	1,05	96
	σ	-	1,2	293	0,22	0,004	63	2512	139	4	0,002	0,006	1,48	37
<i>Nannotrigona testaceiformis</i>	$\bar{x}$	-	4,1	2340	0,23	0,018	135	5340	634	18	0,002	0,006	0,08	87
	σ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Scaptotrigona sp</i>	$\bar{x}$	0,32	4,5	1056	0,10	0,019	159	7266	460	11	0,013	0,006	0,44	98
	σ	0,11	1,5	176	0,07	0,005	84	1450	138	5	0,016	0,007	0,53	25
<i>Tetragonisca angustula</i>	$\bar{x}$	0,31	3,5	982	0,31	0,028	436	8327	511	10	0,006	0,056	0,19	127
	σ	0,15	1,2	179	0,22	0,025	442	2857	103	2	0,004	0,081	0,16	7
<i>Tetragona clavips</i>	$\bar{x}$	-	13,4	1622	0,15	0,083	226	11800	1110	24	0,002	0,010	0,10	143
	σ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A MANOVA indicou diferença significativa ($p < 0,01$) entre a espécie *Nannotrigona testaceiformis* (iraí) e *Tetragona clavips* (borá), bem como entre estas e outras espécies amostradas. A composição química das abelhas *Apis mellifera*, *Melipona bicolor*, *Melipona capixaba*, *Melipona compressipes*, *Melipona mandacaia*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Scaptotrigona sp* e *Tetragonisca angustula* não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

As espécies *Nannotrigona testaceiformis* e *Tetragona clavips*, foram coletadas unicamente em Pouso Alegre-MG. As frações de massa de Br nas abelhas *Nannotrigona testaceiformis* e *Tetragona clavips* foram, respectivamente, $4,2 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ e $13,8 \pm 0,9 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto a média das outras espécies foi $2,9 \pm 1,2 \text{ mg kg}^{-1}$. A fração de massa média de Na foi de $950 \pm 50 \text{ mg kg}^{-1}$ em *Nannotrigona testaceiformis*, $1150 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ em *Tetragona clavips* e $440 \pm 240 \text{ mg kg}^{-1}$ para as demais espécies. Abelhas da espécie *Melipona rufiventris* também coletadas em Pouso Alegre-MG apresentaram altas frações de massa de Na, cujo valor de $1020 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ foi cerca de duas vezes superior a média de $450 \pm 230 \text{ mg kg}^{-1}$ observada nas abelhas da mesma espécie coletadas em outras regiões. As altas frações de massa de Na observadas nas abelhas de Pouso Alegre podem estar relacionadas a alimentação das abelhas, pois às colmeias amostradas nesta cidade foi fornecido um xarope artificial adicionado de sal de cozinha pelo meliponicultor.

Altas concentrações de Br nas abelhas podem estar relacionadas com a síntese feromonal das abelhas. O 2-bromo-heptano é considerado precursor na formação do feromônio de defesa da colméia, a 2-heptanona (PAPACHRISTOFOROU et al, 2012). As abelhas *Apis mellifera* e da subtribo trigonina - *Nannotrigona testaceiformis*, *Scaptotrigona sp*, *Tetragonisca angustula* e *Tetragona clavips*, apresentaram os maiores valores médios de Br. A abelha *Tetragona clavips* (borá), espécie agressiva que exala um cheiro forte quando a colméia se encontra ameaçada, apresentou um valor de $13,7 \pm 6,4 \text{ mg kg}^{-1}$. *Scaptotrigona sp*, *Nannotrigona testaceiformis* e *Tetragonisca angustula* apresentaram respectivamente $4,5 \pm 1,5 \text{ mg kg}^{-1}$, $4,1 \pm 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ e $3,5 \pm 1,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de Br. Entre as meliponinas, a *Melipona rufiventris* foi a

abelha que apresentou o maior valor médio de Br, $2,5 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$. As abelhas da colméia desta espécie ao ser manipulada enrolam nos cabelos e deixam seu odor, cuja característica é mais acentuada entre as abelhas da subtribo trigonina.

A Figura 14 apresenta as médias das frações de massa dos elementos químicos na base seca em abelhas de acordo com o local de amostragem.

Figura 14. Média e desvio padrão dos resultados das frações de massa de elementos químicos (mg kg⁻¹) em abelhas de acordo com o local de coleta. Letras representam os agrupamentos da ANOVA.

Pelo teste de Duncan, a ANOVA indicou similaridades nas frações de massa de Cs e Rb nas abelhas coletadas em Pouso Alegre-MG e São Francisco-Xavier-SP. Dos pontos de coleta, estas cidades foram as que apresentaram a menor distância entre elas: 70 km. Para Co e Se, as abelhas de Salvador se apresentaram significativamente diferentes ($p = 0,05$) com relação as coletadas em outras cidades. Sabe-se que solos continentais próximos do oceano se apresentam mais enriquecidos de Se (LAG; STEINES, 1974, LAG; STEINES, 1976).

As concentrações elevadas de Se nas abelhas de Salvador responderam as maiores concentrações de Se observados no pólen coletado em suas colmeias, enquanto o mesmo não foi observado para Co (Figura 15).

Figura 15. Gráficos de dispersão: A. Se em abelhas e Se em pólen. Co em abelhas e Co em pólen.

Arsênio foi observado nas abelhas ocorrentes em Vidal Ramos-SC, Salvador-BA e Pouso Alegre-MG, enquanto que as de São Francisco Xavier-SP e Macaíba-RN ficaram abaixo do limite de detecção ($0,18 \text{ mg kg}^{-1}$). As baixas concentrações de As nas abelhas de São Francisco Xavier-SP e Macaíba-RN evidenciam a baixa atividade antrópica realizada nas proximidades de onde foram realizadas as coletas. As concentrações de As de Salvador-BA e Pouso Alegre-MG, cujos respectivos valores médios foram de $0,09 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,07 \pm 0,3 \text{ mg kg}^{-1}$, refletem o contato das abelhas

com os poluentes do meio urbano em que os enxames estão inseridos. Apesar das abelhas de Vidal Ramos-SC terem sido coletadas em área rural, estas apresentaram as maiores concentrações de As, cuja média foi de $0,47 \pm 0,37 \text{ mg kg}^{-1}$. As principais atividades econômicas em Vidal Ramos é o cultivo e processamento de tabaco e indústria de cimento. Arsênio pode estar ligado ao desaparecimento de colônias observado por apicultores de Vidal Ramos alguns meses antes da campanha de amostragem. A anormalidade da distribuição de As no ambiente geralmente é relacionada à queima de combustíveis fósseis e defensivos agrícolas (FOLKES et al, 2001; FANG et al, 2011). A Figura 16 apresenta gráficos de dispersão entre As e os elementos traçadores de solo Fe e Sc, evidenciando padrões anômalos em Santa Catarina.

