



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

VIVIANE LOPES LEITE DA COSTA

**ADIÇÃO DE EXTRATO DA PRÓPOLIS SOBRE AS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS,  
SENSORIAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
MEL DE ABELHA-SEM-FERRÃO *Scaptotrigona*  
*Bipunctata***

---

Londrina  
2024

VIVIANE LOPES LEITE DA COSTA

**ADIÇÃO DE EXTRATO DA PRÓPOLIS SOBRE AS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS,  
SENSORIAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
MEL DE ABELHA-SEM-FERRÃO *Scaptotrigona  
bipunctata***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, comorequisito parcial ao Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Wilma Aparecida Spinosa.

Londrina  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C837a Costa, Viviane Lopes Leite da.  
Adição de extrato da própolis sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e compostos bioativos em mel de abelha-sem-ferrão : Scaptotrigona bipunctata / Viviane Lopes Leite da Costa. - Londrina, 2024. 99 f. : il.

Orientador: Wilma Aparecida Spinosa.  
Coorientador: André Luiz Buzzo Mori.  
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2024.  
Inclui bibliografia.

1. Abelha-sem-ferrão - Tese. 2. Meliponicultura - Tese. 3. Alimento funcional - Tese. 4. Extrato de própolis - Tese. I. Spinosa, Wilma Aparecida . II. Mori, André Luiz Buzzo . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 63

VIVIANE LOPES LEITE DA COSTA

**ADIÇÃO DE EXTRATO DA PRÓPOLIS SOBRE AS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS,  
SENSORIAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
MEL DE ABELHA-SEM-FERRÃO *Scaptotrigona  
bipunctata***

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós- Graduação em Ciência de Alimentos  
da Universidade Estadual de Londrina,  
como requisito parcial ao Título de Mestre  
em Ciência de Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Wilma  
Aparecida Spinosa.

Universidade Estadual de Londrina

---

Prof. Dr. André Luiz Buzzo Mori  
Universidade Estadual de Londrina

---

Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura  
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 29 de Abril de 2024.

Dedico este trabalho a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia e socorro, a todos meus familiares e amigos que estiveram comigo nesta conquista.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, pelo dom da vida e com ela a capacidade para pensar, amar e lutar pela conquista de meus ideais.

À minha família, meu infinito agradecimento, por sempre acreditar em minha capacidade e estar ao meu lado, me fazendo acreditar que posso mais do que imagino.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Wilma Spinosa, por todo o conhecimento transmitido a mim.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) por compartilharem o conhecimento com tanta dedicação.

Ao Sr<sup>a</sup>. Célia Regina Albert Dresh meliponicultora da cidade de José dos Pinhais-PR pela doação do mel.

Aos componentes da minha equipe da Análise Descritiva Quantitativa: Ariana Justus, Natalia Cenedesi, Marcela Guelfi, Marcela Moreira Terhaag, Isabela Dias, Vitor Hugo Tsuru, Bruna Raquel Böger, Mirelli Bianchin, Taina Miranda Destro, Danielle Honorato, Thamires Peixoto, Maria Thereza Fernandes e Flavia Ruzon.

Aos alunos e professores dos outros departamentos da Universidade Estadual de Londrina que disponibilizaram equipamentos, tempo e conhecimento para que esta pesquisa se concretizasse. Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka pelo uso do equipamento Espectrofotômetro de Microplacas (Laboratório de Imunoreagentes e Moleculares). Prof. Dr. Gerson Nakazato e seu aluno Dr. Victor Hugo Clébis pelas análises microbiológicas (Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada).

Finalmente, gostaria de agradecer à Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso”.

John Ruskin.

COSTA, Viviane Lopes Leite. **Adição de extrato da própolis sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e compostos bioativos em mel de abelha-sem-ferrão *Scaptotrigona bipunctata***. 2024. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) — Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

## RESUMO

Nos dias atuais as pessoas estão em busca de alimentos que forneçam um benefício fisiológico adicional e sejam atrativos sensorialmente. Alimentos funcionais, também são conhecidos como terapêuticos ou alimentos medicinais, e estão associados a produtos que trazem um efeito benéfico em uma ou mais funções fisiológicas, como, melhorar o bem-estar e/ou reduzir o risco de desenvolver certas doenças. Os produtos das colmeias como o mel, geleia real, pólen, cerume e própolis contêm propriedades promotoras da saúde, com a presença de compostos bioativos. Estes produtos estão disponíveis no mercado, sendo o mel e a própolis os mais difundidos e comercializados. Com isso, o objetivo deste trabalho foi testar diferentes concentrações da mistura de mel com extrato de própolis (ExP), de abelhas-sem-ferrão, da espécie *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), visando aumentar a funcionalidade do mel e o desenvolvimento da cadeia produtiva dos produtos da meliponicultura. Três concentrações diferentes de ExP foram adicionadas, 0,25, 0,50 e 0,75% m/m. Foram avaliados os parâmetros físico-químicos, atributos sensoriais, atividades antioxidantes e antimicrobianas *in vitro*. As características físico-químicas foram determinadas nas amostras de mel sem e com adição do ExP, avaliou-se os teores de açúcares redutores, sacarose, acidez total titulável, umidade, sólidos solúveis totais, pH, atividade de água, cor, e hidroximetilfurfural. Nas análises de compostos bioativos foram verificadas as alterações do mel sem e com as concentrações de ExP determinando os compostos fenólicos totais, flavonoides, capacidade de eliminação do radical ABTS, poder de redução do íon férrico (FRAP) e sua atividade antimicrobiana *in vitro* contra cinco cepas bacterianas. O teste sensorial consistiu em descrever o perfil sensorial utilizando análise descritiva quantitativa (ADQ) e verificar quais atributos foram bem avaliados. A adição do ExP mostrou que houve um aumento significativo nas atividades antioxidantes, conforme aumentava a concentração de ExP nas amostras de mel. Na atividade antibacteriana apresentou maior inibição contra a cepa *Staphylococcus aureus* na concentração 0,75% de ExP, na qual também foi realizada uma curva de crescimento do microrganismo contra as amostras adicionadas de ExP. O perfil sensorial dos tratamentos foi descrito e os principais atributos foram brilho, transparência, aroma e sabor de própolis, aroma de florada silvestre e adstringente. Dentre diferentes tratamentos analisados neste estudo, o que se apresentou mais eficiente foi com 0,75% de ExP no mel da *Scaptotrigona bipunctata*.

**Palavras-chave:** abelha-sem-ferrão; meliponicultura; alimento funcional; extrato de própolis.

COSTA, Viviane Lopes Leite. **Addition of propolis extract on the physicochemical, sensorial properties and bioactive compounds in *Scaptotrigona bipunctata* stingless bee honey.** 2024. 98 p. Dissertation (Master's in Food Science) – State University of Londrina, Londrina, 2024

## ABSTRACT

Currently, people are seeking foods that offer additional physiological benefits and are sensorially appealing. Functional foods, also known as therapeutic or medicinal foods, are associated with products that have a positive impact on one or more physiological functions, such as enhancing well-being and/or reducing the risk of certain diseases. Beehive products such as honey, royal jelly, pollen, cerumen and propolis contain health-promoting properties, due to the presence of bioactive compounds. These products are available on the market, with honey and propolis being the most widespread and commercialized. Therefore, the aim of this work was to assess various concentrations of a mixture of honey and propolis extract from stingless bees, specifically from the species *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), with the aim of enhancing the functionality of honey and developing the meliponiculture product chain. Three different concentrations of propolis extract (ExP) were added to the honey, 0.25, 0.50 and 0.75%. Physicochemical parameters, sensory attributes, antioxidant and antimicrobial (in vitro) activities were evaluated. Physicochemical characteristics were determined in samples of pure honey and honey with added ExP, assessing levels of reducing sugars, sucrose, total titratable acidity, moisture, total soluble solids, pH, water activity, color, and hydroxymethylfurfural. Analysis of positive compounds, examined changes in pure honey and ExP concentrations, determining total phenolic compounds, flavonoids, ABTS radical scavenging capacity, ferric ion reducing power (FRAP) and in vitro antimicrobial activity against five bacterial strains. The sensory test involved describing the sensory profile using quantitative descriptive analysis (QDA) and identifying well-evaluated attributes.

The addition of ExP resulted in a significant increase in antioxidant activities as the concentration of ExP in the honey samples increased. Regarding antibacterial activity, greater inhibition against the *Staphylococcus aureus* strain was observed at a concentration of 0.75% of ExP, where a growth curve of the microorganism was also conducted in samples with varying ExP concentrations. The sensory profile of the samples was described, with main attributes including brightness, transparency, propolis aroma and flavor, wildflower aroma and astringency. Among the different treatments analyzed, the most efficient one was found to be with 0.75% ExP in *Scaptotrigona bipunctata* honey.

**Key-words:** stingless bee; honey; functional food; propolis extract.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Células de cria de Uruçu-Amarela ( <i>Melipona mondury</i> ) em diferentes estágios de desenvolvimento .....	23
<b>Figura 2</b> - <i>Scaptotrigona bipunctata</i> .....	25
<b>Figura 3</b> - Estados do Brasil em cor alaranjado onde possui colonização da abelha <i>Scaptotrigona bipunctata</i> .....	25
<b>Figura 4</b> - Própolis verde produzida pelas abelhas gênero <i>Apis</i> melífera.....	34
<b>Figura 5</b> – Própolis produzido pela abelha <i>Scaptotrigona bipunctata</i> .....	36
<b>Figura 6</b> – Sistema CIELAB.....	58
<b>Figura 7</b> - Curva de crescimento <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923.....	64
<b>Figura 8</b> - Projeções dos atributos sensoriais (CPIxCPII).....	66
<b>Figura 9</b> - Projeções dos atributos sensoriais (CPIxCPIII).....	66

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Resultados de sólidos solúveis, carboidratos nas amostras mel com e sem ExP.....	52
<b>Tabela 2</b> – Resultados de acidez total titulável e pH nas amostras de mel com e sem ExP.....	53
<b>Tabela 3</b> – Resultados de umidade e atividade de água nas amostras de mel com e sem ExP .....	54
<b>Tabela 4</b> – Resultados de HMF nas amostras de mel com e sem ExP. ....	56
<b>Tabela 6</b> – Resultados compostos fenólicos totais e flavonoídes nas amostras de mel com e sem ExP .....	58
<b>Tabela 7</b> – Resultados atividades antioxidantes pelos métodos FRAP e ABTS nas amostras de mel com e sem ExP .....	60
<b>Tabela 8</b> - Resultados concentração inibitória mínima (% , CIM) nas amostras de mel com e sem ExP contra bactérias gam-negativas e gram-positivas .....	61
<b>Tabela 9</b> - Resultados concentração mínima bactericida (% , CMB) nas amostras de mel e com ExP contra bactérias gam-negativa e gram-positiva .....	62
<b>Tabela 10</b> - Coeficientes de correlação entre os atributos sensoriais.....	68
<b>Tabela 11</b> - Intensidade média de atributos sensoriais de amostras de mel com e sem extrato de própolis .....	69

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>19</b>
3.1 ABELHAS-SEM-FERRÃO OU ABELHAS MELIPONÍNEAS .....	19
3.1.1 <i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Tubuna) .....	21
3.2 MEL DAS ABELHAS-SEM-FERRÃO OU ABELHAS MELIPONÍNEAS .....	23
3.2.1 Propriedades físico-químicas .....	24
3.2.1.1 Perfil de ácidos orgânicos .....	26
3.2.1.2 Perfil de Açúcares .....	27
3.2.2 Compostos Bioativos.....	28
3.2.2.1 Compostos Fenólicos .....	28
3.2.2.2 Flavonoides .....	29
3.2.2.3 Atividade antioxidante .....	29
3.2.2.4 Potencial Antimicrobiano .....	30
3.4 PRÓPOLIS .....	32
3.4.1 Própolis de abelhas-sem-ferrão ou meliponíneas .....	34
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
4. 1 AMOSTRAS .....	36
4. 2 PREPARO DAS AMOSTRAS .....	36
4.2.1 Preparação do mel com extrato da própolis .....	36
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	37
4.3.1 Umidade .....	37
4.3.2 Sólidos Solúveis Totais .....	37
4.3.3 pH.....	37
4.3.4 Acidez Total Titulável .....	37
4.3.5 Hidroximetilfurfural.....	38
4.3.6 Atividade de Água .....	38

4.3.7 Cor.....	38
4.3.8 Açúcares redutores e sacarose .....	39
4.4 CAPACIDADE REDUTORA E ANTIOXIDANTE .....	39
4.4.1 Compostos fenólicos .....	39
4.4.2 Flavonoides totais.....	40
4.4.3 Capacidade de eliminação do radical ABTS .....	41
4.4.4 Poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP) .....	41
4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	41
4.5.1 Cepas bacterianas.....	41
4.5.2 Concentração inibitória mínima (CIM) .....	42
4.5.3 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) .....	42
4.5.4 Curva de crescimento bacteriano ( <i>Time-kill</i> ) .....	43
4.6 ANÁLISE SENSORIAL.....	43
4.6.1 Análise Descritiva Quantitativa .....	43
4.6.2 Equipe de Avaliação Sensorial Treinada.....	44
4.7 TRATAMENTO DOS DADOS .....	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	46
5.1.1 Perfil de sólidos solúveis (°Brix) e carboidratos.....	46
5.1.2 Acidez total titulável e pH .....	47
5.1.3 Umidade e atividade de água .....	48
5.1.4 Hidroximetilfurfural (HMF) .....	50
5.1.5 Cor.....	51
5.2 CAPACIDADE REDUTORA E ANTIOXIDANTE .....	52
5.2.1 Compostos fenólicos totais.....	52
5.1.2 Atividade Antioxidante pela Captura do Radical-Cátion (ABTS.+) e Método de Redução do Íon Férrico (FRAP) .....	54
5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	56
5.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CMB).....	56
5.2.3 Curva de crescimento ( <i>Time-kill</i> ) .....	58
5.3 ANÁLISE SENSORIAL .....	60
5.3.1 Análise Descritiva Quantitativa.....	60

<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIA .....</b>	<b>67</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO B .....</b>	<b>83</b>
<b>ANEXO C .....</b>	<b>85</b>
<b>ANEXO D .....</b>	<b>86</b>
<b>ANEXO E .....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXO F .....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO G .....</b>	<b>96</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumidor não busca somente alimentos que forneçam os compostos nutricionais e energéticos básicos, mas, produtos que possuem um benefício fisiológico adicional e sejam atrativos sensorialmente (TOMAS; ANDREIA et al, 2017). Alimentos funcionais, também são conhecidos como terapêuticos ou alimentos medicinais, e estão associados a produtos que trazem um efeito benéfico em uma ou mais funções fisiológicas, como, melhorar o bem-estar e/ou reduzir o risco de desenvolver certas doenças (NAGAI; INOUE, 2004). A funcionalidade dos alimentos está relacionada ao conteúdo de sua matriz, e a preferência por ingredientes naturais tem aumentado e é preferido ao invés dos ingredientes sintéticos. Os produtos da colmeia como o mel, geleia real, pólen, cerume e própolis contêm propriedades promotoras da saúde, com a presença de compostos bioativos. Estes produtos estão disponíveis no mercado, sendo o mel e a própolis os mais difundidos e comercializados (VIUDA-MARTOS, 2008).

Apesar de esse produto ser consumido pela humanidade há pelo menos 10 mil anos, ele não está entre as principais formas de adoçar as receitas em nosso país: segundo os dados das associações do setor de apicultura, cada brasileiro consome menos de 60 gramas de mel a cada ano (CBRACA, 2022).

O mel é um alimento viscoso, aromático e doce, elaborado a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas. As abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos ou potes da colmeia (MENDES et al., 2009; ROÓS, 2018). No entanto, para proteger as suas colmeias as abelhas produzem a própolis, um subproduto composto por uma mistura de material resinoso e balsâmico coletada dos ramos, brotos, pólen, flores e exsudatos de árvores com secreções salivares e enzimas produzidas por elas, atuando como um agente antisséptico eficaz na colmeia.

A própolis contém compostos bioativos que possuem atividade biológica, em especial antocianinas, flavonóides, taninos, saponinas, terpenóides, polipeptídios e lecitinas. Entre as atividades biológicas atribuídas à própolis está a capacidade antibacteriana, antifúngica, antioxidante e antiinflamatória (PAZIN et al., 2017).

Existem dois campos de manejo de abelhas: apicultura e meliponicultura. Apicultura refere-se ao manejo racional amplamente popular de *Apis mellífera*,

enquanto a meliponicultura refere-se ao manejo racional de abelhas-sem-ferrão (OLIVEIRA et al, 2012; BILUCA et al, 2014). No Brasil, várias espécies de abelhas-sem-ferrão que produzem mel são conhecidas como abelhas indígenas, nativas ou meliponíneas. Há algum tempo, o mel de abelhas-sem-ferrão não é apenas consumido pela população local como fonte de energia e sustento, mas também cultivado por suas propriedades medicinais (SILVA et al., 2013). A maior parte da produção de mel de abelhas-sem-ferrão no Brasil ocorre nas regiões norte e nordeste, embora a produção tenha aumentado recentemente nos climas tropical e subtropical da região sul e sudeste (BILUCA et al, 2014).

A composição do mel de abelhas-sem-ferrão depende muito da localização geográfica, condições climáticas e da variação da fonte nutricional da colmeia durante as estações (WASFI et al, 2016; BATISTON et al, 2020). Além disso, o processamento, manuseio e armazenamento do mel podem também influenciar sua composição (NISHIO et al. 2016; BATISTON et al, 2020). Outro fator determinante na composição do mel é a espécie de abelha produtora. Dentre as espécies de abelhas-sem-ferrão encontradas no Brasil tem-se a Tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*). Essa espécie de abelhas-sem-ferrão está presente na região sul e sudeste do Brasil (SILVA, 2016).

A abelha Tubuna, consegue construir seu ninho em várias cavidades, como dentro de tijolos em paredes construídas pelo homem e em troncos de árvores. O orifício de entrada dessas espécies é composto por um pequeno tubo de cera (SILVA, 2016). Estas são destacadas devido aos seus produtos que apresentam propriedades antissépticas, antimicrobianas, anticâncer, antiinflamatórias e cicatrizantes (OLIVEIRA et al., 2012). Dentre as principais características físico-químicas deste mel estão os açúcares, água, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, pequena quantidade de vitaminas, enzimas e substâncias voláteis (DA SILVA et al., 2016; MACHADO DE MELO et al., 2018). Entre estes, os ácidos orgânicos são um dos componentes mais importantes do mel e afetam as propriedades sensoriais, como acidez, cor e sabor, e também conferem importantes propriedades nutricionais e medicinais ao mel (AN, Na et al, 2020).

A própolis de abelhas-sem-ferrão é usada atualmente como ingrediente de balas, biofármacos e como constituinte de cosméticos, ganhando popularidade como conservante natural e fonte de compostos bioativos para alimentos e bebidas, além da contribuição na saúde humana (DUMAN; ÖZPOLAT, 2015; OSÉS et al, 2016).

Com relação ao mel, já existem no mercado produtos rotulados contendo 3% de extrato própolis. O sucesso comercial deles depende fortemente da intensidade do sabor e expectativas de qualidade. No entanto, há poucos dados científicos sobre as possíveis vantagens da adição de própolis aos alimentos. Alguns pesquisadores mostraram um aumento nos fenólicos totais e na atividade antioxidante de um mel multifloral após adição de própolis (OSÉS et al, 2016).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi testar diferentes formulações partindo da mistura de mel com extrato da própolis, de abelhas-sem-ferrão, da espécie *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). Identificar componentes funcionais e propriedades, como, fenólicos totais, flavonoides totais, antimicrobianos, antioxidantes e aspectos físico-químicos do mel com e sem extrato de própolis. Como consequência, levar à diversificação produtos das colmeias e aumentar o valor econômico das atividades na meliponicultura.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolvimento do produto mel com extrato de própolis de abelha-sem-ferrão
- Identificar os parâmetros físico-químicos, atributos sensoriais, atividades antioxidantes e antimicrobianas *in vitro* nas formulações 0,25, 0,50 e 0,75% com extrato da própolis;
- Identificar as alterações do mel com as três concentrações diferentes de extrato de própolis da abelha Tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*) nas atividades antioxidantes, antimicrobiana *in vitro* e atributos sensoriais.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ABELHAS-SEM-FERRÃO OU ABELHAS MELIPONÍNEAS

No mundo, existem mais de 20 mil espécies de abelhas, que se dividem em cinco subfamílias (BUENO, 2010). As mais populares são as abelhas da subfamília *Apidae* - tribo Apini- do gênero *Apis* – conhecidas como abelha europeia, que produzem mel em grandes quantidades com padrões de identidade e qualidade bem definidos e, portanto, comercializados em todo o mundo (SILVA, 2016; BRAGHINI, 2020). Entretanto, existe outro grupo, que pertence a subfamília Meliponini, com mais de 500 gêneros distribuídos em regiões tropicais e regiões subtropicais. As abelhas desta tribo são reconhecidas como abelhas indígenas, meliponíneas ou abelhas-sem-ferrão (VIT et al., 2013; BRAGHINI, 2020). Na realidade o ferrão existe, porém, é atrofiado, e estas utilizam de outros meios para autoproteção e proteção do ninho (OLIVEIRA et al., 2013)

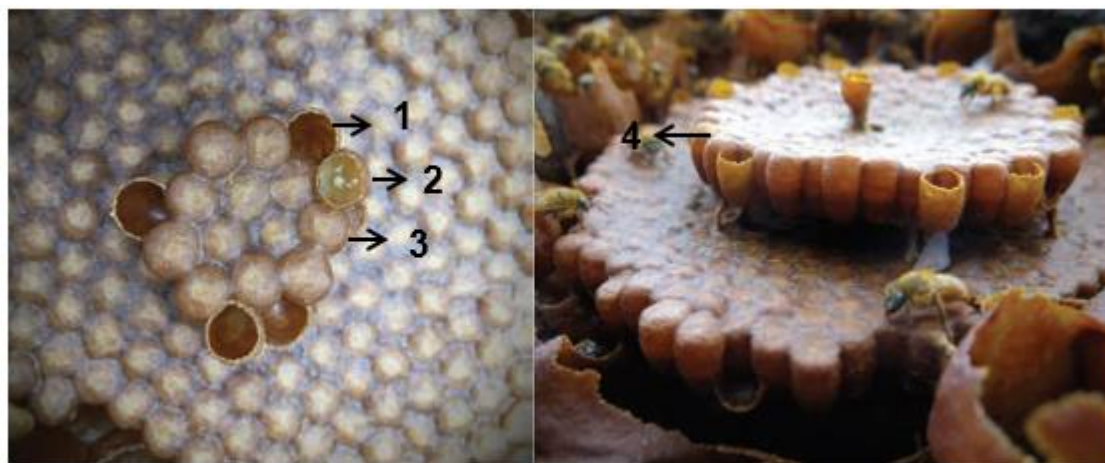
As abelhas-sem-ferrão são insetos sociais de grande diversidade e ampla distribuição geográfica. Nas últimas décadas, diversas propostas de classificação zoológica destas abelhas foram relatadas. A classificação das abelhas-sem-ferrão é composta por 33 gêneros (VILLAS-BÔAS, 2018). Dois destes gêneros são abelhas distintas: as Meliponas e as Trigonas. De maneira geral, as Meliponas – espécies unicamente do gênero *Melipona* – são abelhas maiores, com aspecto robusto, de tamanho médio a grande (variando de 7 à 15 mm) (VILLAS-BÔAS, 2018; FRAZÃO, 2013). Como exemplo pode-se citar as uruçus, jandaíras, tiubas, mandaçaias e equivalentes. Já as Trigonas – espécies de todos os outros gêneros que não são *Melipona* – são abelhas menores, de aspecto mais esbelto, de tamanho pequeno a médio (variando de 2 a 11 mm). Entre elas tem-se as jataís, tubunas, irais, mirins, canudos e outras tantas. A principal diferença entre os dois grupos, entretanto, reside no processo de formação de rainhas (VILLAS-BÔAS, 2018; NOGUEIRA-NETO, 1997).

