

Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia

Microbiological evaluation of trigonine bee (Apidae: Trigonini) honey samples from the State of Bahia – Brazil

Bruno de Almeida SOUZA^{1*}, Luís Carlos MARCHINI², Carlos Tadeu dos Santos DIAS³, Melissa ODA-SOUZA⁴, Carlos Alfredo Lopes de CARVALHO⁵, Rogério Marcos de Oliveira ALVES⁶

Resumo

O mel é um produto que apresenta atividade antimicrobiana atribuída a fatores físicos e químicos. Mesmo assim, ainda é possível encontrar uma série de microrganismos presentes neste produto e que servem como indicadores de qualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do mel produzido por espécies de abelhas sem ferrão (Trigonini) do Estado da Bahia. Quatorze amostras de mel foram avaliadas quanto ao teor de umidade, atividade de água, contagem padrão de bolores e leveduras, e presença de microrganismos do grupo coliforme. Um total de 50,0% das amostras apresentou contagem padrão para bolores e leveduras acima do máximo permitido pela regulamentação brasileira para alimentos. Esta desclassificação de amostras assepticamente colhidas indica a necessidade de identificação desta microbiota e sua possível ocorrência natural no mel produzido por este grupo de abelhas. Nenhuma das amostras foi desclassificada em relação à contagem de microrganismos do grupo coliforme.

Palavras-chave: atividade de água; bolores e leveduras; coliformes; controle de qualidade microbiológica; mel de abelhas sem ferrão.

Abstract

Honey is a product that presents antimicrobial activity attributed to physical and chemical factors. Even so, it is still possible to find many microorganisms present in this product, which can be used as quality indicators. The objective of this work was to evaluate the microbiologic quality of the honey produced by stingless bee species from the State of Bahia, Brazil. Fourteen samples of honey were evaluated for the moisture content, water activity, standard counting of moulds and yeasts, and presence of microorganisms of coliform group. A total of 50.0% of the samples presented standard counting of moulds and yeasts above the maximum value permitted by the Brazilian food legislation. This disqualification of samples aseptically harvested indicates the need of identification of this microbiota and its possible natural occurrence in the honey produced by this group of bees. None of the samples was disqualified regarding the counting of microorganisms of the coliform group.

Keywords: water activity; moulds and yeasts; coliform; microbiological quality control; stingless bee honey.

1 Introdução

O mel, juntamente com os demais produtos das abelhas, está associado a uma imagem de produto natural, saudável e limpo (BOGDANOV, 2006), sendo atribuídas a ele propriedades medicinais e atividade antimicrobiana, geralmente relacionadas às suas características físicas e químicas (MOLAN, 1999).

A despeito destas características ainda é possível observar a ocorrência de diversos microrganismos no mel, que se constituem em um dos principais critérios de qualidade do produto, juntamente com as suas características sensoriais, químicas e físicas. Internacionalmente, estes critérios de qualidade são especificados em regulamentos, compilados no *Codex Alimentarius* (BOGDANOV et al., 1999). Apesar

da atual legislação brasileira para mel (BRASIL, 2000) não contemplar as características microbiológicas aceitáveis para o produto, estes conceitos precisam ser revistos principalmente por se tratar de um produto consumido por crianças, idosos, gestantes e doentes (TCHOUMBOUE et al., 2007), sendo os únicos valores de referência estabelecidos pela RDC 012 da ANVISA (BRASIL, 2001) e constituindo na contagem de bolores e leveduras, e verificação da presença de coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C.