Figura 16. Correlação entre As, Fe e Sc em abelhas. Arsênio em algumas abelhas de Santa Catarina não seguem a tendência de Fe e Sc, elementos químicos indicadores geológicos

Na Figura 17 é apresentado o gráfico bidimensional da análise da variação canônica com os 2 fatores que explicam 78% da variância dos resultados da composição química das abelhas segundo o local de coleta. O gráfico é corroborado pelas significativas diferenças entre os locais de coleta indicadas pela MANOVA ($p < 0,01$). Como observado pelo teste de Duncan, a análise da variação canônica evidenciou que as abelhas coletadas de Salvador-BA foram caracterizadas pelas

maiores concentrações de Co e Se, as de Pouso Alegre-MG pelas concentrações de Na, as de São Francisco Xavier pelo Rb, as de Vidal Ramos-SC pelo As e Macaíba pelo K.

Figura 17. Análise da variação canônica para os resultados dos elementos químicos em abelhas sem ferrão. Gráfico bidimensional corresponde a 78% da variância

Correlação entre os elementos químicos em abelhas sem ferrão e os méis

A Figura 18 apresenta a matriz de correlação entre as variáveis observadas nos méis (cinzas - %, condutividade - $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, umidade - %, pH e elementos químicos) e os elementos químicos nas abelhas.

Os três principais elementos químicos determinados nas abelhas sem ferrão que interferiram diretamente nas características físicas e químicas do mel foram Br, Co e Na. O coeficiente de correlação residual de Pearson (MANOVA), tirando efeito do local de coleta e espécie, foi altamente significativo entre Br em abelhas e pH nos méis ($r = -0,5$; $p < 0,01$). Br em abelhas também apresentou correlações significativas com Co ($r = 0,47$, $p < 0,01$) e

Sc ($r = 0,47$, $p < 0,01$). Cobalto em abelhas apresentou correlação altamente significativa com Fe em mel ($r = 0,32$, $p = 0,05$), La ($r = 0,40$, $p < 0,01$) e Sc ($r = 0,43$, $p < 0,01$). Na em abelhas apresentaram correlações altamente significativas com o pH dos méis ($r = 0,35$, $p < 0,05$), umidade ($r = 0,35$, $p = 0,05$), Fe ($r = 0,37$, $p = 0,05$), La ($r = 0,46$, $p < 0,01$), Na ($r = 0,47$, $p < 0,01$) e Sc ($r = 0,51$, $p < 0,01$)

Na Figura 18 pode-se observar que as abelhas de Macaíba-RN apresentaram as menores concentrações de Br e Na e os méis coletados nesta cidade tiveram os maiores valores de pH e umidade. As correlações de Br e Na em abelhas com elementos químicos em mel de difícil assimilação biológica, como o La e Sc – traçadores geológicos, são indicativos de que as condições ambientais da área de forrageamento das abelhas interferem nas características que regem a qualidade do Mel, como a acidez e umidade.

Figura 18. Matriz de gráficos de dispersão para potencial hidrogeniônico (pH), condutividade (S/m) e frações de elementos químicos determinados no em méis de abelhas sem ferrão e as abelhas.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou as diferenças na composição química dos méis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão e o efeito dos locais nas suas constituições. O estudo dos méis das abelhas sem ferrão combinado ao conhecimento da composição química elementar do pólen e das próprias abelhas, permitiu um melhor entendimento sobre a entrada de constituintes exógenos ao néctar. Além disso, pôde-se avaliar o potencial nutracêutico do mel e pólen meliponícola. Os estudos realizados permitiram concluir que:

- ✎ Os baixos coeficientes de variação obtidos a partir da análise de algumas amostras de mel em triplicata por INAA foram evidências da qualidade metrológica do método analítico empregado em estudos envolvendo matrizes complexas como méis.
- ✎ Elementos químicos de importância ambiental, como As, Hg e Cd ficaram abaixo do limite de detecção em todas as amostras de méis. Cr ficou acima do limite em quatro amostras de mel de *Scaptotrigona* sp coletadas na Bahia e Rio Grande do Norte;
- ✎ O pH dos méis de *Melipona compressipes* e *Apis Mellifera*, apresentaram os valores mais baixos: 3,45 e 3,5, respectivamente. *Melipona compressipes* apresentou o valor de pH mais alto: 4,45.

- 🐝 O mel de *Apis mellifera* apresentou umidade cujo valor médio foi de $19,8 \pm 1,1\%$.
A umidade nos méis de abelha sem ferrão apresentou valor médio de $29,2 \pm 3,6\%$. A espécie *Melipona bicolor* apresentou a maior média: $34,4 \pm 3\%$.
Apenas os méis de *Apis mellifera* se enquadram no limite regulamentado de 20% para méis comerciais.
- 🐝 Espécies da subtribo trigonina, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona* sp, apresentaram os maiores valores de Br, dos elementos alcalinos, K, Ca, Na e Rb, condutividade e cinzas. Méis da subtribo trigonina ficariam acima do limite de 0,6% de teor de cinzas regulamentado em méis, enquadrando-se como melato ou méis de origem extrafloral.
- 🐝 Alta razão K/Na dos méis de *Melipona capixaba* coletados em São Francisco Xavier: $121 + 38$. Méis de espécies coletadas na mesma região apresentaram uma razão K/Na seis vezes menor que os méis de *Melipona capixaba*.
- 🐝 A análise fatorial separou as variáveis em estudo em 3 fatores: condutividade, cinzas, Cs, K, Rb e Zn que podem estar ligados a fatores inerentes ao néctar, Co, Fe, La, Na e Sc, que podem estar ligados a fatores exógenos e umidade e pH, ligados a fisiologia das abelhas para controle microbiano.
- 🐝 Pela MANOVA, os méis de *Tetragonisca angustula* (jataí) e *Scaptotrigona* sp (canudo, tubuna) apresentaram as maiores defierenças entre os méis de abelhas sem ferrão. O mel de *Apis mellifera* e *Melipona compressipes* apresentaram semelhanças entre si e os méis das outras espécies de abelhas sem ferrão também apresentaram semelhanças.