Nos gêneros da *Melipona* não há construção de células reais, todas as células de cria são iguais. A determinação do número de rainhas que nasce, entre todos os ovos disponíveis, é definida por uma proporção genética. Já as abelhas da tribo Trigonas constroem células reais, que são maiores que as células comuns. Por conta

deste tamanho, as larvas que se desenvolvem nesse tipo de célula recebem mais alimento, o que determina a formação de uma nova rainha virgem (VILLAS-BÔAS, 2018; PEDRO, 2014;). As operárias são os indivíduos mais abundantes da população de uma colônia. Elas cuidam da defesa, da limpeza, manipulam os materiais de construção, coletam e processam o alimento. Ou seja, representam a grande força de trabalho da colônia.

Uma colônia de abelhas-sem-ferrão é constituída por dois elementos principais, o ninho, onde é gerado as larvas, os potes de alimento e elementos auxiliares, como o invólucro, o batume, a entrada e o túnel de ingresso. O aspecto geral do ninho das abelhas-sem-ferrão varia entre as espécies. Na maioria dos casos é formado por células agrupadas, formando favos horizontais, e em algumas espécies é organizado em cachos, quando as células são esparsas e conectadas entre si por pequenos pilares de cerume (VILLAS-BÔAS, 2018).

**Figura 1.** Células de cria de Uruçu- Amarela (*Melipona mondury*) em diferentes estágios de desenvolvimento. 1 - em construção; 2 - com alimento e ovo; 3 - fechada e pronta para o desenvolvimento larval; 4 – células horizontas formando favos



**Fonte:** VILLAS-BÔAS, 2018

Os potes de alimento geralmente são elipsóides (formato oval), construídos de cerume e de tamanhos variados conforme a espécie. Pólen e mel são armazenados separadamente. Portanto, em uma colônia de abelhas-sem-ferrão podemos encontrar dois tipos de potes de alimento: potes de pólen e potes de mel. Uma colônia de abelhas-sem-ferrão é conectada com o ambiente exterior através de uma “porta” de entrada. Associada a mecanismos de proteção e orientação das abelhas, a entrada

pode ser construída com própolis, barro, cerume ou cera pura. Sua aparência é específica para cada tipo de abelha e, portanto, apresenta-se na natureza em uma variedade de formas diretamente proporcional à diversidade de espécies (VILLAS-BÔAS, 2018).

A atividade de polinização das abelhas é fundamental para o ecossistema, e com a diminuição de suas populações pode haver perdas devastadoras na economia e na biodiversidade, diminuindo o número de plantas, frutos, sementes e conduzindo a sucessivas extinções. Além dos benefícios da diversidade alimentar, as abelhas ainda proporcionam produtos que são utilizados pelos seres humanos com caráter medicinal como a própolis, o mel e a cera (SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010).

Logo, a meliponicultura, como é chamada a criação de abelhas-sem-ferrão, é uma das atividades que possui um potencial de grande crescimento no Brasil. O interesse pelas abelhas nativas tem crescido muito, tanto por parte de criadores conservacionistas, como também por agricultores tradicionais, que vislumbram na meliponicultura uma forma de geração de renda alternativa (VENTURIERI, 2008).

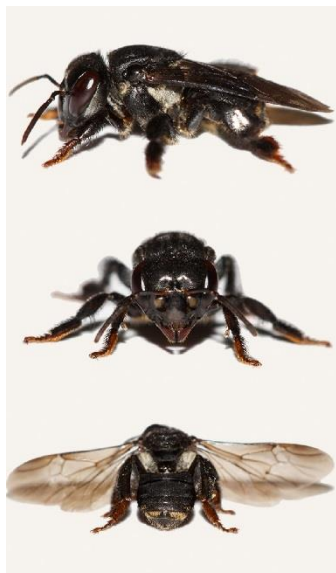
### 3.1.1 *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna)

A *Scaptotrigona bipunctata*, espécie de abelha representada pela Figura 2, também chamada de tubuna ou canudo é uma abelha social da subfamília *Apinae* - tribo Meliponini - gênero *Scaptotrogonas*. Esta espécie é encontrada em várias partes do Brasil, principalmente nos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, como demonstra a representação na Figura 3. Esta abelha é caracterizada por seu comportamento agressivo que, ao ser ameaçada, excreta um material viscoso como forma de defesa, principalmente nos cabelos, além de morder a vítima com suas mandíbulas. Portanto para o manejo desta abelha é aconselhável ao meliponicultor utilizar um véu de proteção (NOGUEIRA-NETO, 1970).

Essa espécie é de porte pequeno, coloração negra brilhante, com as asas bem negras e o abdômen negro, com dois pontos na cor prata. A abelha tubuna pode viajar mais de 1 km à procura de alimento ou uma nova moradia. O ninho pode ser construído em ocos de árvores, muros e caixas de madeira velha em forma de funil com cerume escuro (NOGUEIRA-NETO, 1970). O tamanho das colônias pode variar de 2.000 a 50.000 abelhas, chegando produzir até 3 kg de mel por ano (LINDAUER; KERR, 1960).

Assim como todos os apídeos, as abelhas tubuna possuem uma sociedade organizada dividida em: operárias, zangões e rainha. As abelhas tubuna operárias desempenham diversas funções no enxame de acordo com a sua idade. Primeiramente, as abelhas mais novas que apresentam uma coloração mais clara ficam na região dos discos aquecendo as crias. Um pouco mais velhas elas começam a trabalhar na construção de células e na colocação de alimento larval. Com um pouco mais de tempo passam a trabalhar na construção de invólucro e potes de alimento. Quando chegam à fase adulta as operárias irão forragear, que significa coletar néctar, pólen e água para a colmeia. As abelhas operárias coletam grandes quantidades de pólen, néctar e resinas, que são preservadas dentro do ninho, sendo o alimento armazenado em potes e a resina em pilhas. Na entrada, um grupo de abelhas-guarda permite a passagem apenas das próprias companheiras de ninho. As operárias protegem os recursos do ninho, da ninhada e das abelhas jovens, fazendo ataques em enxames a qualquer ameaça ao ninho (NOGUEIRA-NETO, 1970).

**Figura 2 - *Scaptotrigona bipunctata***



**Fonte:** MENEZES, 2021.

**Figura 3 - Estados do Brasil em cor alaranjado onde possui colonização da abelha *Scaptotrigona bipunctata***



**Fonte:** ICMBIO/PORTARIA N°665/2021, 2021.

### 3.2 MEL DAS ABELHAS-SEM-FERRÃO OU ABELHAS MELIPONÍNEAS

O mel das abelhas da tribo Meliponini ou abelhas-sem-ferrão é um alimento com composição diferenciada, apresentando características peculiares e de sabor exótico, proporcionando um produto de maior valor agregado, quando comparado ao mel de abelhas da tribo Apini - gênero *Apis mellifera* (BORSATO, 2013).

Dentre as características distintas do mel da tribo Meliponini destaca-se a sua acidez mais elevada e o maior teor de umidade. Entretanto, apesar do reconhecido valor do produto nativo, sua produção e comercialização ainda são limitadas se comparadas ao do gênero *A. mellifera*. Embora alguns estudos já tenham sido desenvolvidos (GUERRINI et al., 2009), ainda há carência de conhecimento sobre sua caracterização, o que dificulta o estabelecimento de um padrão oficial de qualidade necessário para ampliar sua produção e comercialização.

Segundo alguns estudos no processo de elaboração do mel das abelhas-sem-ferrão, existem reações que modificam o néctar coletado em duas etapas. A primeira é uma reação física pela desidratação, com a eliminação da água dentro dos favos na colmeia e a absorção no papo; a segunda equivale a reações químicas pela ação de diferentes enzimas responsáveis pela hidrólise da molécula de sacarose em moléculas menores, principalmente em glicose e frutose (CRANE, 1987; LENGLER, 2002).

O mel das abelhas-sem-ferrão, depois de ser desidratado parcialmente, é armazenado em potes de cerume, uma mistura de cera e própolis, fator que auxilia na conservação do produto e causa influência na cor e no sabor do mel (VENTURIERI et al., 2007). Além do mel, também fazem o armazenamento do pólen em potes separados, de tamanhos semelhantes, permitindo assim recolher somente o mel.

Durante a forragem para satisfazer sua demanda nutricional básica, as abelhas inevitavelmente coletam metabólitos especializados das plantas como parte do néctar e do pólen. Em geral, estes compostos possuem atividade biológica que pode ser relevante para combater pragas e patógenos não só na colmeia, mas também tornar o mel um alimento como fonte de antioxidantes, o que permite considerar um alimento nutracêutico e também potencializar o seu uso em nível medicinal, dada a sua atividade antimicrobiana (TOMÁS et al., 2016; BANKOVA et al., 2018).

A composição do mel varia de acordo com o gênero da abelha que o produz, da fonte nutricional, de variações no teor de néctar, das condições geográficas e

climáticas, bem como do manejo do meliponicultor (LIBERATO, et al., 2013; CHUTTONG et al., 2016; KIVRAK et al., 2017). Portanto, o mel de abelhas-sem-ferrão é um alimento de mistura complexa de carboidratos, apresentando outras substâncias menos frequentes, como ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, vitaminas, lipídios, compostos aromáticos, flavonoides, grãos de pólen e outras substâncias (DE ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013).

### 3.2.1 Propriedades físico-químicas

Uma das principais características da composição físico-química do mel de abelhas-sem-ferrão, que o difere dos méis das abelhas do gênero *A. mellifera*, é o seu maior teor de umidade. Esse teor de umidade resulta em um mel menos viscoso e em uma cristalização mais lenta.(CAMPOS; PERUQUETTI, 1999).

A ocorrência de mel aquoso em abelhas-sem-ferrão está relacionada à umidade de ambientes tropicais, em que é difícil extrair néctar com baixo teor de água, além de outros fatores como coleta de néctar de flores rasteiras e frutos maduros ricos em água, ou mesmo devido aos diferentes gêneros e espécies de abelhas (RAMÓN-SIERRA et al., 2015).

A presença de água na forma disponível nos alimentos é um parâmetro físico-químico conhecido como atividade de água (*aw*). A atividade de água necessária para o crescimento de microrganismos é abaixo de 0,98 (GLEITER et al., 2006). Os alimentos com concentrações maiores de soluto, como, o mel de abelha-sem-ferrão e com atividade de água em torno de 0,6, podem desenvolver algumas leveduras osmofólicas. Entretanto, em alguns alimentos é possível reduzir a atividade de água aumentando a concentração de solutos na fase aquosa do produto, tanto pela remoção de água quanto pela adição de solutos (RAMÓN-SIERRA et al., 2015).

A acidez volátil ou fixa representa o número de íons de hidrogênio presentes em uma substância. No entanto a acidez no mel corresponde ao balanço de ácidos orgânicos presentes e varia de acordo com a composição floral e as espécies e gêneros de abelhas. Essa acidez no mel também pode ser devido a fermentação de açúcares por microrganismos obtendo álcool e posterior oxidação a ácidos carboxílicos (RAMÓN-SIERRA et al., 2015).

A atividade de água (*aw*) juntamente com o pH, relacionado ao grau de acidez, definem também as condições para o crescimento microbiano no produto. Os valores

das faixas da escala do pH dos méis das abelhas-sem-ferrão podem variar de 3,1 a 6,6. Entretanto, as substâncias mandibulares das abelhas, como enzimas (proteases, lipases e lactases) e proteínas, que são adicionadas ao néctar durante o transporte até a colmeia, também podem alterar o pH do mel (ELIAS-SANTOS et al., 2013; KARABAGIAS; HALATSI; et al., 2017).

Hidroximetilfurfural (HMF) é amplamente conhecido como um parâmetro de frescor e qualidade dos méis. O HMF é um composto orgânico heterocíclico de seis carbonos contendo grupos funcionais aldeído e álcool (hidroximetil) que é formado pela degradação de açúcares através da reação de Maillard (uma reação de escurecimento não enzimático). A produção desta substância é influenciada principalmente pelo processo de aquecimento, bem como pelo tempo prolongado de armazenamento. A formação de HMF está correlacionada com as características químicas dos méis, como a presença de açúcares simples (glicose e frutose), ácidos e minerais, os quais, por sua vez estão relacionados à fonte floral do mel (DE SOUSA, J. M. B. DE et al., 2016).

O mel é uma solução concentrada de açúcares redutores, com frutose e glicose representando a maior proporção de sua composição. Apesar do alto nível de frutose encontrado por alguns pesquisadores (BILUCA et al, 2016), contém níveis mais baixos de açúcares redutores quando comparados aos padrões de mel de *A. mellifera* (BILUCA et al., 2014, 2016; CHUTTONG et al., 2016a; DE SOUSA, J. M. et al., 2016).

Segundo Sousa et al. (2016), após a frutose, o tipo de açúcar presente em maior quantidade no mel das abelhas-sem-ferrão é a glicose, seguida da sacarose. No mel produzido por *Apis mellifera*, o valor de sólidos solúveis (°Brix) é sempre descrito como maior que o encontrado em mel de abelha-sem-ferrão, relacionado ao menor teor de água e conseqüentemente maior teor de açúcar (BILUCA et al., 2016).

Devido às diferenças na composição físico-química, os valores de referência indicados para o controle da qualidade e comercialização de mel, nas legislações nacionais (BRASIL, 2000) e internacionais (FAO, 2001) vigentes, não são aplicáveis para os méis das abelha-sem-ferrão. O desenvolvimento e a aprovação de uma regulamentação para os méis de abelha-sem-ferrão, estabelecendo os requisitos de identidade e padrão são importantes para a garantia de segurança de consumo e para que os órgãos fiscalizadores tenham base referencial para sua inspeção, permitindo a comercialização oficial.

### 3.2.1.1 Perfil de ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos do mel representam menos que 0,5% dos sólidos, tendo um pronunciado efeito no sabor, podendo ser responsáveis em parte pela excelente estabilidade do mel frente a microrganismos. Cerca de dezoito ácidos orgânicos já foram encontrados em méis de várias espécies. Sabe-se que o ácido glucônico está presente em maior quantidade, cuja presença relaciona-se com as reações enzimáticas que ocorrem durante o processo de amadurecimento. Já em menor quantidade, podem-se encontrar outros ácidos como: acético, butírico, láctico, oxálico, fórmico, málico, succínico, pirúvico, glicólico, cítrico, butiricolático, tartárico, maléico, piroglutâmico, alfa-cetoglutárico, alfa ou beta-glicerofosfato e vínico (STINSON et al, 1960; MENDES; COELHO, 1983).

A acidez no mel, bem como seu aumento durante a fermentação, é associada à transformação de açúcares e álcoois do mel em ácidos por leveduras osmofílicas do mel. Quando o teor de umidade do mel é alto o suficiente, a levedura vai crescer, fermentando açúcares e fazendo mais fermento, álcool, dióxido de carbono e ácido acético, afetando o sabor do mel ao longo do tempo (AN, Na et al., 2020).

Uma alta concentração de ácido acético pode resultar em um sabor indesejável de vinagre no mel. A atividade antimicrobiana de alguns méis está relacionada à composição de bactérias do ácido láctico (BAL) que influenciam a acidez e a fermentação no mel (MAHNOT, SAIKIA; MAHANTA, 2019; OLOFSSON et al., 2016). Essas BAL produzem metabólitos comuns, como ácido fórmico e ácido láctico, que afetam diretamente a acidez do mel e ainda são usados como indicadores de fermentação (MATO et al, 2006). Embora haja relatos de acidez em mel de abelha-sem-ferrão, poucos estudos examinaram o perfil e teor de ácidos orgânicos (SANT'ANA et al, 2020).

Em um estudo recente Villacrés-Granda et al. (2021) relatou maiores concentrações de ácido acético e ácido láctico em mel de abelha-sem-ferrão da espécie *Tetragonisca angustula*, enquanto os maiores valores de ácido cítrico foram encontrado em mel da espécie *Cephalotrigona sp.* No estudo em relação ao teor total de ácidos orgânicos, o mel de *Tetragonisca angustula* apresentou a maior concentração, seguida por *Scaptotrigona polysticta*, *Nannotrigona chapadana*, *Cephalotrigona sp.* e *Trigona silvestriana*. Os méis deste estudo também

apresentaram maior valor de acidez livre, em que houve correlação significativa entre acidez livre e teor de ácido orgânico total.

### 3.2.1.2 Perfil de Açúcares

Os açúcares são os compostos responsáveis por conferir algumas das principais características do produto, como viscosidade, higroscopicidade, arenosidade e valor energético (BILUCA, 2016).

O mel é composto principalmente por monossacarídeos, dentre eles os açúcares redutores, como a frutose e glicose representando a maior proporção de sua composição. Apesar do alto nível de frutose relatado por Biluca (2016), contém níveis mais baixos de açúcares redutores quando comparados aos padrões de mel de *A. mellifera* (CHUTTONG et al., 2016; DE SOUSA, J. M. et al., 2016). Uma quantidade entre 10 a 15% de dissacarídeos, como a maltose, trealose, trissacarídeo erlose e porções insignificantes de outros açúcares foram identificados em poucos estudos em mel de abelha-sem-ferrão (DA SILVA et al., 2016).

Para méis de abelhas-sem-ferrão, é possível verificar uma grande variação, enquanto alguns estudos não detectam sacarose, como é o caso de Biluca et al. (2016) e Duarte et al. (2018) para méis do Brasil; Shamsudin et al. (2019) para méis da Malásia; e Chuttong et al. (2016) para méis da Tailândia; outros estudos encontraram valores representativos deste açúcar. No entanto, se considera que tanto a baixa quantidade de açúcares redutores quanto o elevado teor de sacarose nos méis de abelhas-sem-ferrão são uma característica particular de cada mel, nos quais os fatores associados a isso ainda não foram esclarecidos.

Um outro estudo também realizado na Malásia por Zawawi et al (2022) indentificou a trealulose, um açúcar redutor muito importante que tem uma taxa de liberação de monossacarídeos na corrente sanguínea muito mais lenta do que a sacarose. Este dissacarídeo é, portanto, altamente benéfico por ter um baixo índice insulinêmico e um baixo índice glicêmico. A trealulose também é conhecida por ser acariogênica e um antioxidante altamente ativo, e essas propriedades podem contribuir de forma significativa para as propriedades benéficas à saúde relatadas do mel de abelha-sem-ferrão.

### 3.2.2 Compostos Bioativos

O aumento da produção de radicais livres pode causar danos a componentes celulares, como proteínas, DNA, e membranas celulares, capturando seus elétrons através da oxidação. Várias doenças estão associadas com radicais livres, como aterosclerose, diabetes, doenças cardiovasculares, catarata, etc., e os radicais livres também estão relacionados ao processo de envelhecimento. O organismo humano desenvolveu mecanismos contra o estresse oxidativo induzido por radicais livres, consistindo de mecanismos endógenos, produção de enzimas em resposta ao estresse oxidativo, e exógenos (dos alimentos) (ROCHA et al., 2007; UTTARA et al., 2009).

Os componentes celulares não estão totalmente protegidos por compostos bioativos endógenos, e está bem estabelecido que os antioxidantes dietéticos são indispensáveis para uma adequada defesa contra oxidação; portanto, eles desempenham um papel importante na manutenção da saúde (CERQUEIRA; MEIROS; AUGUSTO, 2007). Esses radicais livres podem ser combatidos a partir de consumo de alimentos que contenham espécies bioativas. Esses compostos possuem a capacidade de impedir a oxidação de outras espécies químicas, evitando a propagação dos radicais livres. (BORSATO, 2013).

#### 3.2.2.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são um dos principais grupos de compostos químicos que atuam como antioxidantes e estão presentes naturalmente em vegetais. São originados no metabolismo de plantas e atuam como defensores contra radiações ultravioletas e patogênicas ou ainda possuem função colorante em alimentos. A função antioxidante dos fenóis se dá pela sua ação redutora de radicais livres ou quelante em íons metálicos pró-oxidantes (BORSATO, 2013; BRAGHINI, 2020).

