



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NIEDJA ELOI DE SOUSA GUIMARÃES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS MÉIS DE
ABELHA DO SEMIÁRIDO PARAIBANO

CAMPINA GRANDE - PB

2024

NIEDJA ELOI DE SOUSA GUIMARÃES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO MEL DE
ABELHA DO SEMIÁRIDO PARAIBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento de exigência, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos

Orientador: Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes

CAMPINA GRANDE - PB

2024

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

G963c Guimaraes, Niedja Eloi de Sousa.
Caracterização química e potencial antimicrobiano dos méis de abelha do semiárido paraibano [manuscrito] / Niedja Eloi de Sousa Guimaraes. - 2024.
67 p.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.
"Orientação : Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes, Departamento de Farmácia - CCBS."
1. Apis mellífera. 2. Mel. 3. Agente antibacteriano. 4. Antibacteriano natural. 5. Atividade antimicrobiana. I. Título
21. ed. CDD 641.852

NIEDJA ELOI DE SOUSA GUIMARÃES

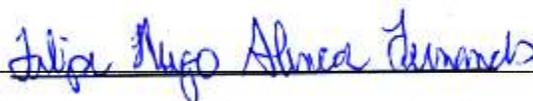
**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO MEL DE
ABELHA DO SEMIÁRIDO PARAIBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento de exigência, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

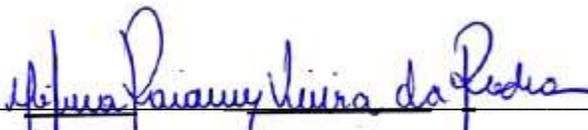
Área de concentração: Desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos

Aprovada em: 22/03/2024

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba - UEPB



Prof. Dra. Wilma Raianny Vieira da Rocha
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB
(Examinadora interna)



Prof. Dr. Thiago Pereira Chaves
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG
(Examinador externo)

Ao meu marido, Josué, por todo amor e apoio
incondicional. E também aos meus filhos,
Felipe, Alícia e Heloísa, por serem a minha
motivação para cada conquista. DEDICO.

AGRADECIMENTO

Agradeço à Deus, por estar no controle de tudo, sempre.

Agradeço sinceramente a todos que contribuíram para a realização deste trabalho. Expresso minha gratidão ao meu orientador, pela orientação sábia e incentivo constante. Agradeço também à minha família pelo apoio incondicional e compreensão durante todo o processo.

Aos amigos e colegas que compartilharam suas ideias e experiências, meu muito obrigado.

Por fim, agradeço à instituição de ensino pelo suporte oferecido. Este trabalho não seria possível sem o auxílio de todos vocês."

“Àquele que é capaz de fazer infinitamente mais do que tudo o que pedimos ou pensamos”.

Efésios 3:20

RESUMO

O mel tem sido eficaz no tratamento de uma variedade de lesões, que vão desde queimaduras até feridas persistentes que não cicatrizam. Ele exerce função como um agente antibacteriano e antibiofilme, possuindo propriedades tanto anti-inflamatórias quanto pró-inflamatórias, além de oferecer benefícios para a saúde respiratória, ajudando a combater infecções respiratórias e bacterianas. A resistência microbiana tem sido um grande desafio na saúde pública global e uma grave ameaça contra a saúde humana no século 21, e pela necessidade cada vez maior de combater infecções causadas por microrganismos resistentes aos antimicrobianos existentes, os estudiosos têm buscado opções terapêuticas de origem natural, com efeitos medicinais, a fim de aplicar essas substâncias como forma alternativa à terapêutica medicamentosa convencional. O objetivo deste estudo foi caracterizar quimicamente e avaliar o potencial biológico do mel de abelhas sem ferrão, produzido no semiárido paraibano em diferentes épocas. Os méis da abelha *Apis mellifera* foram adquiridos diretamente de meliponicultores do semiárido paraibano, predominantemente das floradas de aroeira e marmeleiro, coletados no período seco e chuvoso. A caracterização dos méis foi realizada pelas análises do pH, viscosidade, grau de Brix e densidade. O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*. Os testes antioxidantes foram realizados utilizando o método DPPH (2,2 difenil-1-picril hidrazil). O perfil térmico dos méis foi determinado por meio de técnicas Termogravimétricas (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA). A impressão digital (*fingerprint*) dos méis de abelhas foi obtida utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O potencial antibacteriano dos méis de abelha do semiárido paraibano, foi determinado pelos ensaios de difusão em ágar, e pela concentração inibitória mínima/concentração bactericida mínima (CIM/CBM), por microdiluição em placas de 96 poços, contra as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), que estão frequentemente relacionadas a infecções de feridas, queimaduras e doenças respiratórias. Os três microrganismos testados, apresentaram sensibilidade aos méis de *Apis mellifera*, com concentrações inibitórias mínimas que variaram de 6,25% a 14,58% contra o *Staphylococcus aureus*, e de 6,25% a 20,83% contra a *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto que para a *Escherichia coli*, não houve variação, com a concentração inibitória mínima de 25%, para os quatro méis testados. Dentre os quatro méis de *Apis mellifera* analisados, o mel C (Marmeleiro, chuvoso) obteve a melhor atividade antibacteriana demonstrada contra

Staphylococcus aureus e *Pseudomonas aeruginosa*, e resultado semelhante aos demais contra *Escherichia coli*. Os méis do semiárido paraibano estudados, demonstraram potencial antibacteriano, e com estudos mais aprofundados, podem ser considerados como opção de ingrediente ativo farmacêutico, no tratamento de infecções bacterianas.

Palavras-chave: *Apis mellífera*; mel; atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Honey has been effective in treating a variety of injuries, ranging from burns to persistent wounds that do not heal. It functions as an antibacterial and antibiofilm agent, possessing both anti-inflammatory and pro-inflammatory properties, as well as offering respiratory health benefits by helping to combat asthmatic and bacterial infections. Microbial resistance has been a major challenge in global public health and a serious threat to human health in the 21st century. Due to the increasing need to combat infections caused by microorganisms resistant to existing antimicrobials, scholars have been exploring therapeutic options of natural origin with medicinal effects to apply these substances as an alternative to conventional drug therapy. The aim of this study was to chemically characterize and evaluate the biological potential of stingless bee honey produced in the semi-arid region of Paraíba at different times. Honey from the *Apis mellifera* bee was acquired directly from meliponiculturists in the semi-arid region of Paraíba, predominantly from flowering periods of Brazilian peppertree and quince, collected during the dry and rainy seasons. The characterization of honey was performed by analyzing pH, viscosity, Brix degree, and density. The total phenol content was determined by the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant tests were performed using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The thermal profile of honey was determined through Thermogravimetric (TG) and Differential Thermal Analysis (DTA) techniques. The fingerprint of bee honeys was obtained using high-performance liquid chromatography (HPLC). The antibacterial potential of semi-arid region bee honeys from Paraíba was determined by agar diffusion assays and minimum inhibitory concentration/minimum bactericidal concentration (MIC/MBC) by microdilution in 96-well plates against strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 17193), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), which are frequently associated with wound infections, burns, and respiratory diseases. All three tested microorganisms showed sensitivity to *Apis mellifera* honeys, with minimum inhibitory concentrations ranging from 6.25% to 14.58% against *Staphylococcus aureus* and from 6.25% to 20.83% against *Pseudomonas aeruginosa*, while for *Escherichia coli*, there was no variation, with a minimum inhibitory concentration of 25% for the four tested honeys. Among the four *Apis mellifera* honeys analyzed, honey C (Quince, rainy) showed the best antibacterial activity demonstrated against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, with similar results to the others against *Escherichia coli*. The studied semi-arid region honeys