- 🐝 Abelhas da subtribo meliponini, que levam solo para dentro da colméia para produção de geoprópolis, não apresentaram diferenças significativas na concentração de Sc e Fe nos méis, elementos traçadores geológicos.
- 🐝 Pela MANOVA, não houve diferenças significativas entre os méis de São Francisco Xavier-SP e Macaíba-RN, enquanto Vidal Ramos-SC e Salvador-BA foram significativamente diferentes ($p = 0,05$).
- 🐝 Zn e Na foram os elementos químicos de maior peso para discriminação dos méis da Bahia, Sc em Santa Catarina, Br (baixa concentração) nos méis de São Paulo e Cs nos méis do Rio Grande do Norte.
- 🐝 Pólen meliponícola apresentou uma altíssima razão K/Na de 120:1, sendo um elegível produto indicado à dietas com balanço eletrolítico definido.
- 🐝 Pólen apresenta uma das mais altas concentrações de P, Ca e Se entre matrizes biológicas.
- 🐝 A ANOVA indicou diferenças significativas ($p = 0,05$) nas concentrações de Co e Cs em Pouso Alegre-MG, K em Macaíba-RN, Rb em São Francisco Xavier-SP, Fe e Se em Salvador-BA e Sc em Vidal Ramos-SC.
- 🐝 A MANOVA não indicou diferenças significativas entre os polens de São Francisco Xavier-SP e Pouso Alegre-MG. Ambas regiões distam cerca de 70 km. Salvador-BA, Vidal Ramos-SC e Macaíba-RN se apresentaram significativamente diferentes ($p = 0,05$).
- 🐝 Houve correlações significativas entre Fe no pólen e Co ($r = 0,35$, $p = 0,03$) e Na ($r = 0,41$, $p = 0,01$) presentes nos méis. Na no pólen se correlacionou com Fe ($r = 0,41$, $p = 0,01$) e Na ($r = 0,36$, $p = 0,03$). Estes elementos químicos possivelmente estão relacionados ao material particulado atmosférico.

- ✎ Pólen e méis coletados de colmeias de abelhas da subtribo trigonina apresentaram as maiores concentrações de Na.
- ✎ No tecido das abelhas da subtribo trigonina e *Apis mellifera*, foram observadas as maiores concentrações de Br e Na.
- ✎ Altas concentrações de Br nas abelhas podem estar relacionadas com a síntese feromonal das abelhas. O 2-bromo-heptano é considerado precursor na formação do feromônio de defesa da colméia, a 2-heptanona.
- ✎ Assim como nos resultados de Pólen, as abelhas de São Francisco Xavier e Pouso Alegre apresentaram as maiores concentrações de Cs e Rb. Também seguindo a tendência das concentrações de Se do pólen, as abelhas coletadas em Salvador apresentou as maiores concentrações deste elemento químico.
- ✎ Abelhas de São Francisco Xavier e Macaíba, áreas de baixa atividade antrópica, apresentaram concentrações de arsênio, abaixo do limite de detecção, enquanto que a presença de arsênio nas abelhas coletadas em Pouso Alegre, Salvador e Vidal Ramos refletem o contato das abelhas com poluentes.
- ✎ Br, Co e Na nas abelhas foram os elementos químicos que apresentaram as correlações mais significativas com as variáveis observadas no Mel. As abelhas com maiores concentrações de Br e Na apresentaram os méis com menor valor de pH e umidade e
- ✎ Dentre os elementos químicos dos méis, pode-se concluir que as espécies de abelhas sem ferrão podem influenciar nas concentrações dos macroelementos, enquanto a constituição dos traços são regidos por fatores ambientais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C.M.L.; MARTINS, C.F. Abundância relativa, diversidade e fenologia de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) na caatinga, São João do Cariri, Paraíba, Brasil. **Iheringia, Zoologia**, v. 83, p. 151-163, 1997.

ALAEJOS, M.; ROMERO, F.; ROMERO, C. Selenium and cancer: Some nutritional aspects. **Nutrition**, v. 16, n. 5, p. 376-383, 2000.

ALEXANDER, B. A. An exploratory analysis of cladistic relationships within the superfamily Apoidea, with special reference to sphecid wasps (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 1, p. 25–61, 1992.

ALMEIDA, D. **Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado do município de Pirassununga, Estado de São Paulo**. Piracicaba, 2002. 103p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ALMEIDA, M.V.; RISSATO, S. R. ; GALHIANE, M. S. ; GERENUTTI, M.; APON, B.M. Multiresidue determination of pesticides in honey samples by gas chromatography-mass spectrometry and application in environmental contamination. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1719-1726, 2006.

ALMEIDA-SILVA, M.; CANHA, N.; GALINHA, C.; DUNG, H.M.; FREITAS, M.C.; SITEO, T. Trace elements in wild and orchard honeys. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 69, n. 11, p. 1592-1595, 2011.

ALVES-DOS-SANTOS, I. Trap-nesting bees and wasps on the University campus in Sao Paulo, southeastern Brazil (Hymenoptera : aculeata). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 76, n. 2, p. 328-334, 2003.

and the honeybee. Hamilton: Dadant & Sons. p.927-988, 1993.

ARAÚJO, A.L.L. **Complexidade da acumulação de elementos químicos por árvores nativas da mata atlântica**. 2009. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada). Centro de Energia Nuclear na Agricultura e Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

ASSMANN-WERTHMÜLLER, U.; WERTHMÜLLER, K.; MOLZAHN, D. Cesium contamination of heather honey. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. v. 149, p. 123–129, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 16th ed. Arlington: A.O.A.C, (method 980.23), chapter 44. p. 26, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 16th ed. Arlington: A.O.A.C, (method 900.02), chapter 44. p. 3, 1996.