Quimicamente, possuem um anel benzênico e um ou mais grupos hidroxila em sua molécula. Os compostos fenólicos apresentam grande diversidade, podendo ser divididos em flavonoides e não-flavonoides, que são polifenóis e fenóis simples respectivamente (BORSATO, 2013; BRAGHINI, 2020). Nos estudos de compostos fenólicos em méis tem se verificado a presença de ácidos fenólicos, principalmente:

elágico, benzoico, fenilacético, mandélico,  $\beta$ -fenilático, cafeico, p-cumárico, ferúlico entre outros (BORSATO, 2013).

### 3.2.2.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos constituídos por dois anéis aromáticos unidos por uma sequência de três átomos de carbono. Atualmente, são conhecidos cerca de 5.000 tipos de flavonoides distribuídos em alimentos. Esse número ocorre devido à grande variação que esses compostos podem sofrer com reações de hidroxilação, metilação, acilação entre outras (BRAGHINI, 2020).

Os flavonoides estão presentes nos alimentos em dois grandes grupos, as flavonas e os flavonóis. Além disso, fazem parte do primeiro grupo a apigenina, tricetina e luteolina, já o segundo é representado principalmente pela quercetina, campferol, rutina e miricetina. A diferenciação e atividade antioxidante dos flavonoides é devido ao número e posição das metoxilas e hidroxilas presentes nos anéis aromáticos. Entre os flavonoides encontrados em méis estão a miricetina, quercetina, campferol, apigenina, galangina, luteolina entre outros (BORSATO, 2013; BRAGHINI, 2020).

Ávila (2019) quantificou compostos bioativos por HPLC e atividade antioxidante que forneceu um perfil único e distinto de compostos fenólicos em cada amostra de mel. A presença de vários flavonóides no mel (tais como, flavonóis como derivados de quercetina, kaempferol e isoramnetina) é bem documentada por Gheldof e Engeseth (2002) e parece ser dependente da fonte floral do mel. No que diz respeito aos seus ácidos fenólicos e flavonóides, o ácido p-cumárico, a quercetina e a hesperetina demonstram efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-carcinogénicos, antitumorais e antimicrobianos (SHRIVASTAVA et al., 2018).

### 3.2.2.3 Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes com maior presença em alimentos são os grupos fenóis que representam os ácidos fenólicos e os flavonoides. Para a determinação da atividade antioxidante, podem se utilizar diversos métodos que se baseiam no sequestro de radicais livres que compõe espécies reativas ou radicais livres como o

DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2-azinobis; 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)(BRAGHINI, 2020; ÁVILA, 2019).

O composto DPPH é um radical livre estável com a capacidade de aceitar um radical hidrogênio e se estabilizar sofrendo redução na presença de um agente antioxidante. Já a formação do radical ABTS é gerada a partir da oxidação com persulfato de potássio que é reduzido na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio. A influência tanto da concentração dos antioxidantes quanto da duração da reação sobre a inibição do radical (cátion) é levada em consideração na determinação da atividade antioxidante (BRAGHINI, 2020; ÁVILA, 2019).

#### 3.2.2.4 Potencial Antimicrobiano

O mel da abelha-sem-ferrão é utilizado em terapias populares, principalmente, nas zonas rurais (CORTOPASSI-LAURINO e GELLI, 1991) e entre indígenas, que acreditam que diferentes tipos de mel possuem propriedades curativas específicas, sendo empregado para a cura de um amplo espectro de doenças (POSEY, 1987).

Salonen et. al. (2017), observaram que os néctares retirados das flores pelas abelhas contêm compostos fenólicos e voláteis, ácidos orgânicos, piruvaldeído e uma enzima chamada catalase. Enquanto a água do néctar é evaporada, as abelhas adicionam as enzimas glicose oxidase, invertase e diástase, bem como ácidos orgânicos, antibiótico e antifúngico, compostos peptídicos e a proteína defensina-1.

Além disso, compostos procedentes das bactérias ácido-láticas que crescem no estômago das abelhas e o composto antibacteriano ácido 10-hidróxi-2-decenóico originário da geleia real podem contribuir para a bioatividade do mel (SALONEN et. al., 2017; BUCEKOVA et. al., 2018).

As propriedades curativas e terapêuticas do mel relacionam-se com a atividade antibacteriana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória e aumento do sistema imunológico (AL-WAILI et. al., 2011; ALVAREZ-SUAREZ et. al., 2014; BUCEKOVA et. al., 2018).

O mel combate bactérias por ação direta e indireta. A ação direta baseia-se na inibição direta ou morte das bactérias por elementos específicos do mel que são tóxicos para os agentes patogênicos, pois afetam diretamente o metabolismo e estrutura dos microrganismos. Estes incluem peróxido de hidrogênio, alta osmolaridade, acidez e fenóis. A ação indireta do mel estimula a reação antibacteriana

de todo o organismo em direção a bactérias, ou seja, produção de linfócitos e anticorpos (AL-WAILI et. al., 2011).

Diante disso, foi licenciado o uso tópico do mel em conjunto com curativos no tratamento de queimaduras e feridas por proporcionar uma barreira protetora precavendo a infecção microbiana. O uso do mel diminui o tempo de cura e isso pode ser explicado através de um efeito duplo na resposta inflamatória, efeito esse, que impede a inflamação prolongada, permitindo a re-epitelização e diminuição dos danos causados pelos radicais livres resultantes da inflamação, impedindo a necrose adicional (ALVAREZ-SUAREZ et. al., 2014).

Também há estudos do seu efeito antibacteriano para infecções respiratórias e diarreia, uma vez que o mel inibe mais de sessenta diferentes espécies bacterianas patogênicas e também pode aumentar o crescimento da flora benéfica do trato gastrointestinal por apresentar um número de probióticos que promovem o crescimento de bactérias úteis, como bifidobactérias e lactobacilos (EWNETU et al., 2013; HUSSAIN, 2017).

O mel da abelha-sem-ferrão de todas as áreas geográficas exibe atividade considerável contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos, mas seu valor medicinal pode ser influenciado devido à variação existente na característica de cada mel. Dessa forma, se pode afirmar que o mel de diferentes fontes é único em sua composição, aroma, cor, sabor e nível de atividade antimicrobiana (AL-WAILI et al., 2011; ALVAREZ-SUAREZ et. al., 2014; HUSSAIN, 2017).

### 3.4 PRÓPOLIS

A etimologia da palavra pro= defesa e polis = cidade, é utilizada para o reparo e proteção das colmeias (ARAÚJO, 2013). Sendo aplicado na medicina tradicional e em rituais por egípcios, gregos e romanos desde 300 anos a.C. A própolis é um subproduto elaborado pelas abelhas operárias utilizadas para a proteção da colmeia contra os insetos e microrganismos indesejáveis que possam atacar os ninhos (GHISALBERTI,1979; LUSTOSA et al., 2008).

Conhecido por suas propriedades medicinais e biológicas foi rapidamente incorporado a medicina popular para o tratamento de gripe, tosse, dor muscular e micoses (AGÜERO et al., 2014), possui ainda ação anti-inflamatória (NAITO et al., 2007), antiviral (SCHNITZLER et al., 2010), antibacteriana (ODA et al., 2016), anticarcinogênica (CHAN; CHEUNG; SZE, 2013), entre outras.

O primeiro estudo científico foi indexado em 1908 na Chemical Abstracts tratando a respeito das propriedades químicas e composição da própolis de abelhas *A. Mellifera*, em 1968 o resumo da primeira patente utilizando a própolis para a produção de loções de banho também foi relatada na mesma revista (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002). A partir de então por suas características benéficas a saúde vem sendo agregada na alimentação (GUTIÉRREZ-CORTÉS; SUAREZ MAHECHA, 2014; SPINELLI et al., 2015), em bebidas (GOMES et al., 2013), suplementos, cosméticos (LUSTOSA et al., 2008), e ainda como aditivo de conservação (LUIS-VILLAROYA et al., 2015).

A composição química da própolis é resultante, principalmente das características fitogeográficas existentes ao redor da colmeia (KUMAZAWA; HAMASAKA; NAKAYAMA, 2004) é complexa e variada, destacando-se os flavonoides e os ácidos fenólicos, os quais conferem efeitos terapêuticos à própolis (UMTHONG; PUTHONG; CHANCHAO, 2009).

Composta por uma mistura de material resinoso e balsâmico coletada dos ramos, brotos, pólen, flores e exsudatos de árvores com secreções salivares e enzimas produzidas pelas abelhas a própolis é composta por 50% de resinas de plantas, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais e 5% de grão de pólen, além de alguns minerais (Mn, Cu, Ca, Al, Na, Fe, Zn e Mg, K) e vitaminas (A, B1, B2, B6, C e E) (VASILAKI et al., 2019).

**Figura 4.** Própolis verde produzida pelas abelhas gênero *Apis mellífera*



**Fonte:** MEL, 2022.

No Brasil, já foram descritos 13 tipos de própolis, encontradas nas regiões sul, sudeste e nordeste, que variam de acordo com a composição química e coloração, como amarelo, marrom claro, marrom escuro, marrom avermelhado, verde e vermelho (PARK et al., 2002; TORETI et al., 2013).

As mais conhecidas são a própolis verde, típica da região sudeste do Brasil, oriunda predominantemente da espécie vegetal *Baccharis dracunculifolia* (SALATINO et al., 2005) e vermelha, encontrada na região nordeste, produzida a partir de *Dalbergia ecastaphyllum* (Alencar et al., 2007), ambas produzidas pela espécie de abelha *A. mellífera*.

A própolis verde representada na Figura 4, apresenta em sua composição química ácidos fenólicos, ácidos prenilados p-cumáricos, acetofenonas, ácidos diterpênicos, ácidos cafeolquínicos, kaempferide, isosakuranetina e kaempferol (PARK et al., 2002; BANKOVA, 2005).

Já a própolis vermelha é composta por fenólicos simples, triterpenoides, isoflavonoides, benzofenonas e naftoquinonas. Mais de 300 compostos já foram identificados em amostras de própolis de abelhas, mas essa composição pode variar conforme a origem geográfica, botânica, estação de coleta, a espécie da abelha e as condições climáticas, o que resulta em diferentes atividades biológicas (TRUSHEVA et al., 2006).

### 3.4.1 Própolis de abelhas-sem-ferrão ou meliponíneas

Apesar da maioria dos estudos investigarem a composição química e propriedades biológicas da própolis de *A. mellifera*, espécie exótica no Brasil, outras espécies de abelhas também são produtoras desta resina, como as abelhas-sem-ferrão, também conhecidas como meliponíneas (BANKOVA; POPOVA, 2007).

Como apresentam o ferrão atrofiado, estas abelhas desenvolveram outros mecanismos de defesa, como a utilização da resina produzida a partir de materiais vegetais que é depositada na única entrada do ninho em forma de funil, impedindo a invasão por outros insetos, como formigas e besouros (NOGUEIRA-NETO, 1997; BLOCHTEN et al., 2008). Além disso, esta resina também é depositada sobre o corpo do organismo invasor, que fica imobilizado devido a propriedade pegajosa deste material (ROUBIK, 2006).

Estudos sobre a própolis de meliponíneas mostrados na figura 5, descrevem a presença de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos e carboidratos (POPOVA; BANKOVA, 2007). Estes compostos provavelmente estão relacionados às atividades biológicas descritas para este produto natural.

Dentre as propriedades biológicas já descritas para a própolis de abelhas-sem-ferrão, a ação antimicrobiana se destaca como principal potencial. Choudhari et al. (2012) descreveram que a própolis da abelha-sem-ferrão *Trigona sp.*, encontrada na Índia, apresenta atividade contra bactérias gram-positiva, gram-negativa e fungos.

A própolis proveniente da espécie *Tetragonula carbonaria*, endêmica da Austrália, foi descrita por apresentar ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, mas foi menos efetiva contra a bactéria gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (MASSARO et al., 2015).

**Figura 5.** Própolis produzido pela abelha *Scaptotrigona bipunctata*



**Fonte:** Meliponário Yraptã, 2020

Em estudos feitos com a própolis de outras espécies brasileiras do gênero *Melipona* já foi possível isolar diversas substâncias com várias atividades biológicas, tais como os flavonóides 7-O-metil-naringenina, 7-O-metil-aromadendrina, entre outras, encontrados na própolis da espécie nordestina *Melipona subnitida*, com ótima atividade antioxidante (Souza, et al. 2013).

A própolis da espécie *Melipona fasciculata*, encontrada nas regiões norte e nordeste, possui alto conteúdo fenólico e já foram isolados compostos fenólicos, também com alta atividade antioxidante, dentre eles a dilactona do ácido valonéico e o ácido elágico (DUTRA, et al. 2014).

Apesar de vários estudos sobre a composição química e atividade biológica da própolis em diversas regiões do Brasil, ainda há poucos estudos sobre a própolis de abelhas-sem-ferrão. Da própolis da espécie *Melipona interrupta* já foram isolados quatro flavonóides, e esta espécie apresentou maior atividade antioxidante frente à *M. seminigra* (SILVA, et al. 2013).

O flavonóide naringenina é comumente encontrado em amostras de própolis e apresenta boa atividade anti-inflamatória e antioxidante. Substâncias glicosiladas como a Naringenina-4'-O- $\beta$ -Glicopiranosídeo raramente são encontradas em amostras de própolis de outras regiões (SILVA, et al. 2013).

A própolis das abelhas *Melipona compressipes* e *Melipona quadrifasciata anthidioides*, obtidas da região sul do Brasil, foram descritas por apresentar relevante ação contra a bactéria *S. aureus*, a levedura *Candida albicans* e o vírus da gripe

aviária (KUJUMGIEV et al., 1999). Estudos sobre a atividade antioxidante deste produto apícola ainda são escassos.

Sawaya et al. (2009) relataram sobre a ação antiradicalar da própolis de três espécies do gênero *Scaptotrigona*, encontradas nas regiões sudeste e nordeste do Brasil. Em relação à ação anti-inflamatória da própolis de meliponíneos, somente Massaro et al. (2011) descreveram este potencial na própolis australiana de *T. carbonaria*.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 AMOSTRAS**

Para o estudo, a amostra de mel e própolis, da espécie de abelha *Tubuna* (*Scaptotrigona bipunctata*), foram coletadas por uma meliponicultora da cidade de São José dos Pinhais, no estado do Paraná. O mel utilizado e colhido na região geográfica 25°34'27,00"S/49°12'58,91"O foi amostra única, no mês de abril no ano de 2021. A colheita do mel foi feita por sucção com bomba e colocado em recipientes estéreis. Em seguida foi coletado a própolis das mesmas caixas onde foi feita a retirada dos méis e ambos foram armazenados em potes de vidro estéreis e transportados sob refrigeração até a Universidade Estadual de Londrina. A temperatura de acondicionamento foi de 4°C até o momento da sua utilização.

### **4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS**

#### **4.2.1 Preparação do mel com extrato da própolis**

O mel recém-colhido foi pasteurizado (65 °C por 30 min) em banho-maria e mantido sob refrigeração (4 °C). O ExP foi preparado de acordo com OSÉS et al., (2016). Vinte gramas de própolis foram moídos e misturados com 75 mL de álcool de cereais (90% de pureza) por agitação magnética, durante 48 h a 25 °C, na ausência de luz. Os extratos filtrados com filtros de papel número 40 foram transferidos para um evaporador rotativo para remoção do álcool. Para a sua completa evaporação os mesmos foram deixados em estufa durante 24 h a temperatura de 50 °C.

O ExP foi adicionado ao mel nas concentrações de 0,25, 0,50 e 0,75% m/m. Estas concentrações escolhidas baseiam-se em relatos da literatura (ÓSES, 2016; JANSEN-ALVES et al. 2019) e no fato de que o produto a ser desenvolvido deverá ser comercializado como alimento e não fármaco. Logo a sua aceitação sensorial deverá ser como tal. Em seguida as amostras foram misturadas por agitação mecânica até completa homogeneização. As amostras foram acondicionadas em recipientes herméticos de vidro e estéreis contendo 50 mL de mel. Armazenadas a uma temperatura de  $4 \pm 1$  °C em refrigerador até serem utilizadas para as análises.

### **4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**

#### **4.3.1 Umidade**

O teor de umidade no mel foi determinado em triplicata pelo método de leitura em refratômetro (Metler Toledo - LiquiPhysics™ Excellence RM40, United Kingdom), a 20 °C, obtendo-se a correspondente porcentagem de umidade através da relação entre o índice de refração a 20 °C e o conteúdo de água em porcentagem (m/m), de acordo com a tabela de conversão anexada ao método AOAC 969.38 (2019).

#### **4.3.2 Sólidos Solúveis Totais**

Os sólidos solúveis totais foram expressos em °Brix, medido com refratômetro digital de bancada (Metler Toledo - LiquiPhysics™ Excellence RM40, United Kingdom) em triplicata a 20°C (AOAC, 2019).

#### **4.3.3 pH**

Uma alíquota de 10 g de mel em triplicata foi diluída em 75 mL de água destilada e o pH foi determinado em medidor digital de pH (Gehaka - PG2000, Brasil) (ADOLFO LUTZ, 2008).

#### **4.3.4 Acidez Total Titulável**

A acidez total titulável, conforme método 962.19 da AOAC (2019) é a soma da

acidez livre com acidez lactônica, estas obtidas por titulação com hidróxido de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup> e ácido clorídrico 0,05 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Diluíram-se 10 g de amostra em triplicata em 75 mL de água destilada, homogeneizou-se com auxílio de agitador magnético, e procedeu-se a leitura do pH. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup> até pH 8,5. Adicionaram-se 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup> e procedeu-se a titulação com solução de ácido clorídrico 0,05 mol L<sup>-1</sup> até pH 8,3. O volume do branco foi aferido pela titulação de 75 mL de água com solução de hidróxido de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup>. O resultado foi expresso em meq kg<sup>-1</sup>.

#### 4.3.5 Hidroximetilfurfural

A concentração de HMF foi determinada por leitura em espectrofotômetro UV/VIS de bancada (Thermo – Genesys 6, USA) conforme descrito em AOAC (2019). Uma alíquota de 5,0 g de mel em triplicata foi dissolvida em 25 mL de água destilada e adicionada às soluções Carrez I (0,5 mL) e Carrez II (0,5 mL), a solução foi filtrada e os primeiros 10 mL descartados. Do filtrado, a absorbância em 284 e 336 nm lidos com uma alíquota da solução filtrada com 0,2% bissulfito de sódio como branco. O HMF determinado pela equação:  $HMF / 100 \text{ g de mel} = (Abs_{284} - Abs_{336}) \times 14,97 \times 5 \text{ g de amostra}$ . O resultados expressos em miligramas de HMF por quilograma de mel (mg kg<sup>-1</sup>).

#### 4.3.6 Atividade de Água

A atividade de água foi quantificada em higrômetro (Aqualab - 4TEV, Brasil). Uma alíquota da amostra em triplicata foi dispensada diretamente sob as cápsulas do equipamento e a leitura realizada a 25 °C.

#### 4.3.7 Cor

Os parâmetros de cor no sistema Cielab L\* (luminosidade), a\* (componente vermelho-verde) e b\* (componente amarelo-azul) foram determinados a 25 °C, em colorímetro (Konica Minolta - Chroma Meter CR-4000, Japão) com iluminante D65 (luz natural do dia). Para leitura as amostras foram colocadas em cubetas com área de 16

cm<sup>2</sup> e ângulo de 45/0° de iluminação e 10° de observação.

#### 4.3.8 Açúcares redutores e sacarose

Os açúcares são os compostos responsáveis por conferir algumas das principais características do produto, como viscosidade, higroscopicidade, arenosidade e valor energético.

O mel é composto principalmente por monossacarídeos, dentre eles os açúcares redutores, como a frutose e glicose representando a maior proporção de sua composição. Apesar do alto nível de frutose relatado por Biluca (2016), contém níveis mais baixos de açúcares redutores quando comparados aos padrões de mel de *A. melífera* (CHUTTONG et al., 2016; SOUSA, J. M. et al., 2016). Uma quantidade entre 10 a 15% de dissacarídeos, como a maltose, trealose, trissacarídeo erlose e porções insignificantes de outros açúcares foi identificado em poucos estudos em mel de abelha-sem-ferrão (DA SILVA et al., 2016).

Para méis de abelhas-sem-ferrão, é possível verificar uma grande variação, onde enquanto alguns estudos não detectam sacarose, como é o caso de Biluca et al. (2016) e Duarte et al. (2018) para méis do Brasil; Shamsudin et al. (2019) para méis da Malásia; e Chuttong et al. (2016) para méis da Tailândia; outros estudos encontraram valores representativos deste açúcar. No entanto, se considera que tanto a baixa quantidade de açúcares redutores quanto o elevado teor de sacarose nos méis de abelhas-sem-ferrão são uma característica particular de cada mel, onde os fatores associados a isso ainda não foram esclarecidos.

### 4.4 CAPACIDADE REDUTORA E ANTIOXIDANTE

#### 4.4.1 Compostos fenólicos

A análise de fenólicos totais foi realizado em microplacas com 96 poços, pelo método de Folin–Ciocalteu seguindo a metodologia de Al-Duais et al. (2009) e Müller et al. (2010) com algumas modificações por Bobo-Garcia et al. (2015). Um total de 20 µL de amostra diluída 1:10 em etanol 50% foram misturados com 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído 1:4 e agitado por 60 s em uma microplaca de 96 poços. A

mistura foi deixada por 240 s e em seguida foram adicionados 75  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio ( $100 \text{ g L}^{-1}$ ). A mistura foi agitada 2000 rpm por 1 minuto. Após 2 horas à temperatura ambiente, a absorvância foi medida em 750 nm usando o leitor de microplacas Thermo Scientific Espectrofotômetro Multiskan GO (ThermoFisher Scientific). A absorvância da mesma reação com água em vez do extrato ou padrão foi subtraído da absorvância da reação com a amostra. Foram utilizadas diluições de ácido gálico ( $10\text{--}200 \text{ mg L}^{-1}$ ) como padrões para calibração com coeficiente de correlação  $p < 0,01$ .

#### 4.4.2 Flavonoides totais

Primeiramente, para a determinação de flavonoides totais foi feita uma extração na amostra para retirada dos carboidratos (ÓSES, 2016). Os flavonoides totais foram extraídos seguindo o método descrito por Escriche, Kadar, Juan-Borrás e Domenech (2014).