Importante ressaltar que todas estas regulamentações que visam ao controle de qualidade do mel, seja nacional ou internacional, consideram características de qualidade

Recebido para publicação em 19/12/2007

Aceito para publicação em 24/7/2008 (003111)

¹ Núcleo de Pesquisas com Abelhas, Embrapa Meio-Norte, Teresina – PI, Brasil, E-mail: bruno@cpamn.embrapa.br

² Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba – SP, Brasil

³ Departamento de Ciências Exatas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba – SP, Brasil

⁴ Departamento de Ciências Florestais, Programa de Pós Graduação em Recursos Florestais, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba – SP, Brasil

⁵ Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas – BA, Brasil

⁶ Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia Baiano, Catu – BA, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

atendidas, em sua maioria, pelo mel produzido pelas abelhas *Apis mellifera*. No entanto, o Brasil possui, de acordo com Silveira et al. (2002), cerca de 192 espécies de abelhas sem ferrão pertencentes a diversos gêneros e que produzem um mel com elevado teor de umidade, como verificado para *Melipona* (SOUZA et al., 2004; ALVES et al., 2005), *Scaptotrigona* (ALMEIDA-ANACLETO, 2007) e *Tetragonisca* (RODRIGUES et al., 1998; ALMEIDA-MURADIAN; BARION, 2007), que pode desencadear processos fermentativos quando associada à presença de levedos.

Além da umidade, também o conceito de atividade de água tem sido utilizado por agências regulatórias para avaliação da estabilidade do alimento durante sua armazenagem, com enfoque no crescimento de microrganismos indesejáveis, definições de potencial de riscos alimentares, controle de pontos críticos, normas para alimentos em conservas e exigências de embalagem (FONTANA Jr., 2000).

Os trigoníneos (Trigonini) constituem um grupo muito diversificado de abelhas sem ferrão, englobando a maioria dos gêneros existentes, à exceção de *Melipona* (Meliponini). Alguns de seus membros estão distribuídos por todo o território brasileiro, a exemplo da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*), produtora de um mel de sabor e qualidade diferenciados. Mesmo apresentando esta importância, ainda são escassos os estudos voltados à avaliação microbiológica do mel produzido por este grupo de espécies de abelhas, principalmente se considerando a sua larga utilização com fins alimentares e mesmo medicinais.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão pertencentes à tribo Trigonini, provenientes de diferentes localidades do Estado da Bahia, verificando a possível presença de contaminantes microbiológicos que possam comprometer a utilização deste produto para consumo humano direto.

2 Material e métodos

2.1 Colheita das amostras de mel

Foram utilizadas 14 amostras de mel de abelhas sem ferrão produzido pelos seguintes gêneros: *Frieseomelitta* (1 amostra); *Nannotrigona* (3 amostras); *Partamona* (1 amostra); *Scaptotrigona* (4 amostra); e *Tetragonisca* (5 amostras). As amostras foram colhidas entre dezembro de 2004 e maio de 2006, provenientes de diferentes localidades do Estado da Bahia (Tabela 1) em suas respectivas épocas de produção.

As amostras foram obtidas por meio de sucção com seringa descartável ou bomba elétrica, sendo armazenadas em potes plásticos tipo PET com capacidade para 200 mL de fechamento hermético e mantidas sob refrigeração (aproximadamente 5,0 °C) até realização das análises no Laboratório de Insetos Úteis, setor de Entomologia do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, campus de Piracicaba – SP.

Tabela 1. Gêneros de trigoníneos (Apidae: Trigonini), codificação e locais de colheita (localidade e coordenadas) das amostras de mel submetidas à contagem padrão de bolores e leveduras (UFC.g⁻¹) e determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C (NMP.g⁻¹).

Gêneros	Código da amostra	Locais de colheita	Coordenadas
<i>Frieseomelitta</i>	1	Porto de Sauípe	12° 22' S e 37° 53' O
<i>Nannotrigona</i>	2, 3, 4	Camaçari	12° 58' S e 38° 15' O
<i>Partamona</i>	5	Itaberaba	12° 31' S e 40° 18' O
<i>Scaptotrigona</i>	6, 8	Porto de Sauípe	12° 22' S e 37° 53' O
<i>Scaptotrigona</i>	9	Itaberaba	12° 31' S e 40° 18' O
<i>Scaptotrigona</i>	7	Camaçari	12° 58' S e 38° 15' O
<i>Tetragonisca</i>	10, 12	Salvador	12° 59' S e 39° 26' O
<i>Tetragonisca</i>	11, 13, 14	Porto de Sauípe	12° 22' S e 37° 53' O

2.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas seguindo metodologia descrita nas normas internacionais (DOWNES; ITO, 2001) para cada grupo de microrganismo. Nestas análises foi realizada a contagem padrão de bolores e leveduras, e pesquisadas as presenças de coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C nas amostras de mel.