BACCHI, M.A.; DE NADAI FERNANDES, E.A. Quantu – design and development of a software package dedicated to k0-standardized NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 3, p. 577-582, 2003.

BACCHI, M.A.; DE NADAI FERNANDES, E.A.; OLIVEIRA, H. Brazilian experience on k0-standardized neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 245, n. 1, p. 217-222, 2000.

BALME, D. M. **Aristotle - Historia Animalium**. Cambridge: Cambridge University Press, v. 1, Books I-X, 2011.

BANDEIRA, M.L.S.F.; FERREIRA, S.L.F.; CASTRO, M.S.; RIBEIRO, A.L.; LIMA, A.A. **Caracterização de méis de abelhas eusociais da Bahia**. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: < <http://sec.sbq.org.br/eventos/32rasbq/resumos/T0911-1.pdf>>. Acesso em 2 out. 2013.

BARBATTINI, R.; FRILLI, F.; IOB, M.; GIOVANI, C.; PADOVANI, R. Transfer of cesium and potassium by the “apiarian chain” in some areas of Friuli NE Italy. **Apicoltura**, v. 7, p. 85–87, 1991.

BARIŠIĆ, D.; BROMENSHENK, J.J.; KEZI, N.; VERTACNIK A. The role of honey bees in environmental monitoring in Croatia, in: DEVILLERS J., PHAM-DELEGUE M.H. (eds.) **Honey bees: Estimating the environmental impact of chemicals**, London: Taylor & Francis, p. 160–185, 2002.

BARISIC, D.; VERTACNIK, A.; BROMENSHENK, J.J.; KEZIC, N.; LULIC, S.; HUS, M.; KRALJEVIC, P.; SIMPRAGA, M.; SELETKOVIC, Z. Radionuclides and selected elements in soil and honey from Gorski Kotar, Croatia. **Apidologie**, v. 30, p. 277–287, 1999.

BARTHLOTT, W., MUTKE, J., RAFIQPOOR, M.D., KIER, G.; KREFT, H. Global centres of vascular plant diversity. **Nova Acta Leopoldina**, Leipzig, v. 92, p. 61-83, 2005.

BODE, P.; FERNANDES, E.A.N.; GREENBERG, R.R. Metrology for chemical measurements and the position of INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 245, n. 1, p. 109-114, 2000.

BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. **Bee World**, v.80, p.61-69. 1999.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLMANN, C. Harmonized methods of the European honey commission. **Apidologie**, p. 1-59, 1997.

BROMENSHENK, J.J.; CARLSON, S.R.; SIMPSON, J.C.; THOMAS, J.M. Pollution monitoring of Puget Sound with honey bees. **Science**, v. 227, p. 800–801, 1985.

BROMENSHENK, J.J.; CRONN, R.C.; NUGENT, J.J.; OLBUR, G.J. Biomonitoring for the Idaho National Engineering Laboratory: Evaluation of fluoride in honey bees. **American Bee Journal**, v. 128, p. 799–800, 1988.

BROTHERS, D. J. Phylogeny and classification of the aculeate Hymenoptera, with special reference to the Mutillidae. **University of Kansas Science Bulletin**, v. 50, p. 483–648, 1975.

BRUENING, H. **Abelha Jandaíra**. Natal: SEBRAE/RN, 138p, 2006.

BUNZL, K.; FÖRSTER, H.; KRACKE, W.; SCHIMMACK, W. Residence times of fallout ^{239}Pu , ^{240}Pu , ^{241}Am and ^{137}Cs in the upper horizons of an undisturbed grassland soil. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 22, p. 11–27, 1994.

BUNZL, K.; KRACKE, W.; VORWOHL, G. Transfer of Chernobyl-derived ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{131}I and ^{103}Ru from flowers to honey and pollen. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 6, p. 261–269, 1988.

BUREAU INTERNATIONAL DES POIDS ET MESURES – BIPM. Consultative committee for amount of substance: metrology in chemistry – CCQM. In: **Meeting of the Committee for weights and measures**. Sévres, v. 13. p 7-9, 2007.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S.R.M. Systematics, phylogeny and biogeography of the Meliponinae (Hymenoptera, Apidae): a mini-review. **Apidologie**, v. 23; p. 509-522, 1992.

CAMINA, J.M.; CANTARELLI, M.A.; LOZANO, V.A.; BOERIS, M.S.; IRIMIA, M.E.; GIL, R.A.; MARCHEVSKY, E.J.L. Chemometric tools for the characterisation of honey produced in la Pampa, Argentina, from their elemental content, using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). **Journal of Apicultural Research**, v. 47, n. 2, 102–107, 2008.

CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIGERIO, C.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research**, v. 47, p. 154-161, 2008.

CAROLI, S.; FORTE, G.; ALESSANDRELLI, M.; CRESTI, R.; SPAGNOLI, M.; D'ILIO, S. ; PAUWELS, J.; KRAMER, G.N. A pilot study for the production of a certified reference material for trace elements in honey. **Microchemical Journal**, v. 67, n. 1-3, p. 227-233, 2000.

CARPES S.T.; PRADO, A.; MORENO, I.A.M; MOURÃO, G.B; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**. v. 3, p. 1660-1664, 2008.

CARRERO, P.; RONDÓN, C.; SAAVEDRA, A.R.; VIT, P. A study of Hg and Pb content in pot-honey (Apidae: Meliponini). In VIT, P.; ROUBIK, D.W. (eds.) **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Mérida, Venezuela: Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; p. 1-5, 2012.

CARVALHO, C..A.L.; SOUZA B.A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R.M.O. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA. Série Meliponicultura – 4. 32p. 2005.

CHADWICK, J. **The Decipherment of Linear B**. Cambridge: Cambridge University Press, 1958.

CHUDZINSKA, M.; BARALKIEWICZ, D. Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 11, p. 2741–2749, 2011.

CODEX ALIMENTARIUS - CODEX STAN 12-1981. **Standard for Honey**, Codex Commission for Sugars, 1981.