As amostras de mel foram diluídas 1:10 em etanol 50% e posteriormente, o pH das soluções foi ajustado para 2,0 com HCl  $2 \text{ mol L}^{-1}$ . As soluções foram filtradas lentamente através de uma coluna com resina Amberlite XAD-2 (Supelco, Bellefonte, PA, EUA), pré-condicionado com metanol e água destilada. A coluna foi lavada com 250 mL de água acidificada (pH 2 com  $2 \text{ mol L}^{-1}$  HCl) e enxaguado com 300 mL de água destilada neutra para remover todos os carboidratos e outros compostos polares do mel e da própolis. Os flavonóides foram eluídos com 250 mL de metanol.

O teor de flavonóides totais foi determinado de acordo o método espectrofotométrico baseado na formação de complexos alumínio-flavonóides (PEKAL e PYRZYNSKA, 2015). O conteúdo total de flavonóides foi determinado em extratos metanólicos sem interferências dos carboidratos.

No procedimento 1 mL de extrato metanólico foi misturado com 1 mL de  $\text{AlCl}_3$  (2% p/v, em metanol). Após 10 minutos à temperatura ambiente, a absorvância foi lida a 415 nm contra uma amostra em branco consistindo de 1 mL de extrato metanólico com 1 mL de metanol sem  $\text{AlCl}_3$ . O padrão para a curva de calibração foi quercetina ( $2,5\text{--}200 \text{ mg mL}^{-1}$ ), expressando os resultados em mg de quercetina (Q)  $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra com coeficiente de correlação  $p < 0,01$ .

#### 4.4.3 Capacidade de eliminação do radical ABTS

A capacidade antioxidante foi avaliada aplicando-se o método espectrofotômetro, seguindo o procedimento recomendado por OLDONI et al., (2016) com algumas modificações por SALVADOR et al., (2019). O radical ABTS foi preparado com a adição de 5 mL de solução ABTS na concentração  $7 \text{ mmol L}^{-1}$  para 88  $\mu\text{L}$  de solução de persulfato de potássio na concentração  $140 \text{ mmol L}^{-1}$ , incubada a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  sem exposição luminosa por 12–16 h. Uma vez formado, o radical foi diluído com tampão fosfato de potássio na concentração  $75 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 7,4, até absorvância de  $0,700 \pm 0,01$  a 734 nm. Alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  de amostras diluídas 1:2 em etanol a 50% e 220  $\mu\text{L}$  de solução radical ABTS foram transferidas para poços da microplaca e misturados à temperatura ambiente no escuro. A absorvância foi lida a 734 nm após 6 min de reação, e o tampão fosfato de potássio foi utilizado como branco. Trolox foi utilizado como referência em concentrações variando de 12,5 a 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  com coeficiente de correlação  $p < 0,01$ . Os resultados foram expressos em  $\text{mmol TE } 100 \text{ g}^{-1}$ .

#### 4.4.4 Poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP)

A capacidade antioxidante foi determinada usando redução férrica poder antioxidante (FRAP), conforme descrito por BENZIE e STRAIN (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi preparado misturando 25 mL de tampão acetato, 2,5 mL de solução TPTZ e 2,5 mL de solução de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  das amostras diluídas 1:20 em etanol 50% foram misturadas com 30  $\mu\text{L}$  água destilada e 200  $\mu\text{L}$  de reagente FRAP e mantido a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 8 min. As leituras foram realizadas a 595 nm em leitor de microplacas. A curva analítica foi construída com sulfato ferroso em concentrações variando de 100 a 700  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Os resultados são expressos em  $\text{mM Fe}^{2+} 100 \text{ g}^{-1}$  com coeficiente de correlação  $p < 0,01$ .

### 4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

#### 4.5.1 Cepas bacterianas

Os ensaios foram realizados contra cepas bacterianas gram-positivas

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus subtilis* IBSBF 809, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e gram-negativa *Escherichia coli* ATCC 25922 . Todas as cepas foram armazenados a uma temperatura de -20 °C em Brain Heart Caldo de infusão (BHI) (OxoidVR) contendo 20% (v/v) glicerol (MerckVR).

#### 4.5.2 Concentração inibitória mínima (CIM)

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) para cada amostra foram determinadas seguindo o documento Clínico e Diretrizes do Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020), através do método de microdiluição utilizando placas de polipropileno de 96 poços. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Diferentes concentrações de soluções de mel foram preparadas por duas vezes na diluição seriada em caldo MH (Mueller Hinton) (DifcoVR), e a cepa bacteriana analisada foi suspensa em solução salina estéril (concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>). Amostras de suspensão foram transferidos para microtubos contendo caldo MH (DifcoVR). Desses microtubos, alíquotas foram plaqueados nos poços contendo mel (concentração de  $7,5 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>). As concentrações das amostras testadas variaram de 1,25% a 20% (v/v) para os meios adicionados com Exp.

Também foram preparados poços sem soluções de mel para controle de viabilidade bacteriana e poços sem bactérias para controle de esterilidade. As placas de 96 poços foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação os valores de densidade óptica em 600 nm foram determinados usando um leitor de microplacas Bio-Rad (modelo 3550).

#### 4.5.3 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB)

Para a determinação da CBM, após 24 h de incubação dos microrganismos, os poços que não apresentaram turvação foram homogeneizados e inoculados em placas de Petri contendendo ágar Mueller Hinton (MH). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h para posterior avaliação. A menor concentração que não apresentou nenhum crescimento microbiano foi considerada a CBM.

#### 4.5.4 Curva de crescimento bacteriano (*Time-kill*)

Foi realizado o ensaio da curva de crescimento tempo-resposta para avaliar a cinética bacteriana sob exposição ao mel e com concentrações ExP. A Cepa bacterianas *S. aureus* ATCC 29213 foi utilizada, e a metodologia deste ensaio foi realizada de acordo com os padrões descritos pelo Comitê Nacional de Padrões de Laboratórios Clínicos (NCCLS, 1999).

Após crescimento em ágar MH (DifcoVR) e suspensão de colônias bacterianas em solução salina, culturas bacterianas foram preparados inoculando  $5 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup> da solução em microtubos contendo caldo MH (DifcoVR) em diferentes condições como: controle de crescimento (caldo MH sem mel), caldo MH contendo amostra de mel com ExP (0,25; 0,50 e 0,75%) 25% (v/v), caldo MH contendo amostra de mel com ExP (0,25; 0,50 e 0,75%) (v/v) em 12,5% (v/v) e caldo MH contendo amostra de mel com ExP (0,25; 0,50 e 0,75%) (v/v) em 2,5% (v/v).

Os microtubos foram incubados a uma temperatura de 37°C com agitação constante por 24 horas. Em seis momentos (0, 2, 5, 7, 10 e 24 h) após a incubação, alíquotas de cada amostra foram coletados e diluídos em série dez vezes em microtubos com caldo MH (DifcoVR). Três alíquotas de 50 mL de cada microtubo foram inoculados em placas meio de ágar MH (DifcoVR). Por fim, as placas foram incubadas a 37 °C por 18 h e as colônias foram contadas para todas diluições e tratamentos.

## 4.6 ANÁLISE SENSORIAL

### 4.6.1 Análise Descritiva Quantitativa

As análises sensoriais foram realizadas por 10 indivíduos previamente treinados com méis de abelha-sem-ferrão, conforme projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina pelo parecer número 1.124.653 (CAAE: 46195515.9.0000.5231), seguindo o modelo de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). O treinamento prévio dos provadores consistiu no recrutamento de 22 voluntários via contato pessoal, dentre alunos, funcionários e docentes do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do CCA/UEL. Após esclarecimento sobre o teste, àqueles que aceitaram participar foi

solicitado a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo A) e que respondessem um questionário para obtenção de informações sobre cada um (interesse, disponibilidade de tempo para realização dos testes, saúde, frequência de consumo do produto a ser avaliado e facilidade de expressão) (Anexo B) (RIBEIRO, 2018).

Os voluntários foram pré-selecionados com base nos seus desempenhos em testes de reconhecimento de odores e gostos básicos. No teste de reconhecimento de odores, os voluntários foram solicitados a descrever 14 odores diferentes (Anexo C). O critério de seleção foi acerto mínimo de 70%. Para reconhecimento dos gostos básicos, os voluntários receberam 30 mL de cada uma das seguintes soluções aquosas: sacarose 2%, ácido cítrico 0,07%, cloreto de sódio 0,2%, cafeína 0,07%, monoglutamato de sódio 0,035%. Foram solicitados a identificá-los, e o critério de seleção foi 100% de acerto (Anexo D).

Após esta etapa, foi realizado o levantamento dos termos descritores (atributos) do mel pelos julgadores pré-selecionados empregando-se o método de rede (MOSKOWITZ, 1983) (Anexo E) e por meio de consenso entre os julgadores foram escolhidos os descritores mais citados que compuseram a análise (Anexo F).

Os julgadores em consenso definiram os atributos levantados, sugeriram as amostras de referência qualitativa e quantitativa e elaboraram a ficha de avaliação (Anexo F). Os critérios de seleção de cada julgador foram o poder de discriminação de amostras ( $p$  de  $F_{amostra} \leq 0,05$ ), repetibilidade de avaliação ( $p$  de  $F_{repetições} \geq 0,5$ ) e a concordância de cada julgador com a equipe por atributo. A concordância foi avaliada por meio de comparação das médias das amostras obtidas para cada julgador com as médias da equipe (DAMÁSIO; COSTELL, 1991). Foram considerados treinados 13 julgadores, destes, 10 fizeram parte da equipe avaliadora para a análise sensorial.

#### 4.6.2 Equipe de Avaliação Sensorial Treinada

Os julgadores treinados foram convidados a assinar um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A), que foi disponibilizado via eletrônica.

Foi realizado um novo levantamento de termos para as amostras de mel com extrato de própolis, em uma sessão, na qual a equipe adicionou novos atributos

sensoriais (Anexo G e F). As amostras e as fichas foram enviadas para os julgadores via correio, de modo, que os protocolos sanitários visando a segurança frente ao período da pandemia contra a COVID-19 foram respeitados. Todas as sessões foram realizadas por via remota.

#### **4.7 TRATAMENTO DOS DADOS**

Os dados das análises físico-químicas e antioxidantes foram tratados por análise de variância (ANOVA) com um fator (amostras). Em relação aos dados das análises sensoriais descritivas, por ANOVA, com dois fatores e interação (amostras x julgadores). As médias obtidas em triplicatas foram comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância, empregando o software Statistica 10.0. Os dados da análise descritiva quantitativa foram avaliados pela análise de componente principal (ACP), utilizando o *software* PaSt – Palaeontological Statistics.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

#### 5.1.1 Perfil de sólidos solúveis (°Brix) e carboidratos

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos para as determinações de sólidos solúveis, sacarose e açúcares redutores. O resultado obtido para açúcares redutores para o mel foi  $64,24 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  e estes valores estão de acordo com a literatura. Em 2019, Santos estudando também os méis da espécie *Scaptotrigona bipunctata* obteve uma média  $60,80 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  neste parâmetro. De Oliveira e Costa Santos (2011) em estudo realizado com oito amostras de mel de *S. Bipunctata* encontraram valores oscilando entre 58,14 e  $61,35 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  com média de  $60,01 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Resultados de Sólidos Solúveis , Sacarose e Açúcares Redutores nas amostras de mel sem e com ExP

Parâmetros	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
Açúcares Redutores( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	$64,24 \pm 0,38^a$	$64,37 \pm 0,52^a$	$64,09 \pm 0,57^a$	$63,13 \pm 0,26^b$
Sacarose ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	nd	nd	nd	nd
Sólidos Solúveis (°Brix)	$71,17 \pm 0,30^a$	$70,91 \pm 0,06^b$	$70,91 \pm 0,04^b$	$70,94 \pm 0,02^b$

Média de três medidas  $\pm$  Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor

Ao observar os tratamentos (amostra de mel com ExP) constatou-se que amostra de mel 0,75% ExP apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Isto pode ser explicado pelo fato de ter sido diluída a amostra inicial. Na literatura este tipo de produto (mel adicionado de ExP) é escasso o que dificulta a comparação entre outras pesquisas. Alguns trabalhos encontrados tratam apenas mel da abelha *Apis mellifera*.

A sacarose não foi detectada nas amostras estudadas, outros trabalhos reportam (RIBEIRO, 2018; SOUSA et al, 2016) a não presença da sacarose. É

possível inferir que este açúcar seja hidrolisado uma vez que o mel de abelha-sem-ferrão tenha característica ácida.

Os valores de sólidos solúveis (°Brix) do mel com e sem ExP em todas concentrações variaram de 70,94 a 71,17 g 100g<sup>-1</sup>. O valor de sólidos solúveis na amostra do mel foi de 71,17, no entanto, as demais amostras com ExP tiveram menores valores e apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). Sólidos solúveis expresso em grau Brix (°Brix) é um parâmetro que indica a quantidade, em gramas, dos sólidos que se encontram dissolvidos na água de um alimento (USMAN et al., 2011). Existe uma correlação negativa entre o grau Brix e o teor de umidade no mel. Assim, o menor teor de sólidos solúveis em méis de *Melipona* pode estar relacionado com um conteúdo de água mais elevado quando comparado com mel de *Apis mellifera* (SOUSA et al., 2016). No caso do produto elaborado a partir da mistura de mel com o ExP pode-se supor que a interação da cadeia carbônica dos compostos como a resina e ceras da própolis interagiram inter-moléculas de maneira hidrofóbica com as porções apolares da glicose e frutose tornando estes menos disponíveis para interagir com as moléculas de água presente no mel. Isto pode ter causado o efeito de diminuição no valor total de sólidos solúveis.

### 5.1.2 Acidez total titulável e pH

As amostras de mel da abelha *Scaptotrigona bipunctata* sp. (tubuna) variaram entre 93,48 e 97,66 meq kg<sup>-1</sup> para acidez total (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultados de acidez total titulável e pH nas amostras de mel sem e com ExP

Parâmetros	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
Acidez Total Titulável (mEq kg <sup>-1</sup> )	97,66 ± 0,35 <sup>a</sup>	97,58 ± 0,71 <sup>a</sup>	97,06 ± 1,54 <sup>a</sup>	93,48 ± 1,32 <sup>b</sup>
pH	4,04 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,99 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,99 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,06 <sup>a</sup>

Média de três medidas ± Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor

Lira et al. (2014) em seu estudo com oito amostras de mel da espécie *Scaptotrigona sp.* obtiveram média de 81,01 mEq kg<sup>-1</sup> no parâmetro acidez total. Já De Oliveira e Da Costa Santos (2011) analisaram também oito amostras de mel da abelha espécie *Scaptotrigona sp.* e obtiveram acidez média de 38,57 mEq kg<sup>-1</sup>. Souza et al. (2016) relataram que mel de abelha-sem-ferrão no Brasil de diferentes fontes florais e/ou espécies apresentaram valores de acidez variando de 17,9 a 86,8 mEq kg<sup>-1</sup>. Nas amostras estudadas foi possível observar que os teores de acidez total titulável foram maiores do que os trabalhos citados. A acidez em mel pode indicar também a ocorrência de fermentação dos açúcares em condições propícias de umidade e atividade de água resultando no aumento de acidez (RIBEIRO, 2018).

Já para a amostra de mel adicionado com ExP a 0,75% obteve-se um valor menor comparado aos outros tratamentos com diferença significativa de  $p \leq 0,05$ . O valor da acidez corresponde aos ácidos do mel que estão dissolvidos em solução aquosa e produzem íons de hidrogênio que promovem a sua acidez ativa. Entretanto, como foi citado anteriormente o ExP é um produto hidrofóbico, logo os ácidos presentes no mel podem não ter sido dissolvidos completamente para produzirem íons de hidrogênio diminuindo o seu valor de acidez para esta amostra de mel adicionado de ExP a 0,75%.

A faixa de pH encontrada nas amostras do estudo foram 3,99 - 4,05. Biluca et al. (2016) relataram valores de pH de 3,3 a 6,6 e Chuttong et al. (2016) encontraram valores de pH de 3,1 a 3,9 para méis de abelhas-sem-ferrão. Esses valores são os mesmos estabelecidos como padrões de mel de *A. Mellifera*. As substâncias mandibulares das abelhas-sem-ferrão, como enzimas (proteases, lipases e lactases) e proteínas que são adicionadas ao néctar durante o transporte da colméia podem alterar o pH do mel o que explica a mesma faixa de valores de pH do mel de abelha-sem-ferrão e da *A. Mellifera* (ELIAS-SANTOS et al., 2013).

### 5.1.3 Umidade e atividade de água

A tabela 3 apresenta resultados de umidade e atividade de água.

**Tabela 3.** Resultados de umidade e atividade de água nas amostras de mel e com Exp.

Parâmetros	Mel sem Exp	Mel com Exp 0,25% m/m	Mel com Exp 0,50% m/m	Mel com Exp 0,75% m/m
Umidade (g 100g <sup>-1</sup> )	27,28 ± 0,15 <sup>a</sup>	27,55 ± 0,06 <sup>b</sup>	27,55 ± 1,54 <sup>b</sup>	27,50 ± 0,00 <sup>b</sup>
Atividade de água (A <sub>w</sub> )	0,759 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,759 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,756 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,751 ± 0,00 <sup>a</sup>

Média de três medidas ± Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor

Muitos estudos constataam que o mel das abelhas nativas apresenta um maior teor de umidade quando comparado com o mel das abelhas *Apis mellifera*. Este teor de água é atribuído à baixa taxa de desidratação do nectar durante o processo de transformação em mel (RIBEIRO, 2018). Pode-se observar que neste trabalho os valores variaram entre 27,06 e 27,55 g 100 g<sup>-1</sup>. O mesmo foi verificado por Santos (2019) em mel de abelhas da espécie *Scaptotrigona* com valores de teor de umidade na faixa de 14,3 – 20,5 g 100 g<sup>-1</sup>.

É sabido que a atividade de água (A<sub>w</sub>), ao contrário do conteúdo de umidade de um alimento indica a disponibilidade de água para que ocorram reações deteriorantes. A perecibilidade do alimento é resultante do crescimento de microrganismos, atividade enzimática e reações químicas e depende da presença de água. Os resultados obtidos no estudo apresentaram valores de A<sub>w</sub> em torno de 0,75, teor este propício para o crescimento microbiano de bactérias, fungos e leveduras.

Os melis das abelhas nativas, devido ao menor poder edulcorante (teor de açúcar redutor) e maior umidade, exigiria maiores níveis de cautela durante a colheita, refrigeração, pasteurização ou submissão à desumidificação para garantir uma vida útil elevada. Além disso, se refrigerado, a cristalização pode ocorrer ao longo do tempo; (isso não seja um problema nutricional, pode representar um problema na percepção sensorial dos consumidores). O processo de pasteurização e desumidificação reduz o teor de água presente, mas pode ser responsável pela perda ou redução do sabor do mel (SILVA et al., 2009).

#### 5.1.4 Hidroximetilfurfural (HMF)

O teor de HMF (tabela 4) nas amostras de méis variou de 0,52 a 1,25 mg kg<sup>-1</sup> não ocorrendo diferença significativa. Os valores típicos de mel não processado estão de acordo com os limites padrão para o mel de *Apis mellifera* de 60 mg kg<sup>-1</sup> (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001). Santos (2019), para os méis das espécies de *Scaptotrigona* (mandaguari e tubuna) relataram no trabalho desenvolvido para o parâmetro HMF valores entre 4 e 38 mg kg<sup>-1</sup> com média de 14,50 mg kg<sup>-1</sup> para Mandaguari, enquanto para Tubuna valores oscilando entre 9 e 37 mg kg<sup>-1</sup> com média de 21,25 mg kg<sup>-1</sup>. De Oliveira e Da Costa Santos (2011) constataram valor médio de 4,85 mg kg<sup>-1</sup> para o HMF em 8 amostras de mel de tubuna.

**Tabela 4.** Resultados de HMF nas amostras de mel e com ExP.

Parâmetro	Mel sem	Mel com ExP	Mel com Exp	Mel com Exp
	ExP	0,25% m/m	0,50% m/m	0,75% m/m
HMF (mg kg <sup>-1</sup> )	0,85 ± 0,83 <sup>a</sup>	1,25 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,39 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,16 <sup>a</sup>

Média de três medidas ± Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor.

Segundo Vieira (2023), o HMF é um aldeído cíclico que se origina majoritariamente por desidratação da frutose em meio ácido, processo que está intimamente ligado ao grau de envelhecimento ou ao processamento que envolve o aumento de temperatura. Trata-se então de um parâmetro que dá suporte à verificação do superaquecimento, estocagem inadequada, e adulteração com açúcar comercial (xarope de milho ou de beterraba), tendo o mel, portanto, valor nutricional alterado, podendo ocorrer perda de alguma enzima, como a glicose oxidase. O teor de HMF é um parâmetro utilizado para controlar o tratamento térmico limitante para a pasteurização do mel, pois é uma característica resultante da transformação dos açúcares do mel à medida que este é aquecido acima de 70°C ou armazenado por longo tempo em temperaturas elevadas (DE SOUZA FREITAS et al., 2010).

De Sousa et al. (2016) analisaram amostras frescas em méis de abelhas nativas e não detectaram HMF. Segundo Biluca et al. (2014), nenhuma das treze

amostras avaliadas pelo seu grupo apresentou HMF detectável, sugerindo que a aplicação de uma temperatura em torno de 60 a 70°, por um curto período de tempo poderia ser eficaz para prolongar a vida útil sem aumentar o HMF. Logo, a temperatura utilizada nesta pesquisa, na pasteurização, inferiores a 70°C, preservou as características naturais e nutricionais do mel quando observado pelo parâmetro do HMF.

### 5.1.5 Cor

A cor do mel é considerada um parâmetro de qualidade, de preferência e aceitação entre os consumidores. Na Tabela 5 são mostrados os parâmetros de cor das amostras de méis de abelhas-sem-ferrão com e sem extrato de propolis. Dentre os parâmetros avaliados, as amostras mel e com extrato de propolis, se diferiram para o parâmetro de luminosidade ( $L^*$ ) o mesmo ocorreu nos componentes de cor  $a^*$ , e  $b^*$ .