from Paraíba demonstrated antibacterial potential and with further studies, they could be considered as an option for active pharmaceutical ingredient in the treatment of bacterial infections.

Keywords: *Apis mellifera*, honey, antimicrobial activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Aspectos taxonômicos da abelha <i>Apis mellifera</i>	17
Figura 2 -	Estrutura química de alguns compostos fenólicos encontrados no mel.....	20
Figura 3 -	Mecanismos de ação dos méis contra as bactérias.....	23
Figura 4 -	Mecanismos de resistência das bactérias.....	24
Figura 5 -	(A) Colônias de <i>Staphylococcus aureus</i> em placa com ágar manitol salgado. (B) Visualização microscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> pela coloração de Gram.....	25
Figura 6 -	(A) Colônias de <i>Escherichia coli</i> em ágar EMB. (B) Visualização microscópica de <i>Escherichia coli</i> pela coloração de Gram.....	26
Figura 7 -	Colônias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em placa de ágar CLED. (B) Antibiograma em ágar <i>Mueller Hinton</i> de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
Figura 8 -	Localização do município de São José dos Cordeiros.....	30
Figura 9 -	A) Processo de desoperculação do mel de abelha. (B) Processo de centrifugação do mel de abelha. (C) Méis de abelha armazenados em tubos cônicos para análise em laboratório.....	32
Figura 10 -	(A) Esquema para determinação dos fenóis totais. (B) Tubos com as amostras em diferentes concentrações para leitura. (C) Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-Mini 1240.....	34
Figura 11 -	(A) Pesagem do mel em balança analítica. (B) Analisador térmico simultâneo DTG-60 Shimadzu.....	37
Figura 12 -	Cromatógrafo Shimadzu modelo LC 20 A Prominence.....	38
Figura 13 –	Esquema para o preparo do inóculo das cepas bacterianas.....	39
Figura 14 –	Esquema para o ensaio de difusão em ágar.....	39
Figura 15 –	Esquema para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM)....	40
Figura 16 -	(a) TG do Mel A*; (b) DTA do Mel A*.....	49
Figura 17 -	(a) TG do Mel B*; (b) DTA do Mel B*.....	50
Figura 18 -	(a) TG do Mel C*; (b) DTA do Mel C*.....	51
Figura 19 -	(a) TG do Mel D*; (b) DTA do Mel D*.....	52
Figura 20 -	Cromatograma dos padrões.....	55
Figura 21 -	Cromatograma dos méis sobrepostos.....	56
Figura 22 -	Cromatograma dos méis fortificados com ácido gálico e vanilina.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Parâmetros aceitáveis para determinar a qualidade do mel.....	20
Tabela 2	–	Classificação das amostras dos méis pesquisados.....	31
Tabela 3	-	Determinação do pH dos méis.....	42
Tabela 4	-	Determinação do grau de Brix e densidade nas amostras analisadas.....	44
Tabela 5	-	Valores médios de três análises da amostras A-D diferentes \pm desvios padrão. TFT = teor de fenóis totais.....	45
Tabela 6	-	Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel A (Marmeleiro, seco), na razão de aquecimento de 10 °C min ¹	53
Tabela 7	-	Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel B (Aroeira, seco), na razão de aquecimento de 10 °C min ¹	53
Tabela 8	-	Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel C (Marmeleiro, chuvoso), na razão de aquecimento de 10 °C min ¹	53
Tabela 9	-	Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel D (Aroeira, chuvoso), na razão de aquecimento de 10 °C min ¹	54
Tabela 10	-	Média dos resultados obtidos nos testes de susceptibilidade, pela concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).....	58
Tabela 11	-	Resultado qualitativo, conforme parâmetros para determinação da potência antimicrobiana do mel, pela concentração inibitória mínima, expressas em porcentagem.....	59
Tabela 12	-	Resultados obtidos nos testes de susceptibilidade, pela concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), equivalentes em mg/mL de mel.....	60
Tabela 13	-	Medidas obtidas do diâmetro dos halos formados, no teste de difusão em ágar.....	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	Abelhas <i>Apis mellifera</i>	17
3.2	Mel	18
3.3	Composição e caracterização físico-química do mel	19
3.4	Principais atividades biológicas atribuídas ao mel	21
3.4.1	<i>Atividade antioxidante</i>	22
3.4.2	<i>Atividade antiinflamatória</i>	22
3.4.3	<i>Atividade antimicrobiana</i>	22
3.5	Resistência microbiana	23
3.5.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.5.2	<i>Escherichia coli</i>	26
3.5.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
3.6	Técnicas de caracterização	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	Origem dos méis	30
4.2	Determinação de pH	32
4.3	Viscosidade	33
4.4	Determinação do grau de Brix e densidade	33
4.5	Teor de fenóis totais	33
4.6	Validação do método analítico	34
4.6.1	<i>Linearidade</i>	34
4.6.2	<i>Seletividade</i>	35
4.6.3	<i>Limite de detecção</i>	35
4.6.4	<i>Limite de quantificação</i>	35
4.6.5	<i>Precisão</i>	35
4.6.6	<i>Robustez</i>	36

4.7	Atividade antioxidante	36
4.8	Caracterização térmica	36
4.9	<i>Fingerprint</i> /Perfil cromatográfico do mel.....	37
4.10	Atividade antimicrobiana	38
4.10.1	<i>Cepas bacterianas</i>	38
4.10.2	<i>Preparo do inóculo</i>	38
4.10.3	<i>Método de difusão em ágar</i>	39
4.10.4	<i>Concentração inibitória mínima e bactericida mínima</i>	40
4.11	Análise estatística.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	Determinação de pH.....	42
5.2	Viscosidade	42
5.3	Determinação do grau de Brix e densidade.....	43
5.4	Teor de fenóis totais.....	44
5.5	Validação do método de quantificação do Teor de Polifenóis Totais	45
5.5.1	<i>Seletividade</i>	45
5.5.2	<i>Linearidade</i>	46
5.5.3	<i>Limites de Quantificação e Detecção</i>	46
5.5.4	<i>Precisão</i>	47
5.5.5	<i>Robustez</i>	47
5.6	Atividade antioxidante.....	47
5.7	Caracterização térmica.....	47
5.8	Perfil cromatográfico (<i>Fingerprint</i>) das amostras de mel	55
5.9	Atividade Antimicrobiana.....	57
6	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