COKESA, D.J.M.; MARKOVIC, M.M.; SOLEvSA, M.I.; ADZIC, P.R.; SKORO, G.P.; MILONJIC, S.K.; KUKOC, A.H. Determination of K-40 and Cs-137 concentration in selected honey samples. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry-Letters**, v. 199, n. 6, p. 465-469, 1995.

CONTI, M.E.; BOTRÈ, F. Honey bees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. **Environmental Monitoring & Assessment**, v. 69, p. 267-282, 2001.

CORONEL, B.B.; GRASSO, S.C.; PEREIRA, G.; FERNÁNDEZ, A. Caracterización bromatológica del pólen apícola Argentino. **Ciencia, Docencia y Tecnología**. 15, 141–181, 2005.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Méliponinés* du Brésil. **Apidologie**, v.22, p.61-73. 1991.

COSTANTINI, F.; RICCIARDELLI D'ALBORE, G. **Pollen as an additive to the chicken diet**. 23rd International Apicultural Congress, Apimondia, p.539-542, 1971.

CRANE, E. Bees, honey and pollen as indicators of metals in the environment. **Bee World**, 65 v. 1, p. 47-49, 1984.

CRANE, EVA. **The World History of Beekeeping and Honey Hunting**. New York: Routledge, 1999.

DE CORTE, F; SIMONITS, A; DE WISPELAERE, A; HOSTE, J. Accuracy and applicability of the k_0 -standardization method. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 113, p. 145–161, 1987.

DEVILLERS J. The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. In: DEVILLERS J.; PHAM-DELEGUE, M.H. (eds.) **Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, p. 1-10, 2002.

DI PIERO, A.; BACCHI, M.; FERNANDES, E. INAA with gamma-gamma coincidence for selenium determination in food. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 278, n. 3, p. 761-765, 2008.

DOREA, J. Calcium and phosphorus in human milk. **Nutrition Research**, v. 19, n. 5, p. 709-739, 1999.

ENCICLOPEDIA OF LIFE. Disponível em: <www.eol.org>. Acesso em 2 out. 2013.

ENGELS W. The first record on Brazilian stingless bees published 450 years ago by Hans Staden. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 738-743, 2009.

FANG, G.C.; HUANG, W.J.; CHEN, J.C.; HUANG, J.H.; HUANG, Y.L. Study of Ambient Air Particle-Bound As(p) and Hg(p) in Dry Deposition, Total Suspended Particulates (TSP) and Seasonal Variations in Central Taiwan. **Environmental Forensics**, v. 12, n. 1, p. 7-13, 2011.

FAOSTAT. Disponível em <www.faostat.fao.org> Acesso em 3 out. 2013.

FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A. Nuclear and conventional methods for soil determination in sugar cane industry. **Biological Trace Element Research**, v. 43, p. 643-648, 1994.

FERNANDEZ-TORRES, R ; PEREZ-BERNAL, J.L.; BELLO-LOPEZ, M.A.; CALLEJON-MOCHON, M.; JIMENEZ-SANCHEZ, J.C.; GUIRAUM-PEREZ, A. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. **Talanta**, v. 65, n. 3, p. 686-691, 2005.

FIDALGO, J. **Produto das abelhas nativas do Brasil não pode ser chamado de mel**. **Jornal Folha do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/comida/ult10005u605929.shtml>>. Acesso em 30 set. 2013.

FINANCIAL TRANSACTIONS AND REPORTS ANALYSSIS CENTRE OF CANADA-FINTRAC. **The World Market for Honey.** 2011. Disponível em <http://www.fintrac.com/cpanelx_pu/Ethiopia%20CIAFS/12_06_4949_CIAFS%20_1%20Honey%20Final%20Oct%2011.pdf> . Acesso em 3 out. 2013.

FODOR, P.;MOLNAR, E. "Honey as an environmental indicator - effect of sample preparation on trace-element determination by ICP-AES", **Mikrochimica acta**, v. 112, p. 113-118, 1993.

FOLKES, D.; KUEHSTER, T.; LITLE, R. Contributions of pesticide use to urban background concentrations of arsenic in Denver, Colorado, USA. **Environmental Forensics**, v. 2, n. 2, p. 127-139, 2001.

FORTE, G.; D'ILIO, S.; CAROLI, S. Honey as a candidate reference material for trace elements. **Journal of Aoac International**, v. 84, n. 6, p. 1972-1975, 2001.

FRANÇA, E.J.; DE NADAI FERNANDES, E.A.; BACCHI, M.A. Ni-Cr alloy as neutron flux monitor: composition and homogeneity assessment by NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 1, p. 113-115, 2003.

FREE, J.B. ; WILLIAMS, I.H.; PINSENT, R.J.F.H.; TOWNSHEND, A. ;BASI, M.S. ;GRAHAM, C.L. Using foraging honeybees to sample an area for trace-metals. **Environment International**, v. 9, n. 1, p. 9-12, 1983.

FREITAS, B.M. **Meliponíneos**. Disponível em: <<http://www.abelhas.ufc.br/documentos/meliponineos.pdf>> Acesso em: 3 out. 2013.

FREITAS, M.; PACHECO, A.; FERREIRA, E. Nutrients and other elements in honey from Azores and mainland Portugal. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 270, n. 1, p. 123-130, 2006.

FRESQUEZ, P.R.; ARMSTRONG, D.R.; PRATT, L.H. Radionuclides in bees and honey within and around Los Alamos National Laboratory. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 32, p. 1309–1323, 1997.

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

FRIAS, I; RUBIO, C; GONZALEZ-IGLESIAS, T; GUTIERREZ, A.J; GONZALEZ-WELLER, D.; HARDISSON, A. "Metals in Fresh Honeys From Tenerife Island, Spain". **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 1, p. 30-33, 2008.

FUNARI, S.R.C. et al. Composições bromatológica e mineral do pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.11, n.2, p.88-93, 2003.

GOLOB, T.; DOBERSEK, U.; KUMP, P.; NECEMER, M.. Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 593–600, 2005.

GOULD, J.L.; TOWNE, W.F. Evolution of the dance language. **American Naturalist**. v. 130, p. 317-338, 1987.

GOULSON, D. Effects of introduced bees on native ecosystems. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, v. 34, n. 1, p.1-26, 2003.

GREMBECKA, M.; SZEFER, P. Evaluation of honeys and bee products quality based on their mineral composition using multivariate techniques. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 5, p. 4033-4047, 2013.