**Tabela 5.** Resultados de cor pelo sistema CIELAB nas amostras de mel com e sem ExP.

Parâmetros	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
$L^*$	49,82 ± 0,03 <sup>a</sup>	43,40 ± 0,09 <sup>b</sup>	43,37 ± 0,22 <sup>b</sup>	38,75 ± 0,20 <sup>c</sup>
$a^*$	1,86 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,39 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,18 ± 0,03 <sup>c</sup>	2,14 ± 0,03 <sup>c</sup>
$b^*$	27,94 ± 0,01 <sup>a</sup>	22,21 ± 0,13 <sup>b</sup>	22,93 ± 0,20 <sup>b</sup>	17,64 ± 0,48 <sup>c</sup>

Média de três medidas ± Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

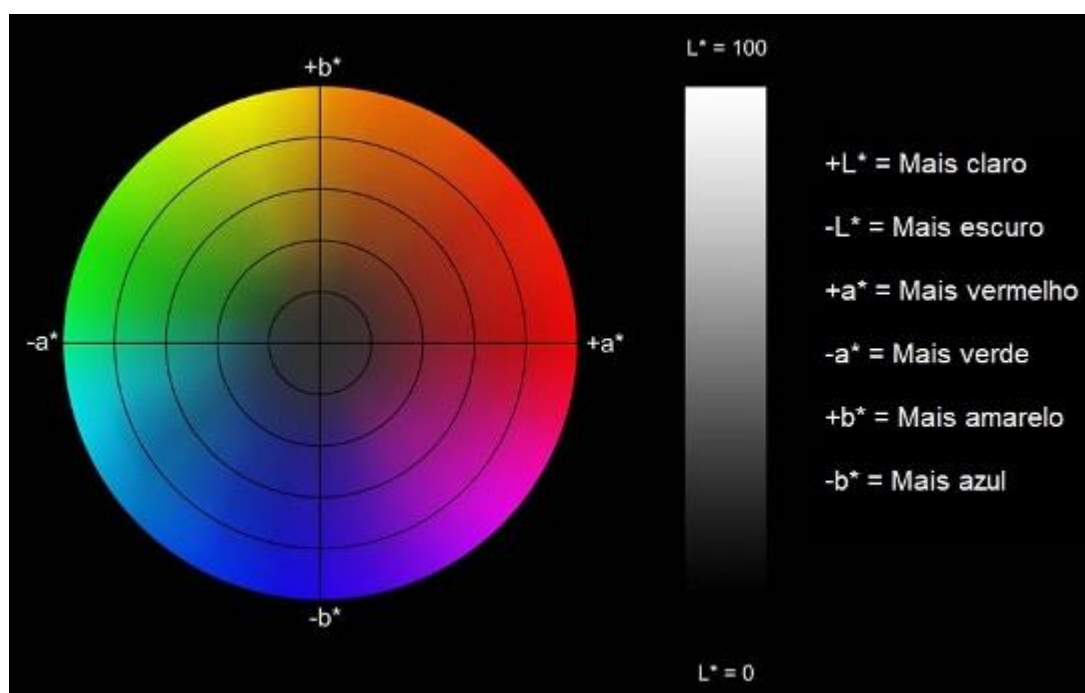
**Fonte:** o próprio autor.

Karabagias et al., (2017) avaliaram trinta e sete amostras de méis cítricos de quatro países, sendo eles: Egito, Grécia, Marrocos e Espanha. Ao avaliar os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), os autores obtiveram resultados distintos para o parâmetro de luminosidade  $L^*$  e de componentes amarelos  $b^*$ , quando comparado ao atual estudo. Entretanto, para o parâmetro  $a^*$  ambas as pesquisas mostraram valores semelhantes. Karabagias et al., (2017) encontraram valores próximos a  $\pm 2,70$ . Esse

fato torna-se interessante, porque esses resultados podem indicar que os méis de abelhas-sem-ferrão possuem pigmentos de cor verde na composição, semelhantes aos méis cítricos analisados por Karabagias et al., (2017).

Os resultados ilustrados na Tabela 5 indicam que as amostras com ExP possuem cor mais escura. Por meio do sistema CIELAB (figura 6) pode-se denominá-las como âmbar claro a escuro. A amostra mel exibiu menor intensidade de cor, sendo classificadas como extra âmbar claro, devido a maior intensidade de coloração amarela. A amostra com extrato da própolis 0,75% foi a que mais se diferiu para os parâmetros avaliados ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) expondo coloração próxima a amarelo esverdeado. Essas classificações foram definidas a partir da interpretação do sistema CIELAB, Figura 6.

**Figura 6.** Sistema CIELAB



**Fonte:** CTBORRACHA/COLORIMETRIA, 2024

## 5.2 CAPACIDADE REDUTORA E ANTIOXIDANTE

### 5.2.1 Compostos fenólicos totais

A Tabela 6 mostra os resultados dos fenólicos totais das amostras de mel com

e sem ExP. A amostra de mel com ExP 0,75% apresentou diferença significativa foi com 0,75% ExP. Os valores obtidos ficou entre 24,71 a 31,44 mg ácido gálico (AG) 100 g<sup>-1</sup>. Outros pesquisadores (OSÉS et al , 2016) encontraram valores mais altos entre 79,67 e 103,48 mg AG 100 g<sup>-1</sup> em méis de *Erica sp.* e *Calluna vulgaris* (plantas da família Ericaceae) e *Castanea sativa* (arbusto castanheira) com adição de 0,1, 0,3 e 0,5% do ExP. No entanto, outros autores descreveram valores fenólicos totais mais baixos; Beretta et al(2005) encontraram uma média de 17,04 mg AG 100 g<sup>-1</sup> em méis multiflorais, e 21,12 mg AG 100 g<sup>-1</sup> em méis de *Castanea sativa*.

**Tabela 6.** Resultados compostos fenólicos totais e flavonoides nas amostras de mel e com ExP.

Parâmetros	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
Fenólicos totais (mg ácido gálico 100 g <sup>-1</sup> )	24,71 ± 0,45 <sup>a</sup>	25,34 ± 0,89 <sup>a</sup>	26,13 ± 1,12 <sup>a</sup>	31,44 ± 1,04 <sup>b</sup>
Flavonoides (mg quercertina 100 g <sup>-1</sup> )	5,77 ± 0,63 <sup>a</sup>	5,85 ± 0,93 <sup>a</sup>	5,91 ± 1,14 <sup>a</sup>	6,35 ± 1,07 <sup>b</sup>

Média de três medidas ± Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor

Kus' et al. (2017) relatam que a média de fenólicos para méis de *Erica sp.* e *Calluna vulgaris* foi de 30,62 mg AG 100 g<sup>-1</sup>, resultado que é semelhante aos obtidos para fenólicos totais em mel com ExP neste trabalho. À adição do ExP aos méis promoveram um aumento na quantidade de fenólicos totais quando comparados com as amostras do mel. Estes resultados concordam com os obtidos por Juszczyk et al. (2016) que também relataram maior teor de fenólicos totais no mel com ExP em comparação com mel, embora seus valores tenham sido inferior aos dados deste estudo.

No trabalho realizado por Biffi et al (2021) com 38 amostras de méis de abelhas *Scaptotrigona bipunctata*, as concentrações variaram de 43,00 a 100,0 mg AG 100 g<sup>-1</sup>. Biluca et al. (2016), estudou diferentes amostras de mel de várias espécies de abelhas-sem-ferrão do estado de Santa Catarina e obtiveram um teor de compostos fenólicos totais que variou de 10,3 a 98,0 mg AG 100 g<sup>-1</sup>. Estudos semelhantes

realizados por Silva et al. (2013) para méis de abelha-sem-ferrão, oriundos da Paraíba e da Amazônia, apresentaram valores de 1,3 a 66,0 mg AG 100 g<sup>-1</sup>. As diferentes espécies, origens botânicas e geográficas, podem explicar a variação. Além disso, cada colônia tem um comportamento diferente e uma produção específica.

O conteúdo de flavonóides totais das amostras variaram em média 5,77 a 6,35 mg quercetina (Q) 100 g<sup>-1</sup>. Em estudos realizados por Osés (2016) com mel de *Apis mellifera* multiflora adicionado de ExP nas concentrações 0,1, 0,3 e 0,5%, apresentaram resultados inferiores aos obtidos neste estudo, mostrando uma média de 2,39 mg Q 100 g<sup>-1</sup>. Outro trabalho realizado na Polônia para mesma variedade de mel com adição do própolis, obtiveram valores entre 7,47 a 25,20 mg Q 100 g<sup>-1</sup> (JUSZCZAK et al, 2016).

Uma pesquisa realizada com mel de abelhas da mesma espécie deste trabalho, e colhido em várias épocas do ano mostrou valores maiores de flavonoides que variaram 2,45 a 14,28 mg Q 100 g<sup>-1</sup> (BIFFI et al, 2021). A origem botânica pode influenciar na composição de teores flavonoides presentes no mel o que explica a ampla faixa de variação.

Para Sant'Ana et al. (2012) quanto maior a quantificação destes compostos bioativos, mais escura será a cor do mel, portanto mostrando que existe uma correlação entre a cor e essas substâncias. Concordando com Sant'Ana (2012), pode-se verificar neste estudo que as amostras com ExP, conforme a quantidade adicionada no mel, apresentaram cor mais escura e também maior teor compostos bioativos. Portanto, pode-se observar junto a outros trabalhos que as diferentes espécies, origens botânicas e geográficas, podem explicar a variação do conteúdo de compostos bioativos (DO NASCIMENTO et al, 2021; BIFFI et al, 2021; BILUCA et al 2016).

#### 5.1.2 Atividade Antioxidante pela Captura do Radical-Cátion (ABTS.+) e Método de Redução do Íon Férrico (FRAP)

A atividade antioxidante do mel e com ExP variou entre 304,80 e 446,80 mM Fe<sup>2+</sup> 100 g<sup>-1</sup>, pelo método FRAP (Tabela 7). Como esperado, a atividade antioxidante aumentou com a quantidade de ExP adicionado apresentando diferenças significativa ( $p > 0,05$ ) entre eles. Um estudo realizado com mel suplementado com diferentes

produtos apícolas (geleia real, pão de abelha, própolis e cera) apresentou atividades antioxidantes pelo método FRAP em amostra de mel adicionado com ExP, os valores variaram entre 424,05 a 976,23  $\mu\text{M } 100 \text{ g}^{-1}$  (JUSZCZAK et al, 2015), valores inferiores aos obtidos neste estudo. Outro estudo realizado por Óses (2016) com amostras de méis adicionados de ExP nas proporções 0,1, 0,3 e 0,5% apresentaram atividade antioxidante pelo método ABTS variando de 131,64 a 470,94  $\mu\text{M } 100 \text{ mL}^{-1}$  mostrando também resultados inferiores aos encontrados neste trabalho.

**Tabela 7** – Resultados atividades antioxidantes pelo métodos FRAP e ABTS nas amostras de mel com e sem ExP.

Parâmetros	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
FRAP (mM $\text{Fe}^{2+} 100 \text{ g}^{-1}$ )	304,80 $\pm$ 11,31 <sup>a</sup>	348,80 $\pm$ 5,66 <sup>b</sup>	372,80 $\pm$ 5,66 <sup>b</sup>	446,80 $\pm$ 8,49 <sup>c</sup>
ABTS (mM TE $100 \text{ g}^{-1}$ )	191,91 $\pm$ 3,43 <sup>a</sup>	209,48 $\pm$ 2,57 <sup>b</sup>	222,19 $\pm$ 1,71 <sup>c</sup>	261,56 $\pm$ 0,86 <sup>d</sup>

Média de três medidas  $\pm$  Desvio Padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte:** o próprio autor.

Em 2019, uma pesquisa realizada para determinação de parâmetros em mel de abelhas-sem-ferrão determinou atividades antioxidantes em méis da abelha de espécie *Scaptotrigona bipunctata* valores entre 11,35 a 34,73  $\mu\text{M TE kg}^{-1}$  (ÁVILA et al, 2019). Os antioxidantes podem responder de uma maneira distinta à diferentes fontes de radicais ou oxidantes e nenhum ensaio único refletirá com precisão todas as fontes radicais ou todos os antioxidantes em um sistema misto ou complexo (ÁVILA et al, 2019). Além disso, Sancho et al. (2016) evidenciaram que os valores de mel *in natura* foram superiores aos extratos de mel, utilizando o ensaio espectrofotométrico de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante equivalente a Trolox. No entanto, os resultados deste trabalho avaliaram amostras de méis por dois ensaios antioxidantes (FRAP e ABTS), usando amostras de méis isentas de carboidratos a fim de evitar a interferência dos açúcares, e podendo superestimar resultados, como no caso do mel *in natura* (HUANG et al., 2005).

## 5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

### 5.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CMB).

As Tabelas 8 e 9 apresentam os cinco microrganismos patogênicos avaliados que revelaram sensibilidade ao mel independente da concentração de ExP adicionado. Os valores observados foram de 1,25%, 2,5% e 5%, para o teste bacteriostático de Concentração Inibitória Mínima (CIM), e 1,25%, 2,5%, 5%, 10% e 20% para Concentração Mínima Bactericida (CMB). Basualdo et al. (2007) mostraram em seu estudo que o efeito antimicrobiano do mel depende da concentração deste utilizado e da natureza da bactéria. No presente estudo, diferentes concentrações de mel foram utilizadas para determinar a zona de inibição e a CIM de mel que inibiu o crescimento de bactérias. Além disso, outros estudos como este utilizaram água destilada para obter diversas concentrações volume/volume de mel (BOORN et al, 2010; NOORI, AL et al., 2013; NISHIO et al., 2016).

**Tabela 8** . Resultados concentração inibitória mínima (% , CIM) nas amostras de mel com e sem ExP contra bactérias gam-negativas e gram-positivas

<b>Cepas Bacterianas</b>	<b>Mel sem ExP</b>	<b>Mel com ExP 0,25% m/m</b>	<b>Mel com ExP 0,50% m/m</b>	<b>Mel com ExP 0,75% m/m</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25% <sup>a</sup>	1,25% <sup>a</sup>	1,25% <sup>a</sup>	1,25% <sup>a</sup>
<i>Echirichia coli</i> ATCC 25922	2,5% <sup>a</sup>	2,5% <sup>a</sup>	5,0% <sup>b</sup>	5,0% <sup>b</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	10,0% <sup>b</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> IBSBF 809	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>	5,0% <sup>a</sup>

**Fonte:** o próprio autor

**Tabela 9.** Resultados concentração mínima bactericida (% CMB) nas amostras de mel com e sem ExP contra bactérias gam-negativa e gram-positiva

Cepas Bacterianas	Mel sem ExP	Mel com ExP 0,25% m/m	Mel com ExP 0,50% m/m	Mel com ExP 0,75% m/m
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2,5%	2,5%	1,25%	1,25%
<i>Echirichia coli</i> ATCC 25922	10,0%	10,0%	5,0%	10,0%
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	10,0%	10,0%	10,0%	20,0%
<i>Bacillus subtilis</i> IBSBF 809	20,0%	20,0%	20,0%	20,0%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	10,0%	10,0%	10,0%	10,0%

**Fonte:** o próprio autor

Em relação às amostras sem o ExP e as três diferentes concentrações (0,25%, 0,50% e 0,75%), apresentaram propriedades antimicrobianas semelhantes, sem diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). As amostras com 0,50 e 0,75% com ExP contra as bactérias *E.coli* e *L. monocytogenes* apresentaram maior atividade antimicrobiana em 0,25% do que 0,75%. O microrganismo mais sensível foi *S. aureus*, enquanto os mais resistentes foram *L. monocytogenes* e *B. subtilis*. Outros pesquisadores obtiveram maiores halos contra essas bactérias, embora usassem concentrações superiores de ExP.

No trabalho realizado por Osés et al (2016) foi adicionado aos meis ExP em três concentrações (0,1%, 0,3% e 0,5%), no qual mostrou que a atividade antifúngica e antibacteriana aumentou drasticamente. No entanto no mesmo trabalho, os produtos elaborados com méis de castanha e multifloral não apresentaram atividades antibacterianas contra *Lactobacillus plantarum* e *Pseudomonas aeruginosa*. Neste estudo, microrganismos mais sensíveis foram *S. aureus*, enquanto os mais resistentes foram *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans* e *Echirichia coli*. Os resultados deste trabalho estão de acordo com outros estudos, no qual *S. aureus*, mostrou-se mais sensível ao mel do que outros microrganismos. Em

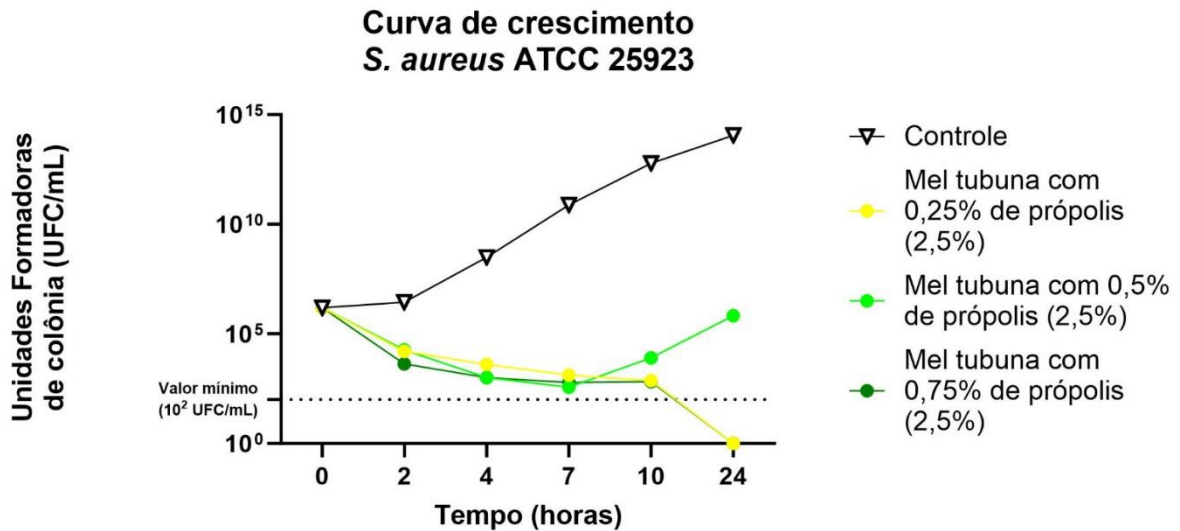
contrapartida, as amostras de mel do presente estudo foram mais eficientes contra *E. coli* em comparação aos valores encontrados na literatura, pois a sensibilidade contra esta bactéria foi maior do que em bactérias gram-negativas, descritas pelos pesquisadores como as mais resistentes ao mel (NOORI et al, 2013; SHERLOCK et al, 2010).

Em relação a Concentração Bactericida Mínima (CBM), foram observados que nas amostras estudadas os resultados foram semelhantes ao CIM. Osés et. al. (2016) e Bortoti (2020), analisaram a atividade bactericida de amostras de mel de diferentes localidades, verificaram para CIM e CBM entre 10% a 50% em relação microrganismo *S. aureus*. Resultados inferiores ao desse experimento que os valores para CIM foi de 1,25 % à 10% e CBM de 1,25 % à 20 % na região coletada.

Foi observado neste estudo que a maioria dos microrganismos não apresentou aumento na atividade antimicrobiana nos méis com adição do ExP em comparação ao mel sem adição do extrato. Esses resultados foram bem diferentes que aqueles obtidos em outros estudos, nos quais os méis mostraram altas atividades antimicrobianas (FIDALEO, ZUORRO, LAVECCHIA, 2011; SHERLOCK et al, 2010). As diferenças provavelmente se devem a composição do mel e origens botânicas. Os locais onde as abelhas-sem-ferrão armazenam seu mel são compostos principalmente de cera, compostos antimicrobianos cuticulares e própolis, que compreendem uma ampla variedade de resinas vegetais (ODDO et al., 2008; ABD JALIL et al., 2017). Conseqüentemente, os méis desta espécie tem uma exposição mais significativa à própolis, apresentando assim maiores possibilidades de saturação com compostos antimicrobianos derivados de plantas (EWNETU et al., 2013), o que pode explicar as razões dos resultados semelhantes das amostras de mel e com ExP adicionado.

### 5.2.3 Curva de crescimento (*Time-kill*)

**Figura 7.** Curva de crescimento *Staphylococcus aureus* ATCC25923



A curva de crescimento de *S. aureus* (Figura 7) variaram entre diferentes tratamentos em função do tempo. Depois de quatro horas de incubação, populações bacterianas com ExP apresentaram valores de UFC menores a amostra de mel sem ExP. As amostras com 0,50% e 0,75% com ExP apresentou menor contagem de UFC do que a amostra com 0,25%, nas quatro primeiras horas de incubação, mostrando uma taxa de crescimento mais lenta do que a população bacteriana da amostra sem ExP e com 0,25%. Quanto a presença de ExP, observa-se que nas contrações menores não tiveram um grande efeito no CIM/CBM, mas seu efeito é aparente na curva. As curvas de *S. aureus* contra as amostras tiveram uma redução mais acentuada nos tempos (10 e 24 horas) mesmo com contrações menores de ExP.