O mel de abelha e seus derivados têm sido apreciados a muito tempo, por seu valor nutricional elevado e suas propriedades medicinais, sendo um componente essencial em diversas formulações da medicina popular devido ao seu valor terapêutico. A composição fitoquímica do mel de abelha, pode fornecer moléculas bioativas de grande valor para o tratamento de infecções causadas por cepas bacterianas resistentes a medicamentos (Hamadou *et al.*, 2022). É um alimento elaborado pelas abelhas a partir do néctar das flores ou do melato. Reconhecido como um adoçante natural, é uma substância viscosa e aromática, e sua composição é complexa, abrangendo carboidratos, ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, minerais, vitaminas, lipídios, compostos aromáticos, flavonoides, pigmentos, ceras, grãos de pólen, diversas enzimas e outros fitoquímicos (Royo *et al.*, 2022).

Diversos estudos evidenciaram atividades do mel de abelha, como a capacidade cicatrizante, propriedades antioxidantes, antimicrobianas, nematocidas, anticâncer e anti-inflamatórias. O mel de abelha representa hoje um segmento de medicina alternativa conhecido como apiterapia, e muitos pesquisadores manifestaram recentemente seu interesse nos mecanismos de ação do mel de abelha como agente antimicrobiano natural (Feknous; Boumendjel, 2022).

A composição do mel de abelha depende de diversos fatores, e entre eles estão as condições climáticas, o solo e a vegetação, o que pode favorecer ou não, características importantes na sua atividade antimicrobiana a depender do lugar da produção (Campos *et al.*, 2003).

O Brasil, com rica biodiversidade, variabilidade climática e por sua amplitude territorial, se destaca com grande potencial na apicultura, uma vez que essas características favorecem a produção de mel de abelha o ano todo. O semiárido nordestino por sua vez, favorece a apicultura por possuir intensa floração natural, devido a vegetação característica da época seca e chuvosa, contribuindo assim para a manutenção das colônias de abelhas (Costa, 2017).

A atividade da apicultura é atraente na Paraíba, devido sua resistência a seca e ao crescimento econômico. No entanto, o estado ainda não explorou todo o seu potencial, focando principalmente na produção de mel de abelha em vez de produtos de maior valor agregado. A falta de conhecimento técnico também limita a produtividade e o rendimento dos apicultores. É crucial adquirir conhecimento para promover o desenvolvimento econômico da apicultura na Paraíba (Wanderley *et al.*, 2015).

A resistência microbiana tem sido um grande desafio na saúde pública global e uma grave ameaça contra a saúde humana no século 21, sua ocorrência se deve à interação natural entre microrganismos e o ambiente, mas também está diretamente associada ao uso indiscriminado dos antimicrobianos, assim como o uso exacerbado na agropecuária, a poluição pelo despejo do resíduo desses medicamentos no solo ou água, elevando assim, o número de infecções causadas por microrganismos resistentes a múltiplas drogas, levando à falha terapêutica (Silva et al., 2020). Pela necessidade cada vez maior de combater infecções causadas por microrganismos resistentes aos antimicrobianos existentes, os estudiosos têm buscado opções terapêuticas de origem natural, com efeitos medicinais, a fim de aplicar essas substâncias como forma alternativa à terapêutica medicamentosa convencional (Azevedo, 2019).

O mel tem sido eficaz no tratamento de uma variedade de lesões, que vão desde queimaduras até feridas persistentes que não cicatrizam. Ele exerce função como um agente antibacteriano e antibiofilme, possuindo propriedades tanto anti-inflamatórias quanto pró-inflamatórias (Martinotti *et al.*, 2019), além de oferecer benefícios para a saúde respiratória, ajudando a combater infecções asmáticas e bacterianas (Ayoub *et al.*, 2023).

Portanto, o interesse pelo mel nas pesquisas científicas tem aumentado, mas em sua maioria, são avaliados aspectos físico-químicos e da qualidade para o consumo alimentício, o que desperta, a necessidade de conhecer mais suas características farmacêuticas e atividade biológica. Diante de tantas premissas, esse estudo foi realizado, para caracterizar e analisar a atividade antimicrobiana do mel, produzido no semiárido paraibano, visando sua importância para posterior aplicabilidade em produtos terapêuticos nas mais diversas formas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar quimicamente e avaliar o potencial biológico do mel de abelhas sem ferrão, produzido no semiárido paraibano nas épocas seca e chuvosa.

2.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar os parâmetros físico-químicos dos méis de abelha, das floradas do semiárido paraibano estudados.
- b) Realizar a caracterização térmica dos méis de abelha utilizando técnicas de termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA).
- c) Desenvolver e validar o método adaptado de *Folin-Ciocalteu* para quantificação de polifenóis totais.
- d) Obter uma impressão digital (*fingerprint*) de mel de abelhas sem ferrão utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- e) Determinar o potencial antioxidante das amostras de méis de marmeleiro e aroeira, produzidas por *Apis mellifera*, no semiárido paraibano;
- f) Determinar o potencial antimicrobiano de diferentes amostras de méis de abelha obtidos do semiárido paraibano.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Abelhas *Apis mellifera*

As abelhas da subfamília *Meliponinae*, pertencentes à família *Apidae* e comumente chamadas de "Abelhas sem Ferrão" (ASF), possuem uma característica notável: seu ferrão é atrofiado, o que as torna incapazes de ferroar. Essas abelhas são atualmente agrupadas taxonomicamente em uma única tribo chamada "*Meliponini*", composta por 32 gêneros. Entre esses gêneros, o gênero "*Melipona*" é o único que apresenta um processo distintivo para a produção de rainhas. Dentro desse gênero, existem diversas espécies que produzem mel e têm sido criadas por povos tradicionais das Américas por muitos séculos (Camargo; Oliveira; Berto, 2017).

Figura 1 - Aspectos taxonômicos da abelha *Apis mellifera*.



Fonte: Adaptado de Ramos (2007).