Uma alíquota de 25,0 g das amostras de mel foi tomada para preparação da primeira diluição (10⁻¹) em 225,0 mL de água peptonada tamponada 0,1%, e as preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL do mesmo diluente para obtenção das concentrações 10⁻² e 10⁻³ de mel.

Para contagem padrão dos bolores e leveduras, 1,0 mL das diluições foi plaqueado em profundidade, utilizando o meio Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10% até pH 3,5. A incubação se deu em estufa bacteriológica a 25 °C durante 5 dias. Após esse período, as placas foram contadas para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g⁻¹). Para a pesquisa de coliformes, foi utilizada a técnica de fermentação em tubos múltiplos, sendo inicialmente realizado o teste presuntivo utilizando o caldo lauril sulfato triptose (LST) para incubação das diluições, permanecendo este material em estufa para demanda biológica de oxigênio (BOD) a 35 °C por 48 horas.

Para os tubos da série LST que apresentaram resultados positivos (formação de gás no interior do tubo de Duran), foi realizado o teste confirmatório utilizando o caldo verde bile brilhante (VBB) para coliformes a 35 °C e o caldo *Escherichia coli* (EC) para coliformes a 45 °C, sendo este último mantido sob agitação. O número de coliformes (NMP.g⁻¹) foi obtido pela tabela de Hoskins.

2.3 Umidade e atividade de água (aw) das amostras de mel

Além das análises microbiológicas, foram também obtidas informações sobre a umidade e a atividade de água (aw) das amostras de mel. A umidade foi determinada por meio de refratômetro específico para mel (ATAGO Co., 2007) e a aw, com o equipamento AquaLab 3TE para determinação da atividade de água pelo ponto de orvalho (DECAGON, 2005).

2.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos para cada espécie, em triplicata, foram analisados usando o programa SAS (SAS, 2004), sendo calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre estas características e a contagem de bolores e leveduras. Para três amostras de mel de *Nannotrigona*, não foi possível obter o valor de *aw* devido à quantidade insuficiente de mel por amostra. Desta forma, estes dados faltantes foram estimados pela técnica de imputação múltipla (BERGAMO et al., 2008) e são indicados na Tabela 2.

3 Resultados e discussão

Os resultados encontrados para as contagens padrão de bolores e leveduras (UFC.g⁻¹), número mais provável de coliformes a 35 °C e a 45 °C (NMP.g⁻¹), umidade e atividade de água das amostras são apresentados na Tabela 2.

De acordo com os resultados obtidos para contagem padrão de bolores e leveduras, sete amostras, correspondendo a 50,0% do total, apresentaram valores acima do máximo estabelecido pela regulamentação técnica para alimentos, RDC 012 (BRASIL, 2001), sendo consideradas impróprias para o consumo humano direto. Os valores máximo e mínimo foram verificados nas amostras 9 e 12, respectivamente, $1,0 \times 10^3$ e $4,4 \times 10^3$ UFC.g⁻¹.

Avaliando a qualidade microbiológica de amostras de mel produzido por cinco espécies de abelhas sem ferrão no Estado de São Paulo (*T. angustula*, *S. bipunctata*, *N. testaceicornis*, *F. varia* e *Tetragona clavipes*), Almeida-Anacleto (2007) encontrou um total de 20 amostras (correspondendo a 64,5% do total analisado) com contagem de bolores e leveduras acima do permitido pela regulamentação brasileira, variando entre $1,50 \times 10^2$ e $1,58 \times 10^4$

Tabela 2. Contagem padrão de bolores e leveduras (UFC.g⁻¹), número mais provável de coliformes a 35 °C e a 45 °C (NMP.g⁻¹), umidade e atividade de água (*aw*), determinados em amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia.