## 5.3 ANÁLISE SENSORIAL

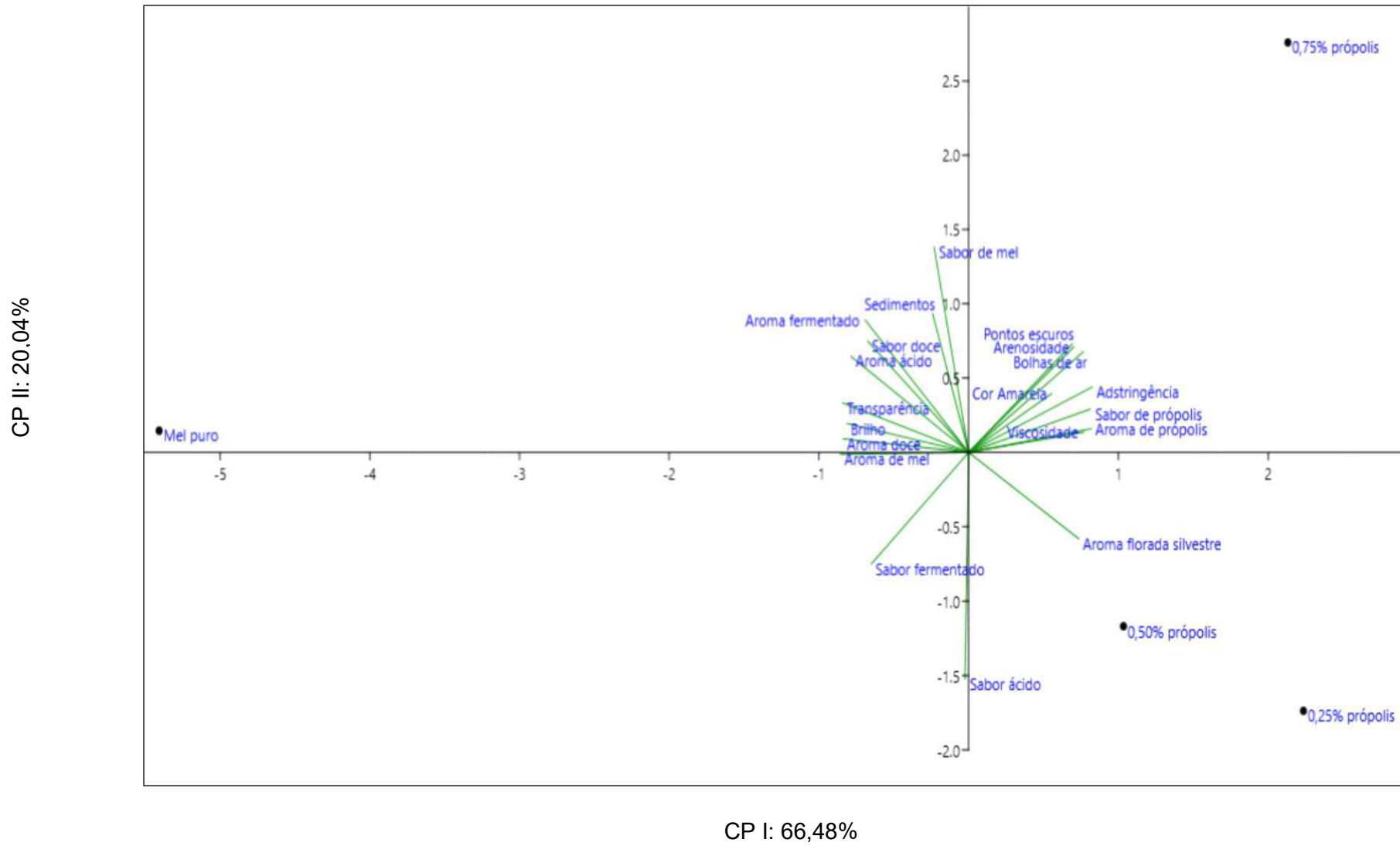
### 5.3.1 Análise Descritiva Quantitativa

Os dados obtidos da análise sensorial descritiva dos méis dos três tratamentos foram submetidos à análise de componentes principais, que permite visualizar as relações entre as amostras e os atributos que melhor caracterizam cada uma (Figuras 8 e 9). A primeira componente principal (CPI) explicou 66,48% da variação total das variáveis originais, a segunda componente (CPII) explicou 20,04%, e a terceira (CPIII), 13,47%, totalizando 100,00% de explicação.

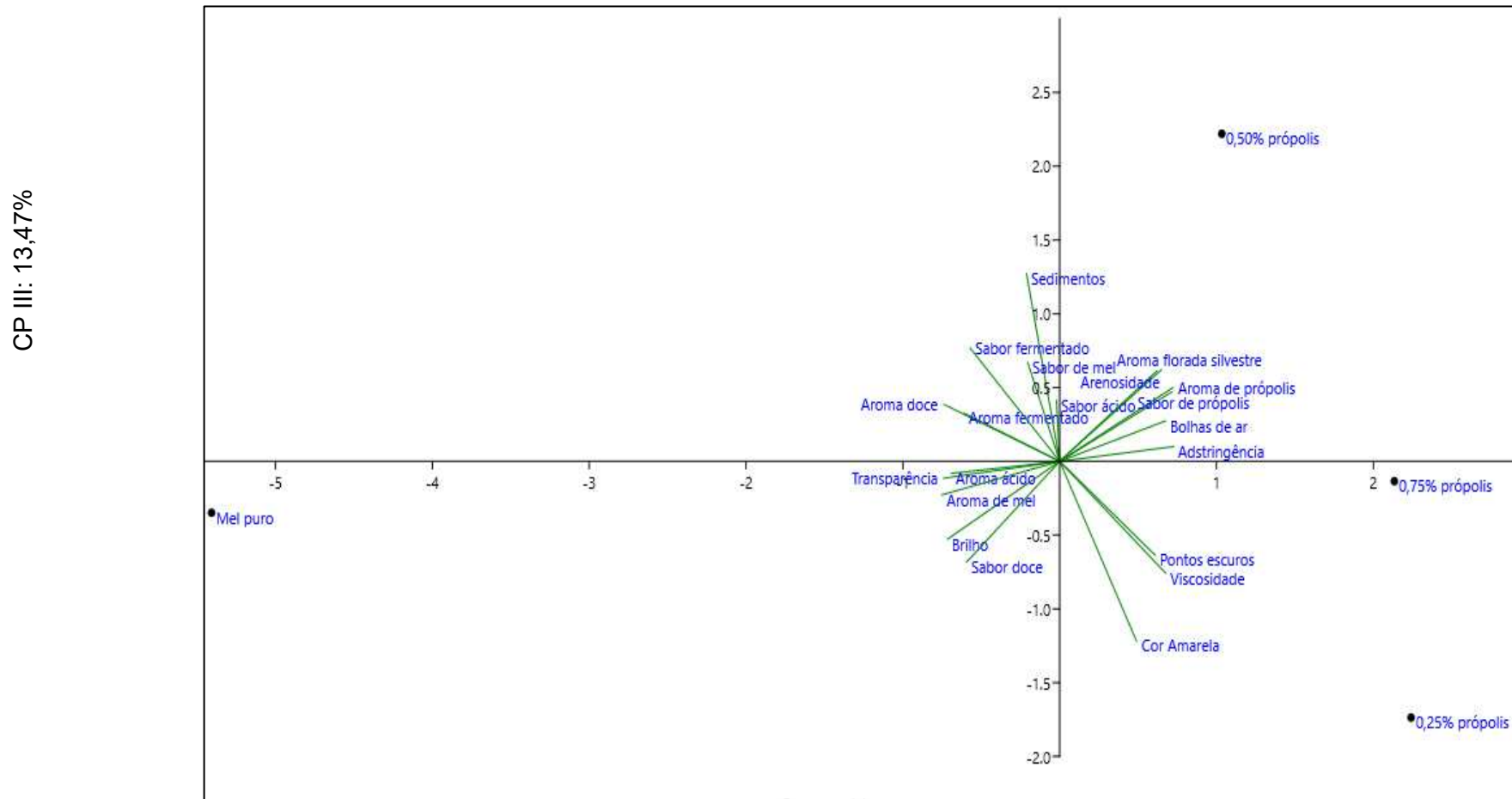
Na primeira componente (Figura 8) os atributos que apresentaram correlação ( $r$ ) superior a  $\pm 0,65$  contribuíram mais com sua explicação, foram brilho ( $r = -0,94$ ), transparência ( $r = -0,97$ ), bolhas de ar ( $r = +0,88$ ), pontos escuros ( $r = +0,80$ ), aroma ácido ( $r = -0,91$ ), aroma doce ( $r = -0,97$ ), aroma fermentado ( $r = -0,80$ ), aroma de mel ( $r = -0,99$ ), aroma florada silvestre ( $r = +0,85$ ), aroma de propolis ( $r = +0,94$ ), sabor doce ( $r = -0,78$ ), sabor fermentado ( $r = -0,75$ ), sabor de própolis ( $r = +0,94$ ), adstringência ( $r = +0,95$ ), viscosidade ( $r = +0,95$ ) e areosidade ( $r = +0,81$ ). Na segunda componente, os atributos importantes foram sabor ácido ( $r = -0,96$ ) e sabor mel ( $r = +0,87$ ), e no terceiro, cor amarela ( $r = -0,72$ ) e sedimentos ( $r = +0,75$ ) (Figura 7).

Em relação a CPI as amostras de mel foram separadas das com adição do extrato da propolis (Figuras 8 e 9). As amostras com mel, à esquerda, foram caracterizadas pelo aroma de mel, doce, ácido e fermentado, gosto doce, brilho e transparência. À direita localizaram-se as amostras com adição do extrato de propolis caracterizadas pela cor amarela, pontos escuros, areosidade, bolhas de ar, adstringência, sabor e aroma de propolis e viscosidade.

**Figura 8.** Projeções dos atributos sensoriais (CPIxCPII).



**Figura 9.** Projeções dos atributos sensoriais (CPIxCPIII).



Fonte: o próprio autor

CP I: 66,48%

**Tabela 10 .** Coeficientes de correlação entre os atributos sensoriais.

	Cor Amarela	Brilho	Transparência	Bolhas	Pontos Escuros	Sedimentos	Aroma Ácido	Aroma Doce	Aroma Fermentado	Aroma Mel	Aroma Florada Silvestre	Aroma Própolis	Gosto Ácido	Gosto Doce	Sabor Fermentado	Sabor Mel	Sabor Própolis	Adstringência	Viscosidade	Arenosidade
Cor Amarela	1	-0,35	-0,52	0,56	0,88	-0,59	-0,47	-0,77	-0,46	-0,054	0,23	0,41	-0,44	-0,07	-0,89	-0,30	0,46	0,64	0,89	0,38
Brilho	-	1	<b>0,97</b>	-0,80	-0,56	0,14	0,93	0,86	0,74	<b>0,97</b>	<b>-0,96</b>	<b>-0,97</b>	-0,07	0,90	0,48	0,23	<b>-0,95</b>	-0,88	-0,73	-0,82
Transparência	-	-	1	-0,76	-0,63	0,36	<b>0,98</b>	0,94	0,85	<b>0,97</b>	-0,94	-0,92	-0,10	0,87	0,56	0,40	-0,90	-0,87	-0,85	-0,74
Bolhas	-	-	-	1	0,86	0,12	-0,62	-0,79	-0,34	-0,89	0,63	0,91	-0,52	-0,48	-0,83	0,22	<b>0,95</b>	<b>0,97</b>	0,75	<b>0,97</b>
Pontos Escuros	-	-	-	-	1	-0,20	-0,51	-0,81	-0,34	-0,74	0,37	0,68	-0,64	-0,19	<b>-0,99</b>	0,04	0,74	0,87	0,88	0,74
Sedimentos	-	-	-	-	-	1	0,48	0,48	0,73	0,17	-0,23	-0,00	-0,40	0,23	0,18	0,92	0,01	-0,07	-0,55	0,27
Aroma Ácido	-	-	-	-	-	-	1	0,91	0,93	0,90	<b>-0,95</b>	-0,84	-0,28	0,91	0,43	0,56	-0,81	-0,76	-0,80	-0,60
Aroma Doce	-	-	-	-	-	-	-	1	0,81	0,93	-0,79	-0,85	0,09	0,68	0,76	0,40	-0,86	-0,90	<b>-0,97</b>	-0,70
Aroma Fermentado	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,70	-0,83	-0,60	-0,48	0,82	0,27	0,81	-0,56	-0,53	-0,74	-0,28
Aroma Mel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,89	<b>-0,98</b>	0,11	0,79	0,67	0,18	<b>-0,98</b>	<b>-0,96</b>	-0,84	-0,87
Aroma Florada Silvestre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,88	0,32	<b>-0,98</b>	-0,29	-0,40	0,84	0,74	0,64	0,66
Aroma Própolis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,14	-0,79	-0,61	-0,04	<b>0,99</b>	<b>0,95</b>	0,74	0,93
Gosto Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,48	0,70	-0,70	-0,23	-0,38	-0,22	-0,45
Gosto Doce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,10	0,45	-0,73	-0,60	-0,50	-0,54
Sabor Fermentado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,09	-0,68	-0,83	-0,84	-0,70
Sabor Mel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,01	0,01	-0,40	0,30
Sabor Própolis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	<b>0,97</b>	0,76	<b>0,95</b>
Adstringência	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,85	0,93
Viscosidade	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,62
Arenosidade	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Valores em negrito são significativos ( $p < 0,05$ ).

Fonte: o próprio autor

As intensidades de cada atributo estão apresentadas na Tabela 11.

**Tabela 11.** Intensidade média de atributos sensoriais de amostras de mel com e sem extrato de própolis.

		Mel	Mel com ExP 0,25%	Mel com ExP 0,50%	Mel com ExP 0,75%	
Atributos	Aparência	Cor amarela	4,20 <sup>a</sup>	5,28 <sup>a</sup>	5,15 <sup>a</sup>	4,11 <sup>a</sup>
		Brilho	6,41 <sup>a</sup>	3,70 <sup>b</sup>	3,71 <sup>b</sup>	3,12 <sup>b</sup>
		Transparência	6,57 <sup>a</sup>	2,63 <sup>b</sup>	2,35 <sup>b</sup>	2,96 <sup>b</sup>
		Bolhas de ar	2,40 <sup>a</sup>	2,98 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>
		Pontos Escuros	0,79 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>	1,95 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>
		Aroma	Ácido	5,55 <sup>a</sup>	4,11 <sup>a</sup>	4,65 <sup>a</sup>
	Doce		5,75 <sup>a</sup>	4,02 <sup>a</sup>	4,29 <sup>a</sup>	4,66 <sup>a</sup>
	Fermentado		4,29 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	4,04 <sup>a</sup>	3,78 <sup>a</sup>
	Mel		6,36 <sup>a</sup>	4,83 <sup>a</sup>	4,68 <sup>a</sup>	4,81 <sup>a</sup>
	Florada		4,85 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	5,69 <sup>a</sup>	6,29 <sup>a</sup>
	Silvestre					
	Própolis		3,72 <sup>a</sup>	6,40 <sup>b</sup>	7,22 <sup>b</sup>	7,13 <sup>b</sup>
	Sabor	Sabor ácido	4,63 <sup>a</sup>	4,78 <sup>a</sup>	4,19 <sup>a</sup>	4,86 <sup>a</sup>
		Sabor doce	7,15 <sup>a</sup>	5,72 <sup>a</sup>	6,34 <sup>a</sup>	5,22 <sup>a</sup>
		Fermentado	3,06 <sup>a</sup>	2,62 <sup>a</sup>	2,35 <sup>a</sup>	2,97 <sup>a</sup>
		Mel	5,97 <sup>a</sup>	5,15 <sup>a</sup>	6,25 <sup>a</sup>	5,80 <sup>a</sup>
		Propolis	4,14 <sup>a</sup>	6,02 <sup>a</sup>	6,78 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>
		Adstringência	2,86 <sup>a</sup>	4,68 <sup>a</sup>	5,43 <sup>a</sup>	4,58 <sup>a</sup>
	Textura	Viscosidade	2,87 <sup>a</sup>	3,71 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>	3,23 <sup>a</sup>
		Arenosidade	1,24 <sup>a</sup>	2,04 <sup>a</sup>	3,09 <sup>a</sup>	2,58 <sup>a</sup>

Médias, na mesma linha, acompanhadas de letras iguais não diferem a  $p < 0,05$  pelo teste de Tukey ajustado. Escala de Intensidade de 9 cm. Valores médios de 10 provadores.

**Fonte:** o próprio autor

Em geral, a própolis possui odor muito característico e forte e sua adição em formulações alimentícias pode resultar em alteração de cor e, principalmente, odor desagradável ao alimento (JANSEN-ALVES et al. 2019). Porém, no presente estudo,

algumas destas características sensoriais indesejáveis não foram verificadas nas amostras. Houve diferença entre as amostras em relação aos atributos brilho, transparência e aroma de própolis. O mel possui características desejáveis em sua aparência, alto brilho, transparência e cor âmbar claro. Porém ao adicionar o extrato de própolis, acaba se tornando um produto mais opaco e com pouca transparência.

Savoldi et al (2019) avaliaram a aceitação do salame com própolis em 50 consumidores habituais de salame. Alguns consumidores identificaram o odor de própolis nas amostras, embora não tivessem conhecimento da adição do aditivo no produto. No estudo atual os avaliadores também não tiveram o conhecimento da adição do ExP, e também indentificaram o aroma de própolis no produto, mostrando uma diferença significativa neste atributo. No atributo sabor e adstringência não houve diferença significativa entre a amostra de mel e com ExP, um fator importante na análise sensorial pois são atributos que qualificam a intenção de compra do consumidor.

Osés et al., (2016) testaram três concentrações diferentes (0,1; 0,3 e 0,5%), de extrato ExP proveniente da Espanha, adicionados em méis. A amostra com própolis que mais atraiu os consumidores foi aquela contendo 0,1%, apesar de todas três terem sido aceitas de acordo com os autores.

Existem estudos mostrando que produtos alimentícios elaborados com própolis tiveram boa aceitação por parte dos consumidores. Chaves et al. (2016), elaboraram uma geléia light de abacaxi contendo 1,8 gramas de própolis em 100 gramas do produto, obtendo valores superiores a 79,0% para todos os atributos avaliados. Apesar dos autores não terem informado a concentração mínima de extrato seco da própolis comercial utilizada, esse trabalho mostrou que os atributos indesejados da própolis podem ser mascarados na formulação.

Esses resultados podem indicar que os benefícios à saúde atribuídos à própolis, podem ser justificáveis pela comercialização de produtos enriquecidos com própolis, como alimento funcional e com boas características sensoriais, atendendo as demandas dos consumidores (LUIS-VILLAROYA et al., 2015).

## 6 CONCLUSÃO

O extrato da própolis adicionado ao mel da espécie *Scaptotrigona bipunctata* potencializou a bioatividade do mel. Mesmo em concentração baixa 0,25%, o ExP adicionado ao mel, foi capaz de aumentar sua atividade antioxidante. Na atividade antimicrobiana as amostras de mel com e sem ExP tiveram resultados similares. A amostra com 0,75% de extrato de própolis mostrou uma inibição maior em relação ao microrganismo *Staphylococcus aureus*. Na análise sensorial o atributo sabor de própolis não foi percebido pelos provadores, mostrando-se um produto com atributos sensoriais importantes para um teste futuro de aceitação. Além de melhorar as propriedades bioativas do mel, pode também ser uma alternativa de rentabilidade econômica para a meliponicultura.

## REFERÊNCIA

ABD JALIL, Mohd Azri; KASMURI, Abdul Razak; HADI, Hazrina. Stingless bee honey, the natural wound healer: A review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 30, n. 2, p. 66-75, 2017.

AGÜERO, María Belén et al. Própolis urbana da província de San Juan (Argentina): usos etnofarmacológicos e atividade antifúngica contra *Candida* e dermatófitos. **Culturas e produtos industriais**, v. 57, p. 166-173, 2014.

AL-DUAIS, Mohammed et al. Capacidade antioxidante e fenólicos totais de *Cyphostemma digitatum* antes e depois do processamento: utilização de diferentes ensaios. **Investigação e tecnologia alimentar europeia**, v. 813-821, 2009.

ALENCAR, SM et al. Composição química e atividade biológica de um novo tipo de própolis brasileira: a própolis vermelha. **Journal of ethnopharmacology**, v. 113, n. 2, pág. 278-283, 2007.

ALVAREZ-SUAREZ, José M. et al. A composição e a atividade biológica do mel: enfoque no mel de Manuka. **Alimentos**, v. 3, n. 3, pág. 420-432, 2014.

AL-WAILI, Noori S. et al. Mel e infecções microbianas: uma revisão que apóia o uso do mel no controle microbiano. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 10, pág. 1079-1096, 2011.

AN, Na et al. Perfil metabólico de ácidos orgânicos em mel por marcação de isótopos estáveis assistida por cromatografia líquida-espectrometria de massa. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 87, p. 103423, 2020.

AOAC. Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 19 ed. Arlington, 2012.

ARAÚJO, Maria José Abigail Mendes. Geoprópolis de *Melipona fasciculata* SMITH: ações citotóxica, imunomoduladora, antibacteriana e antifúngica. 2013.

ÁVILA, Suelen. **Determinação de parâmetros de qualidade de mel de abelhas-sem-ferrão utilizando ferramentas quimiométricas**. 2019. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)–Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BANKOVA, Vassya; POPOVA, Milena; TRUSHEVA, Boryana. A fitoquímica da abelha. **Phytochemistry**, v. 155, p. 1-11, 2018.

BANKOVA, Vassya. Diversidade química da própolis e o problema da padronização. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, pág. 114-117, 2005.

BANKOVA, V.; POPOVA, M. PHCOG REV.: Artigo de Revisão Própolis de abelhas-sem-ferrão: uma fonte promissora de compostos biologicamente ativos. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 1, 2007.

BASUALDO, Cláudia et al. Comparação da atividade antibacteriana do mel de diferentes procedências contra bactérias geralmente isoladas de feridas cutâneas. **Microbiologia veterinária**, v. 124, n. 3-4, pág. 375-381, 2007.

BATISTON, Thaisa Francielle Toposki Pavan et al. Composição físico-química e potencial antimicrobiano do mel sem ferrão: um alimento de qualidade diferenciada. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.9, n.10, pág.e7099108223-e7099108223, 2020.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.

BERA, Alexandre. **Composição físico-química e nutricional do mel adicionado com própolis**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BERA, Alexandre; ALMEIDA-MURADIAN, Ligia Bicudo de. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 49-52, 2007.

BERETTA, Giangiacomo et al. Padronização das propriedades antioxidantes do mel por uma combinação de ensaios espectrofotométricos/fluorimétricos e quimiométricos. **Analytica Chimica Acta**, v. 2, pág. 185-191, 2005.

BIFFI, Giovanna Yasmin Mokarzel. **Determinação de compostos antioxidantes em mel de abelha-sem-ferrão**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BILUCA, Fabíola C. et al. Teor de 5-HMF e carboidratos em mel de abelhas-sem-ferrão por CE antes e após tratamento térmico. **Food Chemistry**, v. 159, p. 244-249, 2014.