As abelhas *Apis mellifera*, estão espalhadas por todo o mundo, e proporcionam muitos benefícios com a produção de alimento e regulação da biodiversidade. Elas são originalmente da Europa, Oriente Médio e África, porém elas desenvolveram uma capacidade de termorregulação que viabiliza a sua sobrevivência nas mais diversas temperaturas e regiões (Castelli *et al.*, 2022).

Devido à grande diversidade da flora apícola, há uma ampla presença de espécies de abelhas nativas sem ferrão na região Nordeste do Brasil. Essas abelhas, embora produtoras de mel, têm uma produção inferior, se comparadas às abelhas com ferrão do gênero *Apis*. Atualmente, devido a maior disponibilidade comercial do mel das abelhas com ferrão, o consumo do mel das abelhas sem ferrão é menor em relação a outros tipos de mel. No entanto, o interesse em produzir mel das

abelhas sem ferrão persiste ao longo do tempo, impulsionado por suas características únicas, propriedades terapêuticas e pelos benefícios ecológicos resultantes da polinização das flores durante a produção. Estima-se que o Brasil detenha cerca de 192 espécies de abelhas sem ferrão, algumas delas populares e criadas especificamente para a produção de mel, com destaque na região Nordeste (Sousa, 2015).

Na América Latina, existem aproximadamente 300 espécies de abelhas sem ferrão, que são insetos sociais de grande diversidade e foram introduzidas no Brasil em meados do século XIX, sendo hoje amplamente distribuídas no país (Mendes *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2005; Camargo; Oliveira; Berto, 2017).

3.2 Mel

De acordo com Silva *et al.* (2013), o mel é uma mistura complexa de açúcares e outras substâncias, produzido por abelhas, e apresenta características próprias e variáveis, de acordo com a fonte de néctar, clima, ambiente, época da coleta, entre outros. O mel é uma solução concentrada de açúcares, misturada com hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter cera de abelhas proveniente do processo de extração (Brasil, 2000). A Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000, traz a seguinte definição do mel:

Entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia.

O mel pode ser categorizado com base na fonte utilizada para a sua produção. Existem dois tipos principais: o mel floral, obtido a partir do néctar das flores, podendo variar de acordo com sua origem, que pode ser monofloral, quando é proveniente principalmente de flores da mesma família, gênero ou espécie, como também pode ser multifloral, quando é obtido de diferentes floradas; e o mel de melato, que se origina de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos que se alimentam das plantas (Sousa *et al.*, 2016). Além disso, o mel pode ser classificado com base no método de extração, incluindo as categorias de mel escorrido, mel prensado e mel centrifugado. Quanto à sua apresentação comercial, existem várias formas, como

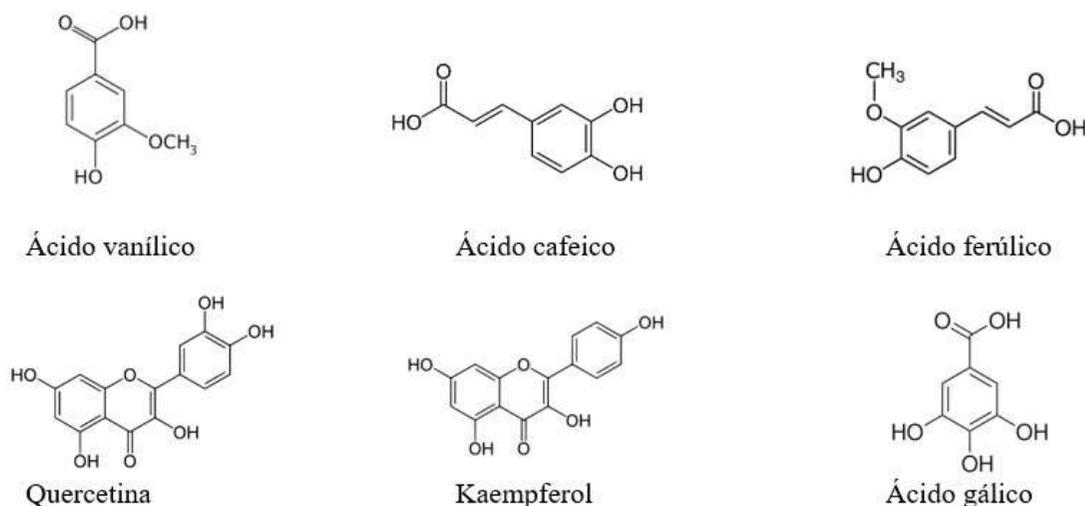
mel líquido, cristalizado, semicristalizado, mel em favos, mel com pedaços de favo e mel filtrado (Brasil, 2000).

3.3 Composição e caracterização físico-química do mel

A composição do mel depende de diversos fatores, e entre eles estão as condições climáticas, o solo e a vegetação, o que pode favorecer ou não, características importantes na sua atividade antimicrobiana a depender do lugar da produção (Campos *et al.*, 2003).

O mel produzido pelas abelhas é um alimento praticamente não alérgico e altamente digerível pelo corpo humano. É rico em nutrientes, servindo como uma excelente fonte de energia, com cerca de 80-85% de seu conteúdo sendo carboidratos de alta energia. Os açúcares presentes no mel são facilmente digeríveis, similar aos açúcares encontrados em muitas frutas. O mel é composto por mais de 22 tipos de açúcares, sendo que a frutose e a glicose são os principais. Em particular, no mel obtido a partir do néctar das flores, a quantidade de frutose deve ser maior do que a de glicose (El Sohaimy; Masry; Shehata, 2015).

No mel contém aproximadamente 200 substâncias distintas em sua composição, além dos açúcares e água, também existem outros elementos como proteínas (enzimas), ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, pigmentos, compostos fenólicos e uma vasta gama de compostos voláteis. Além disso, há também partículas sólidas provenientes da coleta do néctar das flores. Dentre os compostos fenólicos encontrados em diversos estudos estão, o ácido vanílico, ácido cafeico, ácido siríngico, ácido ferúlico, quercetina, kaempferol, galangina, ácido 3-hidroxibenzóico, ácido clorogênico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido gálico, ácido benzóico e outros (Silva *et al.*, 2016).

Figura 2 - Estrutura química de alguns compostos fenólicos encontrados no mel.

Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/Ácido_vanílico/Ácido_cafeico/Ácido_ferúlico/Quercetina/Kaempferol/Ácido_gálico

De acordo com a legislação brasileira, mais especificamente a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), demonstrado na tabela 1, os parâmetros estabelecidos para determinar as características físico-químicas do mel, são os açúcares redutores, umidade, sacarose aparente, sólidos insolúveis em água, minerais (cinzas), acidez, atividade diastásica, e hidroximetilfurfural (HMF), eles definem os padrões e níveis mínimos de qualidade para o mel destinado ao consumo humano direto (Brasil, 2000).