GUINN, V.P. Nuclear Activation Analysis 45 Years After George Hevesy's Discovery. **Journal of Radioanalytical Chemistry**, v. 59. p. 309-314, 1980.

HAARMANN, J. Honey bees as indicator of radionuclide contamination: a truly useful biomonitor? In: DEVILLERS, J.; PHAM-DELÈGUE, MH (eds.). **Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, p. 132-148, 2002.

HABIB, F.K.; ROSS, M.; LEWENSTEIN, A.; ZHANG, X.; JATON, J.C. Identification of a prostate inhibitory substance in a pollen extract. **Prostate**, v. 26, n. 3, p. 133-139, 1995.

HAKONSON, T.E.; BOSTICK, K.V. The use of honeybee colonies as bioindicators of cesium-137, tritium, and plutonium in the Los-Alamos environs. **Health Physics**, v. 27, p. 632, 1974.

HIGAKI, S.; HIROTA, M. The reductive effect of an anti-pollinosis mask against internal exposure from radioactive materials dispersed from the Fukushima daiichi nuclear disaster, **Health Physics**, v. 104, n. 2, p. 227-231, 2013.

HOLANDA, S.B. **Caminhos e fronteiras**. Rio de Janeiro: Editora José Olympio, 334p, 1957.

IHNAT, M.; EDIDIN, M.; SZOLLOSI, J.; TRON, J; IHNAT,I. Occurrence **and Distribution of Selenium**, Boca Raton: CRC Press, p.3, 1989.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. The development of meliponiculture in Brazil. **International Apiculture Congress**, p. 66-67, 1989.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. **Genebra: ISO, 2005 (ISO 13528)**.

ISKANDER, F. Assessment of trace elements in honey produced on uranium mining reclaimed land. **Science of the Total Environment**, v. 192, n. 1, p. 119-122, 1996.

JAMES, R.R.; PITTS-SINGER. T.L. **Bee Pollination in Agricultural Ecosystems**. Oxford University Press., 2008.

JONES, K. honey as an indicator of heavy-metal contamination. **Water Air and Soil Pollution**, v. 33, n. 1-2, p. 179-189, 1987.

KALBANDE, D.M.; DHADSE, S.N.; CHAUDHARI, P.R.; WATE, S.R. Biomonitoring of heavy metals by pollen in urban environment. **Environmental Monitoring and Assessment**. V. 138, p. 233-238, 2008.

KERR, W. E.; AMARAL, E. Fatores para o aumento da produção de mel no Estado de S. Paulo. **O Solo**, v. 49, n. 1, p. 61-69, 1957.

KERR, W.E. Formação das castas no gênero *Melípona* (Illiger, 1806). **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, v. 3, p.288-312, 1946.

KERR, W.E.; CARVALHO, G. A; NASCIMENTO, V.A.; BEGO, L.R. **Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: Fundação Aguangaú, 144p, 1996.

KERR, W.E.; CARVALHO, G.A. ; SILVA, A.C.; ASSIS, M.G.P. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, n. 12, p. 20-41, 2001.

KISS, J. O Sertão vai virar mel. **Revista Globo Rural**. Ano 21. n. 245; p. 32-36, 2006.

KRUG, F.J. **Métodos de Preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Ed. Francisco José Krug, 1 ed., 2008.

LAG, J.; STEINNES, E. Regional distribution of halogens in Norwegian forest soils. **Geoderma**, v. 16, p. 317-325, 1976.

LAG, J.; STEINNES, E. Soil selenium in relation to precipitation. **Ambio**, v. 3, n. 237, p. 8, 1974.

LAVIE, P. Propriete's antibacteriennes et action physiologique des produits de la ruche et des abeilles. **Chauvin**, v. 3., p.1-115, 1968.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**, São Paulo: Editora Sarvier, 4. Ed, 2007.

LEME, A.B.P.L. **Análise quimiométrica de méis brasileiros**. 2012. 99p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

LU, Y.; JIN, B.; WANG, L.; WANG, Y.; WANG, D.; JIANG, X.X.; CHEN, P. Adaptation of male reproductive structures to wind pollination in gymnosperms: Cones and pollen grains. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, n. 5, p. 897-906, 2011.

MALONE, J; PHAM-DELÈGUE, MH. Using proteins to assess the potential impacts of genetically modified plants on honey bees. In: DEVILLERS, J; PHAM-DELÈGUE, M.H. (eds) **Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, p. 290-311, 2002.

MAPA. **Regulamento técnico para fixação de qualidade e identidade do pólen apícola**. Instrução Normativa no 3, de 19 de janeiro de 2001. Publicado no DOU de 23/01/01, Seção 1, p. 18-23, 2001.

MARTINS, M.C.T. **Polen apicola brasileiro: valor nutritivo e funcional, qualidade e contaminantes inorgânicos**. 2010. 235p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade de Campinas, Campinas, 2010.

MAYER, D.G.; LUNDEN, I.D.; WEINSTEIN, L.H. Evaluation of fluoride levels and effects on honey bees (*Apis mellifera* L.). **Fluoride**, v. 21, p. 113–120, 1988.

MCKENZIE, E. Growing up with aborigines. **Queensland Naturalist**, v. 21, p. 46-51, 1975.

MENDES, T.M.F.F. **Determinação de espécies metálicas em mel de abelhas por ICP-OES**. 2004. 90p. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade de Campinas, Campinas, 2004.

MENDES, T.M.F.F.; BACCAN, S.N.; CADORE, S. Sample treatment procedures for the determination of mineral constituents in honey by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, n.1, p. 168-176, 2006.

MERCADO COMUM DO SUL - MERCOSUL/GMC/RES. nº 012/2011. **Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/Resolu%C3%A7%C3%A3o%2042%2-%20ANVISA.pdf>. Acesso em: 2 de outubro de 2013.

MICHENER, C. D. Biogeography of the bees. **Annals of the Missouri Botanical Gardens**. V. 66, p 277–347, 1979.

MICHENER, C.D. Family-groups names among bees. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 59, n. 2, p. 219-234, 1986.

MICHENER, C.D. **The bees of the world**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 953p, 2007.