BILUCA, Fabíola Carina et al. Perfis físico-químicos, minerais e compostos bioativos do mel de abelhas-sem-ferrão (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61-69, 2016.

BLOCHTEIN, Betina. Manual de boas práticas para a criação e manejo racional de abelhas-sem-ferrão no RS: guaraipo, manduri e tubuna. **Edipucrs**, 2008.

BOBO-GARCÍA, Glória et al. Validação intralaboratorial de métodos de microplacas para conteúdo fenólico total e atividade antioxidante em extratos polifenólicos e comparação com métodos espectrofotométricos convencionais. **Revista da Ciência da Alimentação e Agricultura**, v. 95, n. 1, pág. 204-209, 2015.

BOORN, KL et al. Atividade antimicrobiana do mel da abelha-sem-ferrão Trigona carbonaria determinada por difusão em ágar, diluição em ágar, microdiluição em caldo e metodologia time-kill. **Revista de microbiologia aplicada**, v. 108, n. 5, pág. 1534-1543, 2010.

BRAGHINI, Francieli et al. Efeito de diferentes condições de armazenamento nas características físico-químicas e bioativas de méis de abelha-sem-ferrão processados termicamente. **LWT**, v. 131, p. 109724, 2020.

BORSATO, DÉBORA MARIA et al. Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 1, 2013.

BORTOTI, Tatyane Layanne. **Atividade antimicrobiana de mel de Apis mellifera de diferentes regiões do Paraná**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BUCEKOVA, Marcela et al. O processamento do mel por micro-ondas afeta negativamente a atividade antibacteriana do mel pela inativação da glicose oxidase derivada da abelha e da defensina-1. **Química alimentar**, v. 240, p. 1131-1136, 2018.

CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. Biologia e criação de abelhas-sem-ferrão. Viçosa: **Conselho de Extensão, Departamento de Biologia Geral**, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 38p.

CERQUEIRA, Fernanda Menezes; MEDEIROS, Marisa Helena Gennari de; AUGUSTO, Ohara. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, p. 441-449, 2007.

CHAN, Godfrey Chi-Fung; CHEUNG, Ka-Wai; SZE, Daniel Man-Yuen. As propriedades imunomoduladoras e anticancerígenas da própolis. **Revisões clínicas em alergia e imunologia**, v. 44, n. 3, pág. 262-273, 2013.

CHAVES, ACC et al. **Desenvolvimento de geleia light de abacaxi com própolis. 2015.**

CHOUDHARI, Milind K. et al. Atividade antimicrobiana da própolis de abelha-sem-ferrão (*Trigona* sp.) Usada na medicina popular do oeste de Maharashtra, Índia. **Journal of ethnopharmacology**, v. 141, n. 1, pág. 363-367, 2012.

CHUTTONG, Bajaree et al. Perfis físico-químicos do mel de abelhas-sem-ferrão (*Apidae: Meliponini*) do Sudeste Asiático (Tailândia). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016.

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. CLSI document M07-A10. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 10 ed. 2015. Disponível em: [https://clsi.org/media/1632/m07a10\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf). Acesso em: 30 jul. 2020.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Commission Standards. Codex Stan 12-1981, p. 1-8, 2001.

CORTOPASSI-LAURINO, M. ; GELLI, DS Análise polínic, propriétés physico-chimiques and action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Meliponini* du Brésil. **Apidologie**, v. 22, n. 1, pág. 61-73, 1991.

CRANE, E.; O livro do mel. 2. ed. São Paulo: **Nobel**, 1983.

DAMÁSIO, M. H; COSTELL, E. Analisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 31, n. 2, p. 165-178, 1991.

DA SILVA, Priscila Missio et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.

DE ALMEIDA-MURADIAN, Ligia B. et al. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 8, p. 1698-1706, 2013.

DE ARAÚJO, Dyalla Ribeiro; DA SILVA, Roberto Henrique Dias; DOS SANTOS SOUSA, Jonas. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, p. 51-55, 2006.

DE OLIVEIRA, Emanuel Neto Alves; DA COSTA SANTOS, Dyego. Análise físico-química de mel de abelhas africanizadas e nativas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 2, pág. 132-138, 2011.

DE SOUSA, Janaína Maria Batista et al. Perfil do açúcar, aspectos físico-químicos e sensoriais de melis monoflorais produzidos por diferentes espécies de abelhas-sem-ferrão no semiárido brasileiro. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 645-651, 2016.

DE SOUZA FREITAS, Wallace Edelky et al. Efeito do tratamento térmico sobre parâmetros físico-químicos do mel da florada de cajueiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 5, p. 13, 2010.

DO NASCIMENTO, Andreia Santos; DE LIMA SILVA, Fabiane; CAVALCANTE, Samira Maria Peixoto. **Qualidade Físico-Química e Compostos Bioativos do Mel de *Melipona scutellaris* Produzido em uma Região Urbano-Industrial**. 2021.

DUMAN, Muhsine; ÖZPOLAT, Emine. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. **Food Chemistry**, v. 189, p. 80-85, 2015.

DUTRA, Richard Pereira et al. Ácidos fenólicos, taninos hidrolisáveis e atividade antioxidante da geoprópolis da abelha-sem-ferrão *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, pág. 2549-2557, 2014.

ELIAS-SANTOS, Douglas et al. Proteoma das glândulas salivares da cabeça e do tórax na abelha-sem-ferrão *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Apidologie**, v. 44, n. 6, pág. 684-698, 2013.

ESCRICHE, Isabel et al. Adequação da capacidade antioxidante, flavonóides e ácidos fenólicos para autenticação floral do mel. Impacto do tratamento térmico industrial. *Química Alimentar*, v. 142, pág. 135-143, 2014.

EWNETU, Yalemwork; LEMMA, Wossenseged; BIRHANE, Nega. Efeitos antibacterianos de méis de *Apis mellifera* e de abelhas-sem-ferrão sobre cepas suscetíveis e resistentes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* em Gondar, noroeste da Etiópia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, pág. 1-7, 2013.

FIDALEO, Marco; ZUORRO, Antonio; LAVECCHIA, Roberto. Atividade antimicrobiana de alguns méis italianos contra bactérias patogênicas. **Engenharia Química**, v. 24, pág. 1015, 2011.

FRAZÃO, R. Abelhas Nativas da Amazônia e Populações Tradicionais. Belém: **Instituto Peabiru**, 2013. 50 p.

GHELDOLF, Nele; ENGESETH, Nicki J. Capacidade antioxidante de méis de várias fontes florais com base na determinação da capacidade de absorção de radicais de oxigênio e inibição da oxidação de lipoproteínas in vitro em amostras de soro humano. **Jornal de química agrícola e alimentar**, v. 50, n. 10, pág. 3050-3055, 2002.

GHISALBERTI, EL Própolis: uma revisão. **Mundo das abelhas**, v. 60, n. 2, pág. 59-84, 1979.

GLEITER, RA; HORN, H .; ISENGARD, H.-D. Influência do tipo e estado de cristalização na atividade de água do mel. **Química alimentar**, v. 96, n. 3, pág. 441-445, 2006.

GOMES, Teresa et al. Otimização da produção de hidromel usando metodologia de superfície de resposta. **Food and chemical toxicology**, v. 59, p. 680-686, 2013.

GUERRINI, Alessandra et al. Mel de abelha-sem-ferrão do Equador (Meliponinae): Perfil químico e funcional de um antigo produto para a saúde. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, pág. 1413-1420, 2009.

GUTIÉRREZ-CORTÉS, Carolina; SUAREZ MAHECHA, Héctor. Atividade antimicrobiana da própolis e seu efeito nas características físico-químicas e sensoriais de embutidos. **Vitae**, v. 21, n. 2, pág. 90-96, 2014.

HUANG, Dejian; OU, Boxin; PRIOR, Ronald L. A química por trás dos ensaios de capacidade antioxidante. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 6, pág. 1841-1856, 2005.

HUSSAIN, Muhammad Barkaat. Papel do mel nas infecções bacterianas tópicas e sistêmicas. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 24, n. 1, pág. 15-24, 2018.

HORN, H. Alunos da disciplina análise de mel da Universidade de Hoheinheim, Alemanha. Méis brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina, PI. Anais... Teresina: **Confederação Brasileira de Apicultura**, 1996. p.403-429.

IAL - INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2008.

JANSEN-ALVES, Cristina et al. Micropartículas de própolis produzidas com proteína de ervilha: Caracterização e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana. **Hidrocolóides Alimentares**, v. 87, p. 703-711, 2019.

JUSZCZAK, Lesław et al. Antioxidant activity of honey supplemented with bee products. *Natural product research*, v. 30, n. 12, p. 1436-1439, 2016.

KARABAGIAS, Ioannis K. et al. Impacto de parâmetros físico-químicos, grãos de pólen e compostos fenólicos na correta diferenciação geográfica do mel de abeto produzido na Grécia, conforme avaliado por análises multivariadas. **Jornal internacional de propriedades alimentares**, v. 20, n. sup1, pág. S520-S533, 2017.

KIVRAK, Şeyda; KIVRAK, Ibrahim; KARABABA, Erşan. Caracterização de méis turcos quanto às propriedades físico-químicas e sua análise de adulteração. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 80-89, 2017.

KUJUMGIEV, A. et al. Atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral de própolis de diferentes origens geográficas. **Journal of ethnopharmacology**, v. 64, n. 3, pág. 235-240, 1999.

KUMAZAWA, Shigenori; HAMASAKA, Tomoko; NAKAYAMA, Tsutomu. Atividade antioxidante da própolis de várias origens geográficas. **Química alimentar**, v. 84, n. 3, pág. 329-339, 2004.

KUŚ, Piotr M. et al. Triagem de mel de abeto polonês usando GC/MS, HPLC-DAD e parâmetros físico-químicos: derivados de benzeno e terpenos como marcadores químicos. **Química & biodiversidade**, v. 9, pág. e1700179, 2017.

LENGLER, Sergio. Inspeção e controle de qualidade do mel. Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria. **Departamento de Zootecnia**, v. 1, 2002.

LIBERATO, Maria da Conceição Tavares Cavalcanti et al. Propriedades físico-químicas e conteúdo mineral e proteico de amostras de mel do Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 38-46, 2013.

LINDAUER, M .; KERR, Warwick E. Comunicação entre as operárias de abelhas-sem-ferrão. **Mundo das abelhas**, v. 41, n. 2, pág. 29-41, 1960.

LUIS-VILLAROYA, Adrián et al. Propriedades bioativas de um suplemento alimentar à base de própolis e seu uso em combinação com calor moderado para a preservação do suco de maçã. **Jornal Internacional de Microbiologia Alimentar**, v. 205, p. 90-97, 2015.

LUSTOSA, Sarah R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 447-454, 2008.

MACHADO DE-MELO, Adriane Alexandre et al. Composição e propriedades do mel de *Apis mellifera*: uma revisão. **Journal of apicultural research**, v. 57, n. 1, pág. 5-37, 2018.

MAHNOT, Nikhil Kumar; SAIKIA, Sangeeta; MAHANTA, Charu Lata. Caracterização da qualidade e efeito do tempo de sonicação nas propriedades bioativas do mel do Nordeste da Índia. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, pág. 724-736, 2019.

MASSARO, C. Flavia et al. Floroglucínóis de resinas de depósito antimicrobiano de abelhas australianas sem ferrão (*Tetragonula carbonaria*). **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 1, pág. 48-58, 2015.

MATO, Inês et al. Determinação rápida de ácidos orgânicos não aromáticos em mel por eletroforese de zona capilar com detecção ultravioleta direta. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 54, n. 5, pág. 1541-1550, 2006.

MUELLER, Klaus et al. Propriedades funcionais e composição química do farelo fracionado de linhaça marrom e amarela (*Linum usitatissimum* L.). **Revista de Engenharia de Alimentos**, v. 4, pág. 453-460, 2010.

MENDES, B. de A.; COELHO, E. M. Consideração sobre características de mel de abelhas-Análises e critérios de inspeção. **Informe agropecuário (Brasil)**, v. 9, n. 106, p. 56-61, 1983.

MENDES, C.G.; SILVA, J.B.A.; MESQUITA L.X.; MARACAJÁ P.B. As análises de mel: revisão. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 07-14, 2009.

MOSKOWITZ, H. R. Product Testing and Sensory Evaluation of Food-Marketing and R&D Approaches. Westport: **Food and Nutrition Press**, 1983. 605 p.

NAGAI, Takeshi; INOUE, Reiji. Preparação e propriedades funcionais do extrato aquoso e do extrato alcalino de geleia real. **Química alimentar**, v. 84, n. 2, pág. 181-186, 2004.

NAITO, Yukiko et al. Efeito antiinflamatório do extrato de própolis aplicado topicamente no edema da pata traseira de ratos induzido por carragenina. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 5, pág. 452-456, 2007.

NISHIO, E. K. et al. Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. São Paulo: **Nogueirapis**, 1997. 446 p.

NOGUEIRA-NETO, P. A criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae). 2. ed. rev. São Paulo: **Chácaras e Quintais**, 1970.

NOORI, AL et al. Diferenças na composição de amostras de mel e seu impacto nas atividades antimicrobianas contra bactérias multirresistentes a medicamentos e fungos patogênicos. **Arquivos de pesquisa médica**, v. 44, n. 4, pág. 307-316, 2013.

ODA, Hirotake et al. Efeito da própolis verde brasileira sobre patógenos bucais e fibroblastos periodontais humanos. **Journal of Oral Biosciences**, v. 58, n. 2, pág. 50-54, 2016.

ODDO, Livia Persano et al. Composição e atividade antioxidante do mel de Trigona carbonaria da Austrália. **Revista de alimentação medicinal**, v. 11, n. 4, pág. 789-794, 2008.

OLIVEIRA, F. F.; RICHERS, B. T. T.; SILVA, J. R.; FARIAS, R. C.; MATOS, T. A. L. Guia Ilustrado das Abelhas “Sem-Ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Tefé: IDSM**, 2013. 267p.

OLIVEIRA, Patricia Sertão et al. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de Melipona fasciculata, M. flavolineata (Apidae, Meliponini) e Apis mellifera (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, p. 1728-1732, 2012.

OLDONI, Tatiane LC et al. Isolamento guiado por bioensaio de proantocianidinas com atividade antioxidante da pele do amendoim (Arachis hypogaea) por combinação de técnicas de cromatografia. **Química de Alimentos**, v. 192, pág. 306-312, 2016.

OLOFSSON, Tobias C. et al. Simbiontes bacterianos de ácido láctico em abelhas - uma chave desconhecida para as atividades antimicrobianas e terapêuticas do mel. **International Wound Journal**, v. 13, n. 5, pág. 668-679, 2016.

ORGANIZAÇÃO DE ALIMENTOS E AGRICULTURA DOS UNIDOS NAÇÕES - FAO. Comissão do Codex Alimentarius. Codex Stan 12-1981: **Codex Standard para mel**. | Roma: FAO, 2001. 8 p.

OSÉS, S. M. et al. Bioactive properties of honey with propolis. **Food chemistry**, v. 196, p. 1215-1223, 2016.

PARK, Yong K .; ALENCAR, Severino M .; AGUIAR, Claudio L. Origem botânica e composição química da própolis brasileira. **Jornal de química agrícola e alimentar**, v. 50, n. 9, pág. 2502-2506, 2002.

PAZIN, Wallance Moreira et al. Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 40-49, 2017.

PEDRO, S. R. M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61(4), p. 348-354, 2014.

PEKAL, Anna; PYRZYNSKA, Krystyna. Efeito do pH e dos íons metálicos na atividade de eliminação do radical DPPH do chá. **Revista Internacional de Ciências Alimentares e Nutrição**, v. 1, pág. 58-62, 2015.

PEREIRA, Alberto dos Santos; SEIXAS, Fernando Rodrigues Mathias Silva; AQUINO NETO, Francisco Radler de. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

POPOVA, Milena P. et al. Características químicas da própolis tipo choupo de diferentes origens geográficas. **Apidologia**, v. 3, pág. 306-306, 2007.

POSEY, Darrell Addison. Etnobiologia: teoria e prática. **Suma etnológica brasileira**, v. 1, p. 15-25, 1987.

RAMÓN-SIERRA, Jesús Manuel; RUIZ-RUIZ, Jorge Carlos; DE LA LUZ ORTIZ-VÁZQUEZ, Elizabeth. Caracterização por eletroforese de proteínas como método para estabelecer a origem entomológica de méis de abelhas-sem-ferrão. **Química alimentar**, v. 183, p. 43-48, 2015.

ROCHA, Fabíola Dutra et al. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 17, p. 631-639, 2007.

ROÓS, Pábelo Ben et al. Avaliação de parâmetros físico-químicos e da atividade antimicrobiana in vitro de méis de jataí (*Tetragonisca angustula*) provenientes do Rio Grande do Sul. **Perspectiva**, v. 42, n. 159, p. 97-107, 2018.

ROUBIK, David W. Biologia de nidificação de abelhas-sem-ferrão. **Apidologie**, v. 37, n. 2, pág. 124-143, 2006.

SALATINO, Antonio et al. Origem e variação química da própolis brasileira. **Medicina alternativa e complementar baseada em evidências**, v. 2, n. 1, pág. 33-38, 2005.

SALONEN, Anneli et al. Avaliação da bioatividade e dos constituintes bioativos de méis uniflorais nórdicos. **Química alimentar**, v. 237, p. 214-224, 2017.

SALVADOR, Izabela et al. Podemos conservar o conteúdo de trans-resveratrol e a atividade antioxidante durante a produção industrial de chocolate?. **Revista da Ciência da Alimentação e Agricultura**, v. 99, n. 1, pág. 83-89, 2019.

SANCHO, M. Teresa et al. Critical assessment of antioxidant-related parameters of honey. **International journal of food science & technology**, v. 51, n. 1, p. 30-36, 2016.

SANT'ANA, Luiza D.'O. et al. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of food science**, v. 77, n. 1, p. C135-C140, 2012.

SANT'ANA, Rosane da S. et al. Characterization of honey of stingless bees from the Brazilian semi-arid region. **Food Chemistry**, v. 327, p. 127041, 2020.

SANTOS, Maurício Ayres dos. Caracterização físico-química e botânica do mel de abelhas-sem-ferrão (Meliponini), de ocorrência no Vale do Taquari-RS, objetivando **edição de RTIQ**. 2019.

SAVOLDI, Daniele Cristina et al. Características físicas e sensoriais de Salame Tipo Italiano com adição de própolis. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 2019.

SAWAYA, ACHF et al. Composição e atividade antioxidante da própolis de três espécies de abelhas Scaptotrigona sem ferrão. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, v. 1, n. 2, pág. 37-42, 2009.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile; **Facultad de Ciencias Agrarias Empaste**, 1988. 202p.

SCHNITZLER, Paul et al. Atividade antiviral e modo de ação de extratos de própolis e compostos selecionados. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. S1, pág. S20-S28, 2010.

SHERLOCK, Orla et al. Comparação da atividade antimicrobiana do mel de Ulmo do Chile e do mel de Manuka contra Staphylococcus aureus resistente à meticilina, Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa. **Medicina complementar e alternativa BMC**, v. 10, p. 1-5, 2010.

SILVA, Ellen Cristina Costa da et al. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas-sem-ferrão amazônicas. **Química Nova**, v. 36, n. 5, pág. 628-633, 2013.

SILVA, Lorrany Matos Cardozo da. **Atividade antibacteriana de méis de meliponíneos obtidos de diferentes regiões do estado do Paraná (Brasil)**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SILVA, Tania et al. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees Melipona rufiventris (Uruçu-amarela). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 173-178, 2009.

SIMONE-FINSTROM, Michael; SPIVAK, Marla. Própolis e saúde das abelhas: a história natural e o significado do uso da resina pelas abelhas. **Apidologie**, v. 41, n. 3, pág. 295-311, 2010.

SPINELLI, Sara et al. Própolis microencapsulada para potencializar as propriedades antioxidantes de hambúrgueres de peixe fresco. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 6, pág. 527-535, 2015.

SOUSA, J. M.; DE SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; MEIRELES, B.; DE MAGALHÃES CORDEIRO, Â. T.; GULLÓN, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Polyphenolic Profile and Antioxidant and Antibacterial Activities of Monofloral Honeys Produced by Meliponini in the Brazilian Semiarid Region. **Food Research International**, v. 84, p. 61-68, 2016.

SRIVASTAVA, Gitanjali; APOVIAN, Caroline M. Farmacoterapia atual para obesidade. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 1, pág. 24/12/2018.

STINSON, Edgar E. et al. A composição do mel. V. Separação e identificação dos ácidos orgânicos. **Arquivos de Bioquímica e Biofísica**, v. 89, n. 1, pág. 6-12, 1960.

TOMÁS, Andreia et al. **Avaliação da atividade antioxidante do mel de rosmaninho português**. 2016.

TOMÁS, Andreia et al. Potencialidades da beterraba como suplemento alimentar e fonte de nutracêuticos: origem botânica, composição nutricional e atividade antioxidante. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 3, pág. 219-230, 2017.

TORETI, Viviane Cristina et al. Progresso recente da própolis por suas composições biológicas e químicas e sua origem botânica. **Medicina alternativa e complementar baseada em evidências**, v. 2013, 2013.

TRUSHEVA, Boryana et al. Constituintes bioativos da própolis vermelha brasileira. **Medicina complementar e alternativa baseada em evidências**, v. 3, n. 2, pág. 249-254, 2006.

UMTHONG, Supawadee; PUTHONG, Songchan; CHANCHAO, Chanpen. Trigona laeviceps própolis da Tailândia: atividades antimicrobiana, antiproliferativa e citotóxica. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 37, n. 05, p. 855-865, 2009.

USMAN, Y.; ABDULLAHI, I. N.; AHMED, N. In-vitro antimicrobial activities of crude and diluted Nigerian honey against some bacteria isolated from infected wound. **New York Science Journal**. v.8, n.7. 2015

UTTARA, Joshi; MISHRA, SH Avaliação preliminar da atividade imunomoduladora e antiestresse do extrato metanólico de Hedychium spicatum. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 1057-1071, 2009.