Tabela 1 - Parâmetros aceitáveis para determinar a qualidade do mel.

Parâmetro	Mel floral	Melato ou Mel de Melato e sua mistura com mel floral
Açúcares redutores	Mínimo 65g/100g	Mínimo 60g/100g
Umidade		Máximo 20g/100g
Sacarose aparente	Máximo 6g/100g	15g/100g
Sólidos insolúveis em água		Máximo 0,1g/100g
Minerais (cinzas)	Máximo 0,6g/100g	Máximo 1,2g/100g
Acidez		Máxima 50 mil equivalentes/kg
Atividade diastásica		Mínimo 8 escala de Gothe
Hidroximetilfurfural		Máximo de 60mg/kg

Fonte: Adaptado de Brasil (2000).

Outros fatores como a relação entre frutose e glicose, bem como a relação entre glicose e água, desempenham papéis importantes na qualidade do mel e contribuem para uma melhor compreensão desse produto. A relação frutose/glicose é um indicativo da capacidade do mel de cristalizar. Os sólidos solúveis no mel referem-se à quantidade total de sólidos dissolvidos na fase líquida do mel. Essa medida é uma indicação da concentração de substâncias solúveis, principalmente açúcares, presentes no mel de abelha e desempenham um papel importante na determinação da qualidade e sabor do mel, além de influenciarem suas propriedades físicas (Fiorotti, 2021).

O nível de umidade do mel é crucial para sua estabilidade, protegendo-o contra fermentação e granulação. Baixos níveis de umidade impedem a atividade microbológica, o que permite que o mel seja preservado por longos períodos de tempo (El Sohaimy; Masry; Shehata, 2015).

O mel das abelhas sem ferrão, é utilizado como alimento e popularmente, com finalidades medicinais, onde lhe são atribuídas propriedades terapêuticas e antioxidantes, é um alimento apreciado por ser comprovadamente nutritivo, de sabor característico e alto valor energético (Borsato *et al.*, 2013).

3.4 Principais atividades biológicas atribuídas ao mel

Por longos períodos, os méis de abelha têm sido empregados na medicina tradicional, tanto de forma oral quanto tópica, para combater diversas doenças. Eles demonstram propriedades antimicrobianas, gastrointestinais fornecendo proteção, e características antioxidantes, além de serem uma valiosa fonte de energia (Royo *et al.*, 2022b). Com a extensão da divulgação de estudos, houve o aumento no interesse pelo uso medicinal do mel de abelha, abrangendo o tratamento de enfermidades originadas pelo estresse oxidativo e suas propriedades que combatem a inflamação, vírus, fungos e células tumorais (Fauzi; Norazmi; Yaacob, 2011).

Tem sido sugerido que muitas das propriedades medicinais das plantas podem ser transmitidas através do mel de abelha, de modo que este pode ser usado como um veículo para transportar as propriedades medicinais das plantas. A constituição do mel de abelha é diversificada, sendo grandemente influenciada por sua fonte floral. Além disso, os elementos sazonais e do ambiente também têm a capacidade de impactar tanto a composição quanto os efeitos biológicos do mel de abelha (Alvarez-Suarez *et al.*, 2014).

3.4.1 Atividade antioxidante

A ação antioxidante, refere-se à capacidade e potencial desses produtos em diminuir as reações oxidativas nos sistemas de alimentos e na saúde humana. Os compostos antioxidantes intrínsecos ao mel de abelha desempenham um papel significativo em sua capacidade antioxidante. Além disso, os padrões fenólicos dos méis de abelha e, conseqüentemente, a adição antioxidante, variam conforme sua origem floral (Sousa *et al.*, 2016). O mel ganhou reconhecimento devido à sua abundância de substâncias antioxidantes, como ácidos fenólicos, derivados de carotenóides, ácidos orgânicos, produtos da reação de *Maillard*, aminoácidos e proteínas. As propriedades antioxidantes presentes em muitas variedades de mel demonstraram eficácia na diminuição da probabilidade de ocorrência de enfermidades cardíacas, câncer, comprometimento do sistema imunológico, desenvolvimento de cataratas e diversos processos inflamatórios (Habib *et al.*, 2014).

3.4.2 Atividade antiinflamatória

O mel é um alimento rico em flavonóides, antioxidantes naturais que são caracterizados pelas atividades anticancerígenas e pelas suas propriedades antiinflamatórias. Desta forma, os produtos naturais tem sido considerados como uma opção segura, disponível e eficaz em tratamentos de doenças inflamatórias (Silva *et al.*, 2021). O potencial anti-inflamatório do mel pode estar relacionado na estabilização da membrana, no ensaio de inibição da protease e na inibição da desnaturação de proteínas (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2017).

Evidências recentes, sugerem que no mel existem compostos que podem acelerar a regeneração tecidual e a cicatrização de feridas, onde atua como imunomodulador, além das propriedades tradicionais, sendo eficaz para o tratamento de feridas (Martinotti *et al.*, 2019).

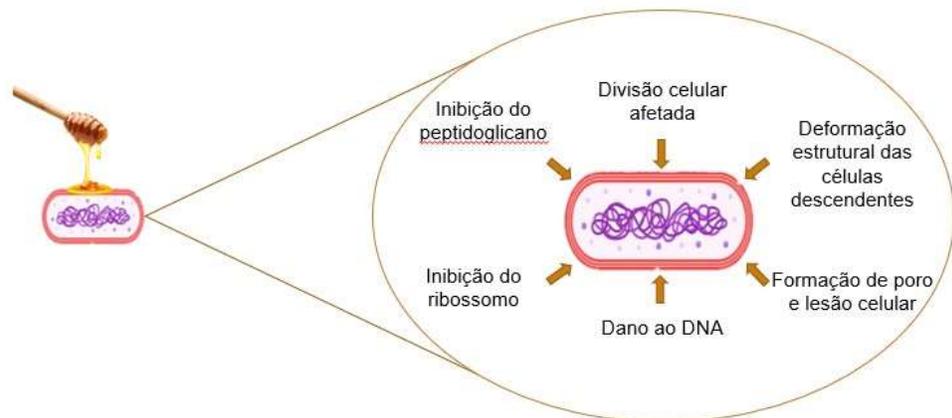
3.4.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antibacteriana do mel, está principalmente ligada aos agentes biocidas do peróxido de hidrogênio. Este peróxido é gerado dentro do mel por meio da ação enzimática da glicose oxidase, que provém das glândulas hipofaríngeas das abelhas (Gregório *et al.*, 2020).

Vários estudos relataram o efeito inibitório do mel de abelha contra 60 espécies bacterianas, dentre elas: Gram-negativas, Gram-positivas, aeróbias e anaeróbias (El-Kased, 2016).