MILET-PINHEIRO, P.; AYASSE, M.; SCHLINDWEIN, C.; DOBSON, H.E.M.; DOTTERL, S. Host location by visual and olfactory floral cues in an oligolectic bee: innate and learned behavior. **Behavioral Ecology**, v. 23, n. 3, p. 531-538, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Instrução normativa número 11, de 20 de outubro de 2000**. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: <extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7797>. Acesso em 2 out. 2013.

MOURE, J.S. Contribuição para o conhecimento dos Meliponinae (Hym., Apoidea). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 17, n. 3, p. 437-443, 1946.

MOURE, J.S. Notas sobre Meliponinae (Hymenopt. – Apoidea). **Dusenía**, v. 2, p. 25-70, 1951.

MOURE, J.S.; KERR, W.E. Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (Hymenoptera, Apoidea). **Dusenía**, v.1, n. 2, p. 125-129, 1950.

MOURE, J.S.; MICHENER C.D. A contribution toward the classification of Neotropical Eucerini (Hymenoptera, Apoidea). **Dusenía**, v. 6, n. 6, p. 239-331, 1955.

MUJIC, I.; ALIBABIC, V.; JOKIC, S.; GALIJASEVIC, E.; JUKIC, D.; SEKULJA, D.; BAJRAMOVIC, M. Determination of Pesticides, Heavy Metals, Radioactive Substances, and Antibiotic Residues in Honey. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 3, p. 719-724, 2011.

MUSGRAVE, A.J.; SALKELD, E.H. A Bibliography of Honey Bee Toxicology. **The Canadian Entomologist**, v. 82, n. 8, p. 177-179, 1950.

NATURAL HISTORY MUSEUM. Disponível em <www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/bombus/pic_apini.html>. Acesso em 2 out. 2013.

NOGUEIRA-NETO, P. Notas Bionômicas sobre Meliponíneos I Sobre a Ventilação dos Ninhos e as Construções com ela Relacionadas. **Revista Brasileira de. Biologia**, v. 8, n. 4, p. 465-488, 1948.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas sem ferrão**. São Paulo: Edição Nogueirapis, 446p, 1997.

NORDENSKIÖLD, E. **Analyse ethno-géographique de la culture materielle de deux tribus indiennes du Gran Chaco**. Paris: Les Editions Genet, 310p. 1929.

OKUYAMA, Y.; MATSUMOTO, K.; OKOCHI, H.; IGAWA, M. Adsorption of air pollutants on the grain surface of Japanese cedar pollen. **Atmospheric Environment**, v. 41, n. 2, p. 253-260, 2007.

OLIVEIRA, F.; KERR, W. E. **Divisão de uma colônia de jupará (*Melipona compressipes manausensis*) usando-se uma colméia e o método de Fernando Oliveira**. Manaus: INPA / MCT, 10p., 2000.

PACKER, A.P.; GINE, M.F. "Analysis of undigested honey samples by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization (ID-ICP-MS)", **Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 1, p. 69-75, 2001.

PAINI, D.R. Impact of the introduced honey bee (*Apis mellifera*) (Hymenoptera : Apidae) on native bees: A review. **Austral Ecology**, v. 29, n. 4, p. 399-407, 2004.

PAMPLONA, B. C. **Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas**. 1989. 131p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

PAPACHRISTOFOROU, A; KAGIAVA, A.; PAPAETHIMIOU, C.; TERMENTZI, A. ; FOKIALAKIS, N.; SKALTSOUNIS, A.L. ; WATKINS, M.; ARNOLD, G.; THEOPHILIDIS, G. The Bite of the Honeybee: 2-Heptanone Secreted from Honeybee Mandibles during a Bite Acts as a Local Anaesthetic in Insects and Mammals. **Plos One**, v. 7, n. 10, OCT 16 2012.

PELLERANO, R.G.; UNATES, M.A.; CANTARELLI, M.A.;CAMINA, J.M.;MARCHEVSKY, E.J.I. Analysis of trace elements in multifloral Argentine honeys and their classification according to provenance. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 578-582, 2012.

PEREIRA, L.L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e Meliponíneos**. 2010. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciências. Área de concentração: Entomologia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

POHL, P. Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 117, 2009.

POHL, P.; SERGIEL, I.; STECKA, H. Determination and Fractionation of Metals in Honey. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 39, n. 4, p. 276-288, 2009.

POINAR, G. O.; DANFORTH, B. N. A Fossil Bee from Early Cretaceous Burmese Amber. **Science**, v. 314, n. 5799, p. 614-614, 2006.

POPOVIC, D.; TODOROVIC, D.; FRONTASYEVA, M.; AJTIC, J.; TASIC, M.; RAJSIC, S. Radionuclides and heavy metals in Borovac, Southern Serbia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 15, n. 6, p. 509-520, 2008.

PORRINI C., GHINI S., GIROTTI S., SABATINI A.G., GATTAVECCHIA E., CELLI G. Use of honeybees as bioindicators of environmental pollution in Italy, in: DEVILLERS J., PHAM-DELEGUE M.H.(eds.) **Honey bees: Estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, p. 186-247, 2002.

PORTUGAL-ARAÚJO, V. Colméias para abelhas sem ferrão – Meliponini. Boletim **do Instituto de Investigação Científica de Angola**. v. 9, n. 7, p. 9-31, de. 1955.

PRITCHETT, W.K.; PIPPIN, A. "The Attic Stelai, Part II", **Hesperia**, v. .25, n.3, p.178-328, 1956.

RAMALHO, M.; SILVA, M.D.; CARVALHO, C.A.L.. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 38-45, 2007.

REBELO, K.S.; ARAÚJO, L.M.; COSTA, K.B.; CARVALHO-ZILSE, G.A. **Perfil químico, físico-químico e valor nutricional de méis de abelhas sem ferrão (hymenoptera, apidae) da**

Amazônia. Anais da 61^a Reunião anual da SBPC. Disponível em <www.sbpnet.org.br/livro/61ra/resumos/resumos/6073.htm>. Acesso em 2 out. 2013.

REVEL, G.; AYRAULT, S. Comparative use of INAA and ICP-MS methods for environmental studies, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 244, p. 73–80, 2000.