VASILAKI, Athanasia et al. Uma abordagem natural na preservação de alimentos: extrato de própolis como alternativa ao sorbato em bebida não carbonatada. **Química alimentar**, v. 298, p. 125080, 2019.

VENTURIERI, Giorgio Cristino. Criação de abelhas indígenas sem ferrão. **Embrapa Amazônia Oriental**. 2º edição, 2008.

VENTURIERI, Giorgio Cristino et al. Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão. In: **Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão**. 2007. p. 51-51

VIEIRA, Tatiana Regina et al. Caracterização físico-química e botânica do mel de abelhas-sem-ferrão (Meliponini), de ocorrência no Vale do Taquari-RS, objetivando edição de RTIQ. **Research, society and development**. Vargem Grande Paulista. Vol. 12, no. 3 (2023), e29312340846, 14 p., 2023.

VILLAS-BÔAS, J. Aproveitamento integral dos produtos das Abelhas nativas sem ferrao. **Editora ISPN**. 2018.

VILLACRÉS-GRANDA, Irina et al. Parâmetros de qualidade, composição química e atividade antimicrobiana do mel em doze abelhas equatorianas sem ferrão (Apidae: Apinae: Meliponini) testadas contra patógenos humanos multirresistentes. **LWT**, v. 140, p. 110737, 2021.

VIT, Patricia; PEDRO, Silvia RM; ROUBIK, David (Ed.). Pote de mel: um legado de abelhas-sem-ferrão . **Springer Science & Business Media**, 2013.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Propriedades funcionais do mel, própolis e geleia real. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, pág. R117-R124, 2008.

ZAWAWI, Norhasnida et al. Unique physicochemical properties and rare reducing sugar trehalulose mandate new international regulation for stingless bee honey. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131566, 2022.

WASFI, Reham; ELKHATIB, Walid F.; KHAIRALLA, Ahmed S. Effects of selected Egyptian honeys on the cellular ultrastructure and the gene expression profile of *Escherichia coli*. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0150984, 2016.

WHITE JUNIOR, J. W. Methods for determining carbohydrates, hydroxymetilfurfural and proline in honey; collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 62, n. 3, p. 515-526, 1979.

## APÊNDICE A

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Análise Descritiva Quantitativa)

#### **“Mel de meliponíneo: Aspectos tecnológicos, físico-químicos e microbiológicos”**

Prezado (a) Senhor (a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“MEL DE MELIPONÍNEO: ASPECTOS TECNOLÓGICOS, FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS”**, a ser realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA da Universidade Estadual de Londrina. O objetivo da pesquisa é avaliar as possíveis diferenças entre amostras de mel com adição de diferentes concentrações de extrato de própolis usando os produtos da abelha *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) por meio dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos, antioxidantes e sensoriais. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: o (a) senhor (a) faria parte da equipe de avaliadores da qualidade sensorial dos méis da pesquisa. Para garantir o distanciamento social, o (a) senhor (a) receberá quatro diferentes amostras em seu endereço residencial e deverá provar individualmente (sem contato com os demais avaliadores) cada uma delas. Sua participação na pesquisa irá requerer apenas um tempo aproximado de 30 minutos, realizado em duas sessões. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a) recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa. Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. No entanto, a indenização é prevista por lei. Como critério de inclusão para ser avaliador, os indivíduos deverão ser consumidores de mel de abelha-sem-ferrão e terem feito parte da equipe avaliadora no projeto aprovado pelo Comitê de Ética Em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina pelo parecer número 1.124.653 (CAAE: 46195515.9.0000.5231), seguindo o modelo de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

O benefício esperado é contribuir para o desenvolvimento da cadeia produtiva e estimular o consumo de um produto de valor agregado. Os riscos associados à

ingestão de méis de abelha-sem-ferrão são mínimos. As amostras recebidas serão submetidas à avaliação microbiológica e análise físico-química antes de serem enviadas aos avaliadores. Poderá haver uma fadiga sensorial durante o teste, nesse caso, o avaliador será dispensado. Caso ocorra algum tipo de desconforto de qualquer natureza em qualquer etapa de atuação, o participante será prontamente atendido e amparado pelo responsável, podendo ser dispensado do teste a qualquer momento. Caso o (a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Profa. Wilma Aparecida Spinosa, DCTA (Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos) /CCA / UEL / Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380, s/n, fones: (43) 3371.4585, (43) 988430709, e-mail: wilma.spinosa@uel.br), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 202\_.

### **Pesquisador Responsável**

RG: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

## ANEXO A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
(Análise Descritiva Quantitativa)  
“Maturação de mel de meliponíneos”

Prezado (a) Senhor (a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“MATURAÇÃO DE MEL DE MELIPONÍNEOS”**, a ser realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA da Universidade Estadual de Londrina. O objetivo da pesquisa é acompanhar o processo de maturação do mel de meliponíneos por meio dos parâmetros físico-químicos e sensoriais. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: desejamos formar uma equipe de julgadores treinada, capacitada para medir a intensidade das características sensoriais de aparência, aroma, sabor e textura das amostras de mel. Para isso, antes dos testes os participantes deverão responder o Questionário de Recrutamento de Provadores ou Julgadores, e então participar dos testes de seleção e treinamentos para depois avaliar as amostras de mel. Todas as sessões de teste (seleção, treinamento e avaliações das amostras) serão previamente agendadas. Sua participação no teste irá requerer 30 minutos em cada sessão, a qual acontecerá 2 vezes por semana, por um período aproximado de 4 meses. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que o (a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Os benefícios esperados são contribuir com o aumento no tempo de conservação do mel e desenvolvimento de um produto de alto valor agregado. Quanto aos riscos, são mínimos associados à ingestão do mel do presente projeto de pesquisa, por se tratar de um produto seguro. Caso ocorra algum tipo de desconforto, físico, psíquico, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual, em qualquer etapa da pesquisa, o participante será prontamente atendido e amparado pela pesquisadora,

podendo ser dispensado dos testes a qualquer momento. Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Profa. Sandra Helena Prudêncio, DCTA /CCA / UEL / Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 89 380, s/n, fones: (43) 3371-4986, (43)9903-1659, e-mail: sandrah@uel.br), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor (a).

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

**Pesquisador Responsável**

RG: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

**ANEXO B**

Questionário de Recrutamento de Julgadores  
(Análise Descritiva Quantitativa)

Desejamos formar uma equipe de julgadores treinados, a fim de descrever o perfil sensorial de amostras de mel maturadas. Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A equipe de provadores se reunirá 2 vezes por semana por um período de 30 minutos, no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA por um período aproximado de 4 meses. Se você deseja participar da equipe de julgadores, por favor, preencha este formulário. Este trabalho faz parte do projeto “Maturação de mel de meliponíneos”. Caso necessite de algum esclarecimento ou informações adicionais, não hesite em entrar em contato com a Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio (Tel.: 3371.4986, e-mail: sandrah@uel.br).

Nome:

Telefone:

E-mail:

1) Faixa etária:

15-25

26-35

36-50

Acima de 50 anos

2) Sexo:

Feminino

Masculino

3) Ocupação:

Aluno

Funcionário

Professor

Outro

4) Escolaridade:

1° Grau

2° Grau

3° Grau

Outro

5) Indique a frequência de consumo de mel:

7 dias na semana

6 a 4 dias na semana

- 3 a 1 dias na semana
- 1 vez por mês ou menos
- Nunca
- Outro. Indique:

6) Cite 3 alimentos que sejam firmes.

7) Cite um alimento que grude no dente ao ser mastigado.

8) Cite um alimento que seja pegajoso ao ser mastigado.

9) Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde. Explique por favor.

10) Identifique se você possui:

- Diabetes
- Hipoglicemia
- Doença bucal
- Dentadura/prótese dentária parcial ou total
- Hipertensão (pressão alta)
- Hipotensão (pressão baixa)

11) Já participou de algum teste sensorial?  Sim  Não

Se sim, qual o tipo?

- Aceitação
- Discriminativo
- Descritivo





**ANEXO E**

## Ficha para Levantamento dos Termos Descritores

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

## LEVANTAMENTO DE TERMOS DESCRITORES

Por favor, prove as duas amostras quanto à aparência, aroma, sabor e textura e indique em que elas são similares e em que são diferentes.

Amostras: \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_

APARÊNCIA:

AROMA:

SABOR:

TEXTURA:

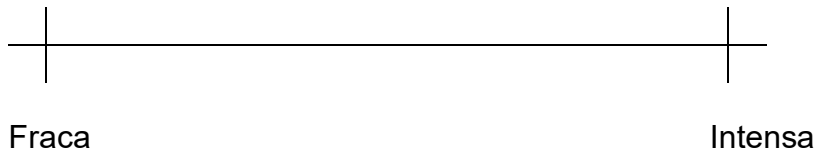
Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Por favor, prove a amostra e avalie a intensidade percebida para cada atributo colocando um traço vertical nas escalas correspondentes.

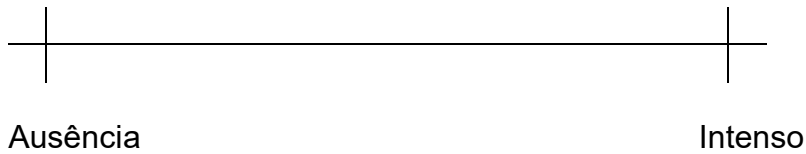
Amostra: \_\_\_\_\_

## APARÊNCIA

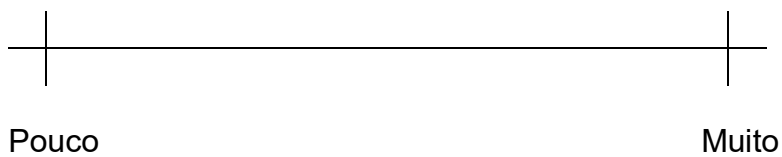
Cor Amarela



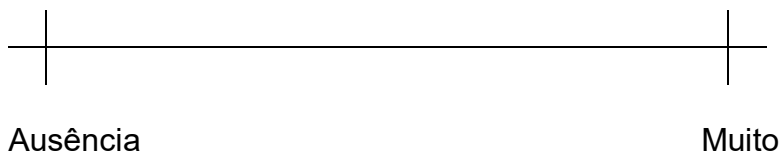
Brilho



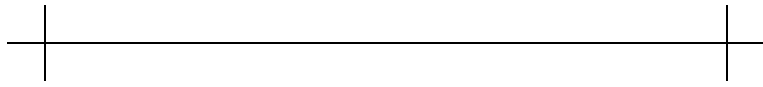
Transparência



Bolhas



Pontos Escuros

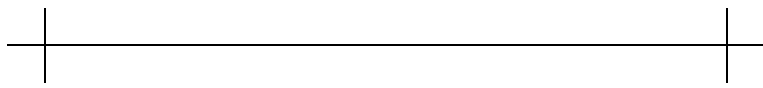


Ausência

Muito

## **AROMA**

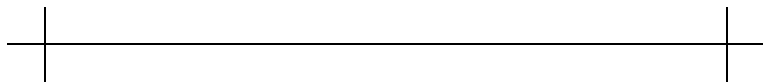
Ácido



Fraco

Intenso

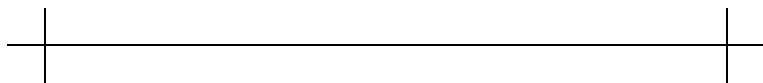
Doce



Fraco

Intenso

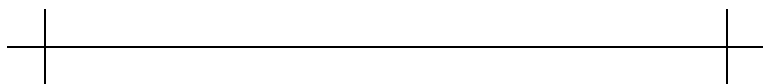
Fermentado



Fraco

Intenso

Mel

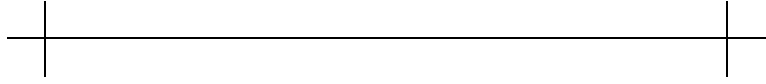


Fraco

Intenso

**SABOR**

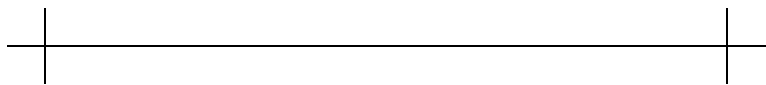
Gosto Ácido



Fraco

Intenso

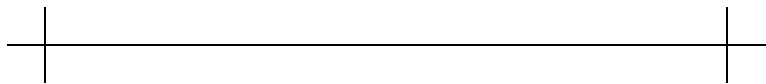
Gosto Doce



Fraco

Intenso

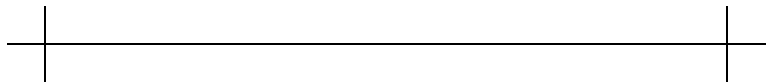
Sabor Fermentado



Fraco

Intenso

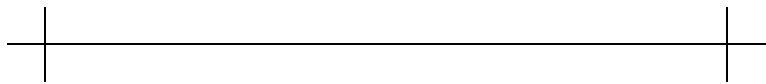
Sabor de Mel



Fraco

Intenso

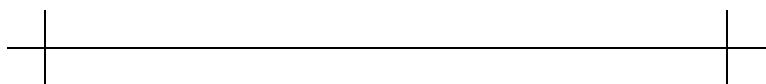
Sabor Amargo



Fraco

Intenso

Sabor Residual

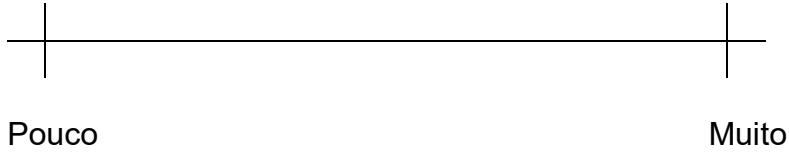


Fraco

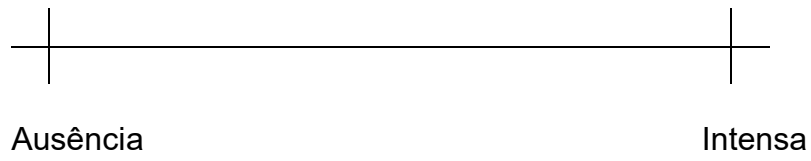
Intenso

**TEXTURA**

Viscosidade



Arenosidade



## ANEXO F

Termo Descritor	Definição	Referência
<b>Aparência</b>		
Cor Amarela	Intensidade de coloração amarela no produto	<u>Fraca</u> : 4 g de Xarope de Glicose de Milho marca Karo + 25 mL de água  <u>Intensa</u> : 18 g de Xarope de Glicose de Milho marca Karo
Brilho	Reflexão da luz na superfície da amostra	<u>Ausência</u> : 40 g de gel de brilho + 0,3 g de corante em pasta gel cor branco + 0,5 g de farinha de trigo na superfície  <u>Intenso</u> : 40 g de gel de brilho + 0,3 g de corante em pasta gel cor branco
Transparência	Passagem de luz que através da amostra (permite visualização através da amostra)	<u>Pouco</u> : 50 mL de água  <u>Muito</u> : 40 g de gel de brilho
Bolhas	Presença de pequenas bolhas de ar na superfície do mel	<u>Ausência</u> : 25 g do mel pasteurizado  <u>Muito</u> : 25 g do mel maturado a 30±5 °C após agitação
Pontos Escuros	Presença de pontos escuros em suspensão no mel	<u>Ausência</u> : 25 g de Xarope de Glicose de Milho marca Karo  <u>Muito</u> : 25 g Xarope de Glicose de Milho marca Karo + 0,01 g de pó de café torrado e moído
<b>Aroma</b>		

Ácido	Aroma proveniente dos compostos ácidos voláteis	<u>Fraco:</u> 12 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel  <u>Intenso:</u> 12 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel + 0,5 g de extrato de própolis marca Apisnutri
Doce	Aroma proveniente de alimentos açucarados	<u>Fraco:</u> 5 g de Xarope de Glicose de Milho marca Karo + 25 mL de água  <u>Intenso:</u> 25 g de Xarope de Glicose de Milho marca Karo + 25 mL de água
Fermentado	Aroma proveniente de alimentos fermentados	<u>Fraco:</u> 15 g do mel congelado  <u>Intenso:</u> 15 g do mel maturado a 30±5 °C
Mel	Aroma característico de mel	<u>Fraco:</u> 5 g de mel florada predominantemente silvestre + 10 mL de água  <u>Intenso:</u> 15 g de mel florada predominantemente silvestre
Florada Silvestre	Aroma proveniente de flores de um pomar	<u>Fraco:</u> 5 ml de essência de flores + 20 ml de água  <u>Intenso:</u> 20 ml de essência de flores
Própolis	Aroma de extrato de própolis	<u>Fraco:</u> 5 ml de extrato de própolis + 40 ml de água  <u>Intenso:</u> 5 ml de extrato própolis + 10 ml de água
<b>Sabor</b>		
Gosto Ácido	Sensação característica produzida na ingestão de alimentos ácidos	<u>Fraco:</u> 35 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel + 0,1 g de extrato de própolis marca Apisnutri pH

		final 3,90  <u>Intenso:</u> 35 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel + 0,7 g de extrato de própolis marca Apisnutri pH final 3,83
Gosto Doce	Sensação característica produzida na ingestão de alimentos açucarados	<u>Fraco:</u> Solução Aquosa de Sacarose a 3% (g/100g)  <u>Intenso:</u> Solução Aquosa de Sacarose a 12% (g/100g)
Sabor Fermentado	Sensação característica produzida na ingestão de fermentados	<u>Fraco:</u> 25 g do mel congelado  <u>Intenso:</u> 25 g do mel maturado a 30±5 °C
Sabor de Mel	Sensação característica produzida na ingestão de mel	<u>Fraco:</u> 25 g de mel florada predominantemente silvestre + 25 mL de água  <u>Intenso:</u> 25 g de mel florada predominantemente silvestre
Própolis	Sensação característica produzida na ingestão de extrato de própolis.	<u>Fraco:</u> 25 g de mel com 0,25% de extrato de própolis  <u>Intenso:</u> 25 g de mel com 2% de extrato de própolis
Adstringente	Sensação característica produzida na ingestão de alimentos que causa concentrações mucosas na boca	<u>Fraco:</u> 5 ml de extrato de propolis + 40 ml de água  <u>Intenso:</u> 5 ml de extrato própolis + 10 ml de água
<b>Textura</b>		
Viscosidade	Força necessária de sucção para remover o	<u>Pouco:</u> 20 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel + 5 mL de água

	produto de uma colher	(460 cP)  <u>Muito:</u> 20 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel a 7 °C (1150 cP)
Arenosidade	Sensação de areia na cavidade bucal	<u>Ausência:</u> 30 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel  <u>Intensa:</u> 30 g de mel florada predominantemente laranjeira Casa do Mel + 2 g de sacarose

**Fonte:** o próprio autor.

**ANEXO G**

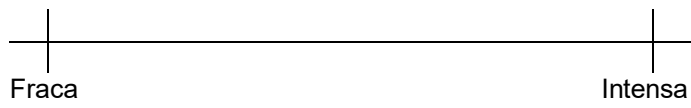
Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Por favor, prove a amostra e avalie a intensidade percebida para cada atributo colocando um traço vertical nas escalas correspondentes.

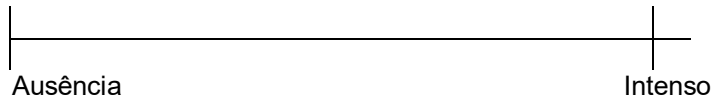
Amostra: \_\_\_\_\_

**APARÊNCIA**

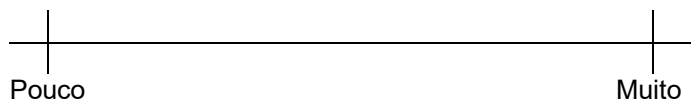
Cor Amarela



Brilho

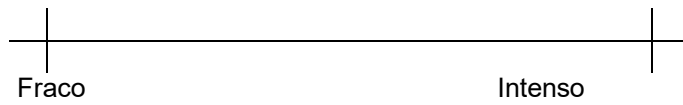


Transparência

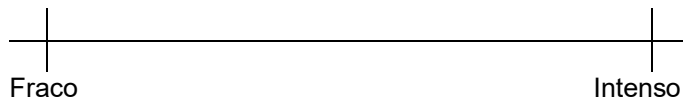


Bolhas de ar	
Ausência	Muito
Pontos Escuros	
Ausência	Muito
AROMA	
Ácido	
Fraco	Intenso
Doce	
Fraco	Intenso
Fermentado	
Fraco	Intenso
Mel	
Fraco	Intenso
Gosto Ácido	

Florada Silvestre

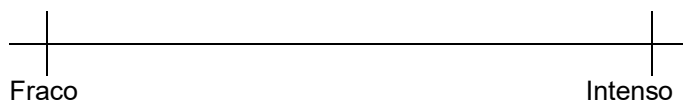


Própolis

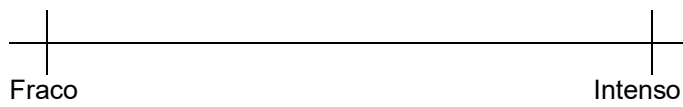


SABOR

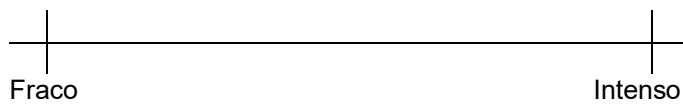
Ácido



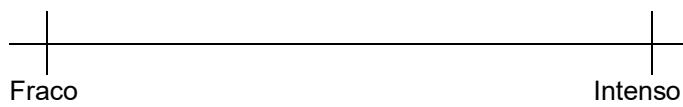
Doce



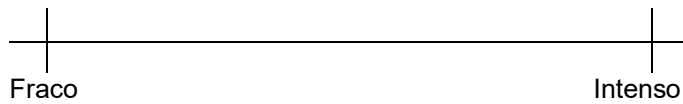
Fermentado



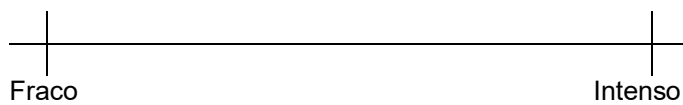
Mel



Própolis



Adstringência



Arenosidade