Apesar de relatada na literatura, essa atividade ainda permanece incerta em alguns aspectos, como a identificação dos componentes bioativos e mecanismos de ação, e as evidências demonstram que não há um componente específico responsável pela ação antimicrobiana do mel de abelha. Estudos demonstram que, seus diferentes compostos e características parecem agir de forma sinérgica, incluindo o pH baixo, a ação osmótica, a presença de peróxido de hidrogênio, componentes fenólicos (especificamente benefícios fenólicos e flavonoides), metilglioxal e peptídeos derivados das abelhas (Romário-Silva *et al.*, 2022). Na figura 3, é possível observar alguns mecanismos de ação do mel de abelha contra diferentes tipos de bactérias.

Figura 3 - Mecanismos de ação dos méis contra as bactérias



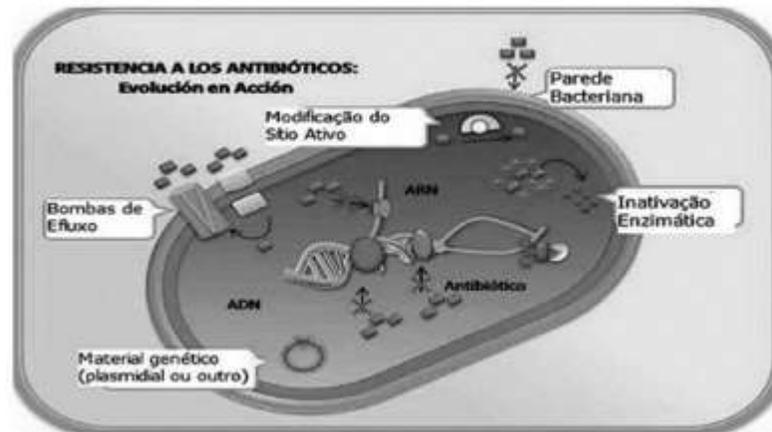
Fonte: Adaptado de Romário-Silva et al. (2022).

3.5 Resistência microbiana

As bactérias adotam estratégias específicas para neutralizar o efeito dos antibióticos, adaptando-se aos diferentes mecanismos antibacterianos desses medicamentos. Isso inclui a mutação do alvo do medicamento, a liberação de hidrolases e a expulsão dos antibióticos das células por meio de bombas de efluxo, entre outros. Ela é sempre originada da alteração genética e bioquimicamente expressa pela célula bacteriana, podendo ser transferida de uma para outra, de forma cromossômica e extracromossômica, por plasmídios ou transposons. Essas bactérias continuam a desenvolver constantemente novos mecanismos de resistência aos antibióticos, como a produção de proteínas protetoras contra alvos, alterações na morfologia celular, entre outros. Essa diversificação de estratégias confere-lhes sistemas de defesa múltiplos contra antibióticos, resultando no surgimento de bactérias multirresistentes (MDR) e na limitação da eficácia dos

medicamentos disponíveis em ambientes clínicos (Zhang; Cheng, 2022).

Figura 4 - Mecanismos de resistência das bactérias.



Fonte: Pinilla *et al.* (2012)

A descoberta dos antibióticos, foi uma grande conquista na medicina, e o auge da origem de muitos destes foi na chamada “era de ouro”, que aconteceu de 1930 a 1960. Porém, o uso excessivo e indiscriminado desses agentes tempos depois, disseminou a resistência bacteriana pelos mais diversos mecanismos (Baran; Kwiatkowska; Potocki, 2023).

A abordagem para enfrentar as cepas de bactérias resistentes aos antibióticos e quimioterápicos é desafiadora. Essa problemática, está diretamente associada ao uso indiscriminado dos agentes antimicrobianos, elevando o número de infecções causadas por micro-organismos resistentes a múltiplas drogas, levando a falha na terapêutica (Silva *et al.*, 2020). Portanto, é crucial adotar medidas que contribuam para a diminuição do risco de desenvolver essas cepas, por autoridades responsáveis pela saúde pública. Isso envolve a criação de condições sanitárias planejadas e investimentos em pesquisas científicas destinadas a identificar novos antibióticos, quimioterápicos e vacinas mais eficazes no combate a bactérias multirresistentes e, de maneira mais abrangente, aos agentes infecciosos (Santos *et al.*, 2007). Atualmente, existe um conjunto de intervenções destinadas a promover o uso responsável de antimicrobianos nos serviços de saúde, conhecido como *Antimicrobial Stewardship* (AMS), com o objetivo de diminuir a pressão seletiva para organismos multirresistentes (Anderson *et al.*, 2017).

Além de todas essas medidas, diante da necessidade cada vez maior de combater infecções causadas por micro-organismos resistentes aos antimicrobianos existentes, os estudiosos têm

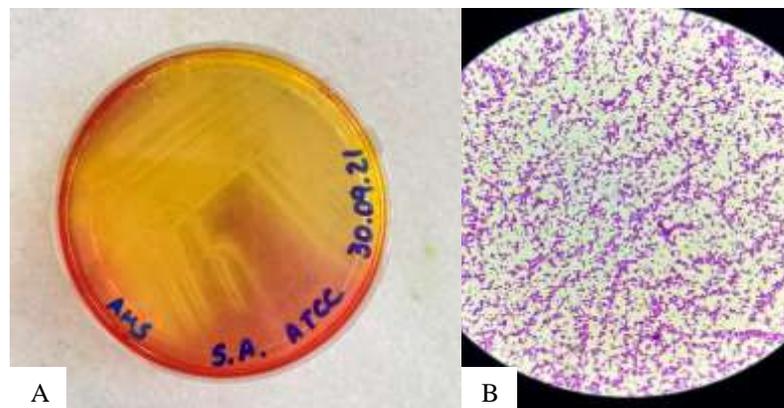
buscado opções terapêuticas de origem natural, com efeitos medicinais, a fim de aplicar essas substâncias como forma alternativa à terapêutica medicamentosa (Azevedo, 2019).

3.5.1 *Staphylococcus aureus*

São bactérias gram-positivas, em forma de cocos, agrupadas em cachos, encontradas em cerca de 20% a 40% das fossas nasais humanas, e também na garganta, trato gastrointestinal e pele. Apesar de estar presente na microbiota normal humana, o *Staphylococcus aureus* também atua como agente de diversas infecções superficiais, invasivas e tóxicas (Lee *et al.*, 2018). O *Staphylococcus aureus* possui uma série de fatores de virulência, incluindo toxinas como as enterotoxinas, exotoxinas pirogênicas, toxinas leucocidinas e toxina alfa-hemolisina, que podem causar danos às células e tecidos hospedeiros (Ahmad-Mansour *et al.*, 2021).