ROUBIK, D.W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: Cambridge University Press. 514p., 1989.

RUOFF, K.; LUGINBUHL, W.; KUNZLI, R.; IGLESIAS, M.T.; BOGDANOV, S.; BOSSET, J.O.; von der OHE, K.; von der OHE, W.; AMADO, R. Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 18, p. 6873-6880, 2006.

RUSCHIONI, S.; RIOLO, P.; MINUZ, R.L.; STEFANO, M.; CANNELLA, M.; PORRINI, C. ; ISIDORO, N. Biomonitoring with Honeybees of Heavy Metals and Pesticides in Nature Reserves of the Marche Region (Italy). **Biological Trace Element Research**, v. 154, n. 2, p. 226-233, 2013.

RUTTNER, F. Apis mellifera Adami (nssp), Die Kretische Biene, **Apidologie**, v. 11, p. 385-400, 1980.

SANTOS, C. F.O. Morfologia dos nectários e concentração dos néctares de algumas plantas apícolas. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba , v. 12-13, p. 130-147, 1956.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT Guide for personal computers**. 6.ed. Cary: SAS Institute, 1996. 1028p.

SCHIMIDT, J.O; BUCHMANN S.I. Other products of the hive. In: GRAHAN, J.M. (ed.) **The hive and the honeybee**. Hamilton: Dadant & Sons. p.927-988, 1993.

SCHLINDWEIN, C. **Are oligolectic bees always the most effective pollinators?** In: FREITAS, B.M.; PEREIRA, J.O.P. (eds.). Solitary bees. Conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Imprensa Universitária. p. 231-240, 2004.

SCHLINDWEIN, C.; MARTINS, C. Competition between the oligolectic bee *Ptilothrix plumata* (Anthophoridae) and the flower closing beetle *Pristimerus calcaratus* (Curculionidae) for floral resources of *Pavonia cancellata* (Malvaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 224, n. 3-4, p. 183-194, 2000.

SCHULTZ, T.R.; ENGEL, M.S., ASCHER, J.S. Evidence for the origin of eusociality in the corbiculate bees (Hymenoptera: Apidae), **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 74, p.10-16, 2001.

SCHWARZ, H.F. The genus *Melipona* the type genus of the Meliponidae or stingless bees. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 63, n. 4, p. 231-460, 1932.

SEVIMLI, H.; BAYULGEN, N.; VARINLIOGLU, A. Determination of trace-elements in honey by inaa in Turkey. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry-Letters**, v. 165, n. 5, p. 319-325, 1992.

SILVA, W.P.; PAZ, J.R. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p.146-152, 2012.

SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte: Editora Composição e Arte, 253p, 2002.

SOMERVILLE, D.C., NICOL, H.I.. Mineral content of honeybee-collected pollen from southern New South Wales. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 42, 1131-1136, 2002.

SOUZA, B. A. **Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) do Estado da Bahia, com ênfase em *Melipona Illiger*, 1806**. 2008. 107p. Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

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

SOUZA, P.V. **Dicionário de apicultura – O ABC do apicultor**. Rio de Janeiro: Luclart Editora, 2000.

STATSOFT, INC. **Statística for Windows: computer program manual**. Tulsa, 1996. CD-ROM

SVOBODA, J. Teneur en strontium 90 dans les abeilles et dans leurs produits. **Bulletin Technique Apicole**, v. 5, p. 101–103, 1962.

SVOBODA, J.; PETERKA. Ferric hydrate as a treatment for arsenic poisoning in bees. **Bee World**, v. 19, p. 255, 1938.

TAUTZ, J. **O Fenômeno das abelhas**. Porto Alegre: Ed. Artmed, 288 p., 2010.

TERZIC, L.; TERZIC, V.; KRUNIC, M.; BRAJKOVIC, M. Honey bee poisoning caused by arsenic from copper smelter smoke. **Acta Veterinaria-Beograd**, v. 34, n. 1, p. 57-62, 1984.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **CCD Progress Report**. 2012. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/is/br/ccd/ccdprogressreport2012.pdf>>. Acesso em 30 set 2013.

URBAN, D.; MOURE, J.S. *Ceblurgus longipalpis* gen e sp. n. Primeiro representante de Dufoureae do Brasil (Hymenoptera, Halictidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 65, n. 1, p. 101-106, 1993.

VENTURINI, K.S.; SARCINELLI, M.F.; SILVA, L.C. **Características do mel**. Boletim Técnico – PIE-UFES: 01107. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo. p 1-8, 2007.

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

VILLAS-BOAS, J.K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Mensagem Doce**, n. 82, p. 6-16, 2005.

VIT, P.; PERSONA-ODDO, L.; MARANO, M. L.; MEJIAS, E. S. Venezuelan stingless bee honey characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. **Apidologie**, v. 29, p.377-389.1998.

WALLWORK-BARBER, M.K.; FERENBAUGH, R.W.; GLADNEY, E.S. The use of honey bees as monitors of environmental pollution. **American Bee Journal**, v. 122, p.770–772, 1982.

WESTON, R. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 235-239, 2000.

WHITE JR, J.W. **Honey Composition and Properties**. Beekeeping in the United States. Agricultural Handbook, n. 335. US Government Printing Office. p. 56–61. 1980. Disponível em <www.beesource.com/resources/usda/honey-composition-and-properties/>. Acesso em 3 out. 2013.

WORLD HEALTH ORGANISATION - WHO. **Evaluation of certain foods additives and contaminants**. Forty-first report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Foods Additives (JECFA). Geneva: WHO Technical Report Series, 1993.

YAMAMOTO D.Y.; AKATSU, I.P.; SOARES, A.E.E. Quantificação da produção do mel de *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae, Apinae) do município de Luiz Antônio, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal, Uberlândia**, v. 23, p. 89-93, 2007.

YANG, Q.H. ; LIU, T.B.; KUKLINA, E.V.; FLANDERS, W.D. ; HONG, Y.L.; GILLESPIE, C.; CHANG, M.H.; GWINN, M.; DOWLING, N.; KHOURY, M.J.; HU, F.B. Sodium and Potassium Intake and Mortality Among US Adults Prospective Data From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Archives of Internal Medicine**, v. 171, n. 13, p. 1183-1191, 2011.

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