Gêneros	Amo	Bol./Lev. (UFC.g ⁻¹)	Coliformes		Umi (%)	aw
			35 °C (NMP.g ⁻¹)	45 °C (NMP.g ⁻¹)		
<i>Frieseomelitta</i>	1	9,0 × 10	<3,0	<3,0	21,0	0,618
<i>Nannotrigona</i>	2	1,3 × 10 ²	<3,0	<3,0	28,3	<u>0,729</u>
<i>Nannotrigona</i>	3	7,5 × 10	<3,0	<3,0	27,8	<u>0,729</u>
<i>Nannotrigona</i>	4	2,0 × 10	<3,0	<3,0	27,5	<u>0,729</u>
<i>Partamona</i>	5	2,2 × 10 ²	<3,0	<3,0	36,6	0,810
<i>Scaptotrigona</i>	6	4,0 × 10 ²	<3,0	<3,0	32,4	0,733
<i>Scaptotrigona</i>	7	2,5 × 10	<3,0	<3,0	42,1	0,837
<i>Scaptotrigona</i>	8	4,6 × 10 ²	<3,0	<3,0	33,3	0,745
<i>Scaptotrigona</i>	9	<1,0 × 10	<3,0	<3,0	35,8	0,762
<i>Tetragonisca</i>	10	3,0 × 10 ³	<3,0	<3,0	26,5	0,660
<i>Tetragonisca</i>	11	3,5 × 10	<3,0	<3,0	27,0	0,609
<i>Tetragonisca</i>	12	4,4 × 10 ³	<3,0	<3,0	24,7	0,598
<i>Tetragonisca</i>	13	4,5 × 10	<3,0	<3,0	26,9	0,636
<i>Tetragonisca</i>	14	2,0 × 10 ³	<3,0	<3,0	27,9	0,644

Amo: amostra; Bol./Lev.: bolores e leveduras; Umi: umidade; aw: atividade de água; valores imputados são destacados por sublinhado.

UFC.g⁻¹. Nesse estudo, as espécies *S. bipunctata* e *T. angustula* foram, dentre as espécies com mais de cinco amostras, as que apresentaram um maior percentual de desclassificação, 83,4 e 60,0%, respectivamente.

Outros trabalhos relacionados à quantificação de microrganismos no mel foram desenvolvidos, porém a maioria analisando o mel produzido por *A. mellifera*, sendo ainda poucos os trabalhos com mel de abelhas sem ferrão.

Em amostras de mel de Camarões, produzido por *A. mellifera*, Tchoumboue et al. (2007) encontraram presença de contaminação por microrganismos em mais de 73,4% das amostras analisadas, atribuindo esta contaminação ao processamento pós-colheita ou adulteração do produto, uma vez que sua amostra de mel testemunha não apresentou estes níveis de contaminação. Também para mel de *Apis*, Finola et al. (2007) determinaram contagem menor que $1,0 \times 10$ UFC.g⁻¹ para bolores e leveduras em todas as amostras analisadas, apesar do baixo nível de acidez das amostras. No Brasil, Sodré et al. (2007) determinaram para amostras provenientes dos Estados do Piauí e Ceará, desclassificação de 76,3 e 90,0%, respectivamente, devido à elevada contagem de bolores e leveduras.

Avaliando a qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão submetido a diferentes métodos de colheita (método do produtor e método asséptico), Oliveira et al. (2005) verificaram que, apesar de em nenhum dos dois métodos ter sido verificada a presença de microrganismos do grupo coliforme, a contagem de bolores e leveduras em 65% das amostras colhidas pelos produtores estava acima do máximo estabelecido pelas normas brasileiras, contra 25% das colhidas assepticamente. A importância destes cuidados durante a colheita das amostras de mel de abelhas sem ferrão foi demonstrada por Souza et al. (2006), comparando as contagens de bolores e leveduras em amostras de mel de *Melipona scutellaris* colhidas por sucção e por escurimento.