O *Staphylococcus aureus* emergiu como um dos agentes patogênicos mais preocupantes, principalmente devido ao aumento da resistência observada contra antibióticos da classe β -lactâmicos, o *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e até mesmo contra a vancomicina (VRSA). O aumento da presença de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), juntamente com a gravidade das patologias causadas por essa bactéria em geral, resultou no uso frequente de antibióticos específicos para combatê-la, e esse cenário tem contribuído para o aumento das taxas de resistência (Hasan; Acharjee; Noor, 2016).

Figura 5 - (A) Colônias de *Staphylococcus aureus* em placa com ágar manitol salgado. (B) Visualização microscópica de *Staphylococcus aureus* pela coloração de Gram.

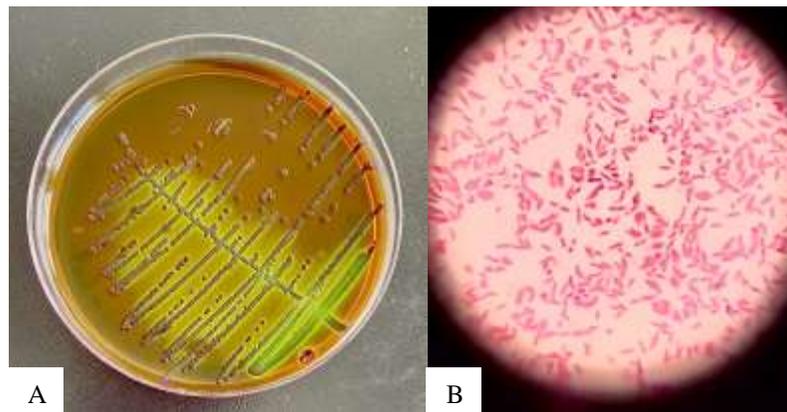


Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

3.5.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli*, é uma bactéria gram-negativa, fermentadora de glicose e oxidase negativa, caracterizada por sua forma bacilar (em formato de bastão) e sua estrutura de parede celular que inclui uma membrana externa lipopolissacarídica, porinas e diferentes tipos de fimbrias. Faz parte da microbiota normal do trato gastrointestinal humano, mas também pode causar doenças infecciosas intestinais, extra intestinais e até mesmo sistêmicas (Jang *et al.*, 2017). Algumas cepas de *E. coli* adquiriram genes que conferem resistência a antibióticos, o que pode dificultar o tratamento de infecção. Além disso, várias cepas possuem fatores de virulência, como toxinas, que ajudam a desenvolver doenças e agravar seus efeitos (Amaretti *et al.*, 2020). Os genes cruciais que determinam essa resistência incluem aqueles que codificam enzimas como betalactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases, que são capazes de inativar a maioria dos antibióticos betalactâmicos, e geralmente é acompanhado pela resistência a várias outras categorias de antibióticos (Stapleton *et al.*, 2017).

Figura 6 - (A) Colônias de *Escherichia coli* em ágar EMB. (B) Visualização microscópica de *Escherichia coli* pela coloração de Gram.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

3.5.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria em forma de bastonete que pertence ao grupo dos gram-negativos, não fermentadora de glicose, aeróbica e oxidase positiva. É conhecida por sua

versatilidade em causar diversas infecções, incluindo trato respiratório, trato urinário, pele, tecidos moles e até corrente sanguínea. Sua capacidade de se adaptar a diferentes ambientes, juntamente com sua resistência a diversos antibióticos, pode tornar o tratamento desses resistentes mais desafiador (Thi; Wibowo; Rehm, 2020). Está listada na lista prioritária da Organização Mundial da Saúde (OMS), de bactérias patogênicas, onde pesquisas e o desenvolvimento de novos antibióticos são urgentemente necessários (Botelho; Grosso; Peixe, 2019).

Figura 7 - Colônias de *Pseudomonas aeruginosa* em placa de ágar CLED. (B) Antibiograma em ágar *Mueller Hinton* de *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

3.6 Técnicas de caracterização

A caracterização térmica, usando técnicas de análise termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA), oferece a capacidade de monitorar a alteração na massa de uma amostra, e também registrar sua variação de temperatura ao longo de reações induzidas por um programa de aquecimento ou durante processos de transição de fase. Isso fornece informações específicas e multifacetadas sobre as propriedades térmicas da amostra, incluindo fenômenos como desidratação, mudanças de fase, degradação e estabilidade térmica (Zhou *et al.*, 2022).

A termogravimetria (TG) é uma das técnicas mais frequentemente empregadas para a análise térmica, utilizada para caracterizar materiais tanto inorgânicos quanto orgânicos. A termogravimetria derivada (DTG) é uma análise que possibilita a investigação das discrepâncias nos termogramas (Fuente *et al.*, 2011).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em menos de três décadas, se tornou

um dos métodos analíticos mais utilizados, tanto em aplicações qualitativas como quantitativas. Esse crescimento se justifica devido à sua notável capacidade de análises quantitativas com alta sensibilidade, bem como a habilidade de separação de substâncias não voláteis e resistentes à instabilidade térmica. A CLAE pode ser descrita como uma técnica físico-química de separação dos constituintes de uma mistura, realizada através da distribuição entre duas fases. Enquanto uma das fases permanece fixa (estacionária), a outra fase se desloca através dela. Ao longo do processo cromatográfico, os componentes da mistura se distribuem entre essas duas fases, resultando em migrações diferenciais dos componentes (Migues *et al.*, 2022).

O método de *Fingerprint* baseia-se principalmente na presença ou ausência de picos cromatográficos entre amostras, mas não consegue distinguir quais são esses picos. Por ser uma técnica simples, tem sido bastante utilizada para triagem de compostos bioativos (Xiao *et al.*, 2022).

Os compostos fenólicos, desempenham um papel importante na atividade biológica do mel, dentre eles:

Ácido tânico, composto obtido através da hidrólise do tanino, um polifenol sintetizado pelas plantas, possui atividade antioxidante, pelas hidroxilas presentes na molécula, neutralizando a atividade de radicais livres gerados no organismo (Mendes *et al.*, 2019).

Ácido benzoico, que é um ácido carboxílico aromático, utilizado industrialmente como analgésico, antisséptico, quimioterápico e também como conservante e intensificador de sabor (Valdez Sepúlveda; González-Morales; Benavides; Mendoza, 2015).

Quercetina, um flavonóide com potente atividade antioxidante, não sintetizado pelo organismo humano, usada para prevenir e tratar algumas doenças crônicas (Deepika; Maurya, 2022).

Rutina, flavonóide encontrado em uma ampla diversidade de vegetais, possui muitas propriedades terapêuticas, sendo utilizada para o tratamento da insuficiência venosa crônica (Araújo *et al.*, 2022).