A presença de leveduras osmofílicas (tolerantes ao açúcar) é geralmente aceita para todo mel, em maior ou menor quantidade, as quais podem levar o produto a fermentar, implicando na hidrólise de açúcares com produção de álcool e gás carbônico (WHITE JÚNIOR, 1978). A quantificação deste álcool (etanol) tem sido sugerida com o objetivo de constatar estes processos fermentativos (RUOFF; BOGDANOV, 2004). No entanto, essa análise deve ser utilizada com ressalvas, sendo inclusive considerada como um critério pouco recomendável por Huidobro et al. (2001). Estes autores verificaram diferentes comportamentos na variação do etanol presente em amostras de mel avaliadas durante o período de um ano, possivelmente relacionados também à presença, ou não, de leveduras consumidoras deste álcool.

A origem dos fungos e leveduras no mel muitas vezes é de ocorrência natural. Muitos destes microrganismos naturalmente associados às abelhas representam uma microflora não patogênica (GILLIAM, 1997), sendo muitos ainda desconhecidos. Eltz et al. (2002), citando diversos autores, informam que a coleta de fungos por abelhas em substituição ao pólen já foi verificada para espécies dos gêneros *Apis*, *Trigona* e *Partamona*. Teixeira et al. (2003) descreveram uma espécie de levedura isolada em abelhas

sem ferrão e associada ao alimento (mel e pólen), própolis, detritos e abelhas adultas, das espécies *Melipona quadrifasciata*, *M. rufiventris*, *T. angustula* e *Trigona fulviventris*. Também Machado (1971) relata a simbiose entre espécies de abelhas sociais brasileiras e a bactéria *Bacillus meliponotrophicus*.

Apesar da conhecida influência da quantidade de água sobre o crescimento de microrganismos, a umidade e a atividade de água das amostras de mel não explicaram a contagem de bolores e leveduras encontrada (Tabela 3). Este resultado pode estar relacionado ao fato da quantificação destes microrganismos no mel representarem dados pontuais sobre esta quantidade e não o seu crescimento neste meio. Informações precisas poderiam ser encontradas por meio de determinações feitas no tempo. De acordo com Isengard et al. (2006), o acompanhamento destas características da água nos alimentos é de grande importância pois afetarão tanto a estabilidade enzimática quanto microbiológica do produto, com reflexos sobre aspectos tecnológicos, nutricionais, logísticos, econômicos e legais.

Em nenhuma das amostras de mel de trigoníneos analisadas foi verificada a presença de microrganismos do grupo coliforme, sugerindo uma observância às boas práticas de manipulação em relação ao mel. Oliveira et al. (1984) alertam que a presença desses microrganismos indicadores pode sugerir também a possível presença de outros microrganismos de maior patogenicidade e mais difíceis de serem detectados que os do grupo coliforme.

Em amostras de mel de trigoníneos, Almeida-Anacleto (2007) verificou a presença de coliformes a 35 °C em duas amostras produzidas por *T. angustula* (de um total de 31 amostras produzidas por cinco espécies de abelhas sem ferrão), sendo ausentes os coliformes a 45°.

A presença deste grupo de microrganismos indica contaminação externa do produto, uma vez que estas bactérias necessitam de $a_w > 0,91$ para seu crescimento (BOBBIO; BOBBIO, 2001). Para as amostras analisadas no presente estudo, a maior atividade de água foi de $a_w = 0,837$, verificada para a amostra 7, sendo insuficiente para o desenvolvimento de patógenos enterais.

Outra constatação diz respeito ao fato de algumas das amostras de mel terem sido produzidas por meliponíneos considerados de hábitos anti-higiênicos, como *Scaptotrigona* e *Partamona*, como observado por Nogueira-Neto (1997). Mesmo com esses hábitos indesejáveis, as suas amostras de mel não foram comprometidas pela presença de coliformes.

De acordo com Cortopassi-Laurino e Gelli (1991), quando comparado ao mel produzido por *A. mellifera*, o mel das abelhas

sem ferrão responde de maneira diferente às cepas de bactérias e, no geral, possui maiores propriedades bacteriostática e bactericida. Contrariamente a esses autores, Miorin et al. (2003), avaliando a atividade antibacteriana de mel e própolis produzidas por *T. angustula* e *A. mellifera* contra *S. aureus*, verificaram que tanto o mel quanto a própolis apresentaram atividade contra este microrganismo, sem diferença estatística entre as espécies de abelhas, sendo a atividade da própolis maior que a do mel. Esta mesma similaridade de ação entre o mel de *Apis* e de meliponíneos foi verificada por Demera e Angert (2004), com amostras provenientes de diferentes regiões fitogeográficas da Costa Rica.

Apesar do registro desta atividade antimicrobiana, a adoção de boas práticas de produção associadas a técnicas de conservação que prolonguem a vida de prateleira do produto ainda têm sido sugeridas, levando-se em consideração o elevado teor de água do mel de meliponíneos e a presença de leveduras (FONSECA et al., 2006). Dentro desta perspectiva, a aplicação da técnica de desumidificação (ALVES et al., 2007) pode vir a atender a este propósito, sem alterações expressivas na qualidade e aceitabilidade do produto (CARVALHO et al., 2009). Técnicas de irradiação do produto também são sugeridas como alternativa aos métodos tradicionais de pasteurização e refrigeração, inclusive apresentando ação sobre esporos de *Clostridium* (MIGDAL et al., 2000), devendo ainda ser utilizadas com ressalva em função do pouco conhecimento sobre a composição microbiológica deste mel.

4 Conclusões

Metade das amostras de mel de trigoníneos analisadas apresentou contagem padrão de bolores e leveduras acima do máximo previsto na regulamentação brasileira para alimentos.

As contagens de bolores e leveduras não apresentaram correlação com o teor de umidade e a atividade de água das amostras.

Estudos devem ser realizados com a finalidade de identificar os microrganismos presentes no mel, e determinar se são naturalmente associados a este produto.

Nenhuma das amostras foi positiva para presença do grupo coliforme.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP o auxílio concedido; e ao CNPq a concessão de bolsas de doutorado para o primeiro autor e de produtividade em pesquisa aos segundo, terceiro e quinto autores.

Referências bibliográficas

ALMEIDA-ANACLETO, D. de. **Recursos alimentares, desenvolvimento das colônias e características físico-químicas, microbiológicas e polínicas de mel e cargas de pólen de meliponíneos, do município de Piracicaba, Estado de São Paulo**. Piracicaba, 2007. 133 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Spearman entre a contagem de bolores e leveduras, umidade e atividade de água determinadas em amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) provenientes do Estado da Bahia.

	Bolores e leveduras	Umidade	Atividade de água
Umidade	-0,2615 (p = 0,3664)	1,0000	0,9161 (p < 0,001)
Atividade de água	-0,2936 (p = 0,3083)	-	1,0000

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de; BARION, F. Physicochemical evaluation of Brazilian honey from Jataí bee (*Tetragonisca angustula*). In: APIMONDIA INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS, 40, 2007, Melbourne, Austrália. **Proceedings...** Melbourne, Austrália: [s.n.], 2007. p. 90-91.
- ALVES, R. M. de O. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 644-650, 2005.
- ALVES, R. M. de O. et al. Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. **Mensagem Doce**, n. 91, p. 2-8, 2007.
- ATAGO Co. **Easy guide to refractometers**. USA: Atago Co. Disponível em: <<http://www.atago.net>>. Acesso em: 25 Novembro 2007.
- BERGAMO, G. C.; DIAS, C. T. dos S.; KRZANOWSKI, W. J. Distribution-free multiple imputation in an interaction matrix through singular value decomposition. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 4, p. 422-427, 2008.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento dos alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2001. 144 p.
- BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidologie**, v. 37, n. 1, p. 1-18, 2006.
- BOGDANOV, S. et al. Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 61-69, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 11**, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/anexo_intrnorm11.htm>. Acesso em: 11 Julho 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 12**, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 03 Outubro 2007.
- CARVALHO, C. A. L. et al. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 1, p. 143-149, 2009.
- CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. **Apidologie**, v. 22, n. 1, p. 61-73, 1991.
- DECAGON. **Aqualab - Water active meter. Operator's Manual**. [S.l.]: Decagon Devices Inc., 2005. 112 p.
- DEMERA, J. H.; ANGERT, E. R. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Cost Rica. **Apidologie**, v. 35, n. 4, p. 411-417, 2004.
- DOWNES, F. P.; ITO, K. (ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676 p.
- ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; GÖRKE, C. Collection of mold (*Rhizopus* sp.) spores in lieu of pollen by the stingless bee *Trigona collina*. **Insecta Sociata**, v. 49, n. 1, p. 28-30, 2002.
- FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C.; MARIOLI, J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from Central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649-1653, 2007.
- FONSECA, A. A. O. et al. **Qualidade do mel de abelhas sem ferrão**: uma proposta para boas práticas de fabricação. Cruz das Almas: UFRB/SECTI-FAPESEB, 2006. 70 p. Série Meliponicultura, n. 05.
- FONTANA Jr., A. J. Understanding the importance of water activity in food. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 7-10, 2000.
- GILLIAM, M. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. **FEMS Microbiology Letter**, v. 155, n. 1, p. 1-10, 1997.
- HUIDOBRO, J. F. et al. Variation of apparent ethanol content of unspoiled northwestern Spanish honeys during storage. **Food Chemistry**, v. 73, n. 4, p. 417-420, 2001.
- ISENGARD, H. D.; KLING, R.; REH, C. T. Proposal of a new reference method to determine the water content of dried dairy products. **Food Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 418-422, 2006.
- MACHADO, J. O. Simbiose entre as abelhas sociais brasileiras (Meliponinae, Apidae) e uma espécie de bactéria. **Ciência e cultura**, v. 23, n. 5, p. 625-633, 1971.
- MIGDAL, W. et al. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, n. 3-6, p. 285-288, 2000.
- MIORIN, P. L. et al. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 5, p. 913-920, 2003.
- MOLAN, P. C. Why honey is effective as a medicine. I. Its use in modern medicine. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 80-92, 1999.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapiss, 1997. 445 p.
- OLIVEIRA, C. P. S.; CABRAL, T. M. A.; LIMA, A. W. O. Coliformes totais e fecais e caracterização dos coliformes fecais em queijo tipo coalho comercializado em João Pessoa - PB. **Ciência, cultura, saúde**, v. 6, n. 1, p. 34-38, 1984.
- OLIVEIRA, E. G. et al. Qualidade microbiológica do mel de tiúba (*Melipona compressipes fasciculata*) produzido no Estado do Maranhão. **Higiene alimentar**, v. 19, n. 133, p. 92-99, 2005.
- RODRIGUES, A. C. L.; MARCHINI, L. C.; CARVALHO, C. A. L. de. Análises de mel de *Apis mellifera* L., 1758 e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) coletado em Piracicaba-SP. **Revista de Agricultura**, v. 73, n. 3, p. 255-262, 1998.
- RUOFF, K.; BOGDANOV, S. Authenticity of honey and other bee products. **Apiacta**, v. 38, n. 4, p. 317-327, 2004.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT 9.1 User's guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004. 5121 p.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras. Sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Fundação Araucária, 2002. 253 p.
- SODRÉ, G. da S. et al. Conteúdo microbiológico de méis de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) dos Estados do Ceará e Piauí. **Boletim de Indústria Animal**, v. 64, n. 1, p. 39-42, 2007.
- SOUZA, B. de A. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.
- SOUZA, B. de A. et al. Influência do método de coleta sobre a qualidade microbiológica do mel da abelha urucu (*Melipona scutellaris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16; CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 2, 2006, Aracaju. **Anais...** Aracaju, 2006. 1 CD-ROM.
- TCHOUMBOUE, J. et al. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, p. 908-913, 2007.
- TEIXEIRA, A. C. P. et al. *Starmerella meliponinorum* sp. nov., a novel ascomycetous yeast species associated with stingless bees. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 339-343, 2003.
- WHITE JÚNIOR, J. W. Honey. **Advances in Food Research**, v. 22, p. 287-374, 1978.