Catequina, pertencente a uma subclasse de flavonoides, pode ser encontrada em algumas folhas de chás verde e preto, e também em alguns sucos e outros grãos e vegetais, com possíveis efeitos benéficos a saúde, dentre eles o antiinflamatório e a redução da pressão arterial (Costa *et al.*, 2021).

Ácido cinâmico, polifenol bioativo, encontrado em baixas concentrações em fontes vegetais, possui propriedades terapêuticas e também inseticidas.

Ácido gálico, um composto orgânico pertencente à classe dos ácidos fenólicos, encontrado naturalmente em uma variedade de plantas. Suas propriedades antioxidantes fazem do ácido gálico uma substância de interesse em diversos campos, incluindo a medicina e a indústria alimentícia. Evidências sugerem propriedades antiinflamatórias, antimicrobianas, antivirais, antitumorais, hipoglicêmicas e hiperlipidêmicas (Ahangarpour *et al.*, 2022). Além disso, na indústria alimentícia, o ácido gálico é utilizado como conservante natural, ajudando a prolongar a vida útil de certos alimentos devido as suas propriedades antimicrobianas (Bajpai; Patil, 2008).

Vanilina, composto orgânico que possui um aroma distintamente doce e perfumado, sendo responsável pelo sabor e cheiro característicos da baunilha. Está presente em diversos compostos bioativos, e existem evidências em estudos científicos sobre suas atividades biológicas, como anticancerígena, antidiabética, propriedades antioxidantes, antibacterianas e antidepressivas (Silva *et al.*, 2023).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Origem dos méis

As amostras foram adquiridas diretamente de meliponicultores, do município de São José dos Cordeiros, localizado no semiárido paraibano.

O município de São José dos Cordeiros encontra-se na região central do estado da Paraíba, fazendo parte da bacia hidrográfica do Rio Paraíba, sub-bacia do Rio Taperoá. Esta cidade está situada na mesorregião Borborema e na microrregião Cariri Ocidental. A área total do município de São José dos Cordeiros abrange 376,793 km². A sede do município está localizada nas coordenadas geográficas 07° 23' 27" S e 36° 48' 28" O, a uma altitude de 545 metros, segundo o IBGE (2014).

Figura 8 - Localização do município de São José dos Cordeiros.



Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/S%C3%A3o_Jos%C3%A9_dos_Cordeiros

Foram analisadas 4 amostras de mel da abelha *Apis mellífera*, sendo 2 predominantemente das floradas de marmeleiro e 2 de aroeira. A primeira coleta foi realizada ao final do período de estiagem (março de 2022), e a segunda durante o início do período chuvoso (junho de 2022), conforme a tabela 2.

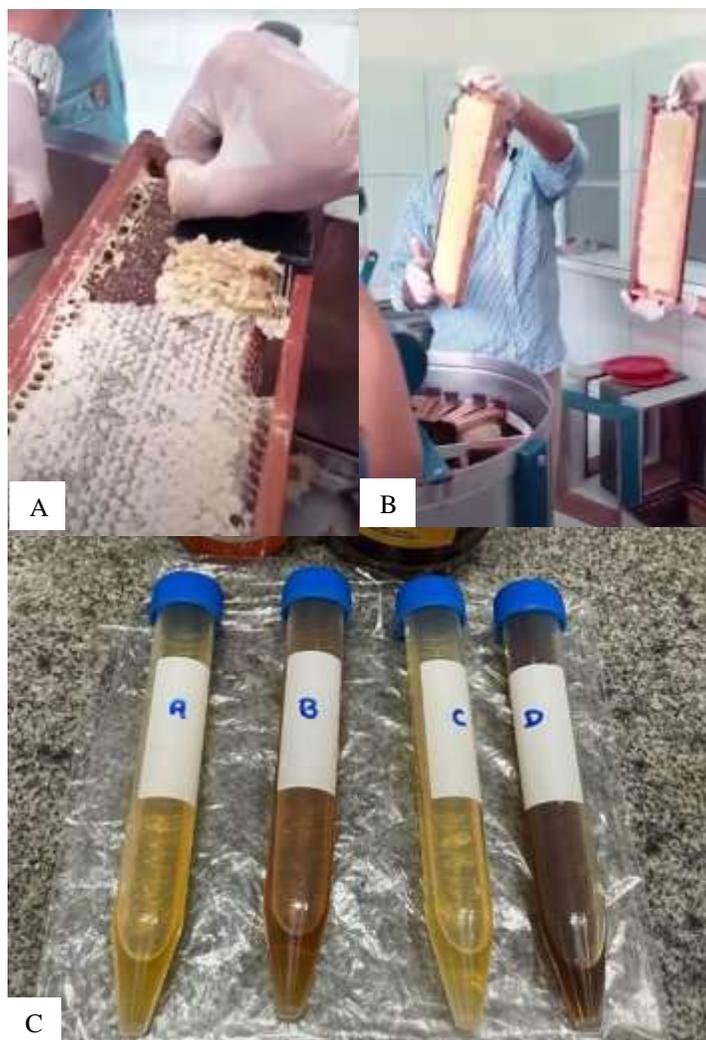
Tabela 2 - Classificação das amostras dos méis pesquisados.

Amostra	<i>Apis mellífera</i> (Flor predominante)	Quantidade de amostras	Período de coleta
Mel A	Marmeleiro	01	Março/2022
Mel B	Aroeira	01	Março/2022
Mel C	Marmeleiro	01	Junho/2022
Mel D	Aroeira	01	Junho/2022

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

O processo para a colheita do mel foi a desoperculação, onde removeu-se a fina camada de cera que as abelhas depositam sobre as células do favo de mel para selá-las. Essa camada é conhecida como opérculo. Ao remover os opérculos, os apicultores tiveram acesso ao mel armazenado dentro das células do favo e puderam proceder à extração do mel. Após a desoperculação, os favos foram colocados em centrífugas para extrair o mel por meio da força centrífuga, preservando a estrutura dos favos para que as abelhas pudessem reutilizá-los (Figura 9).

Figura 9 - (A) Processo de desoperculação do mel de abelha. (B) Processo de centrifugação do mel de abelha. (C) Méis de abelha armazenados em tubos cônicos para análise em laboratório.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.2 Determinação de pH

Em balança analítica, pesou-se 10 g de amostra de mel dilui-se e homogeneizou-se com 75 mL de água e realizou-se a leitura no pHmetro, em triplicata, como descrito no Instituto Adolf Lutz (2008).

4.3 Viscosidade

A análise reológica dos méis, foi realizada no viscosímetro Fungilab Viscolead One, conforme manual do fabricante, e o spindle utilizado foi o R6, a 100, 60 e 50 rpm.

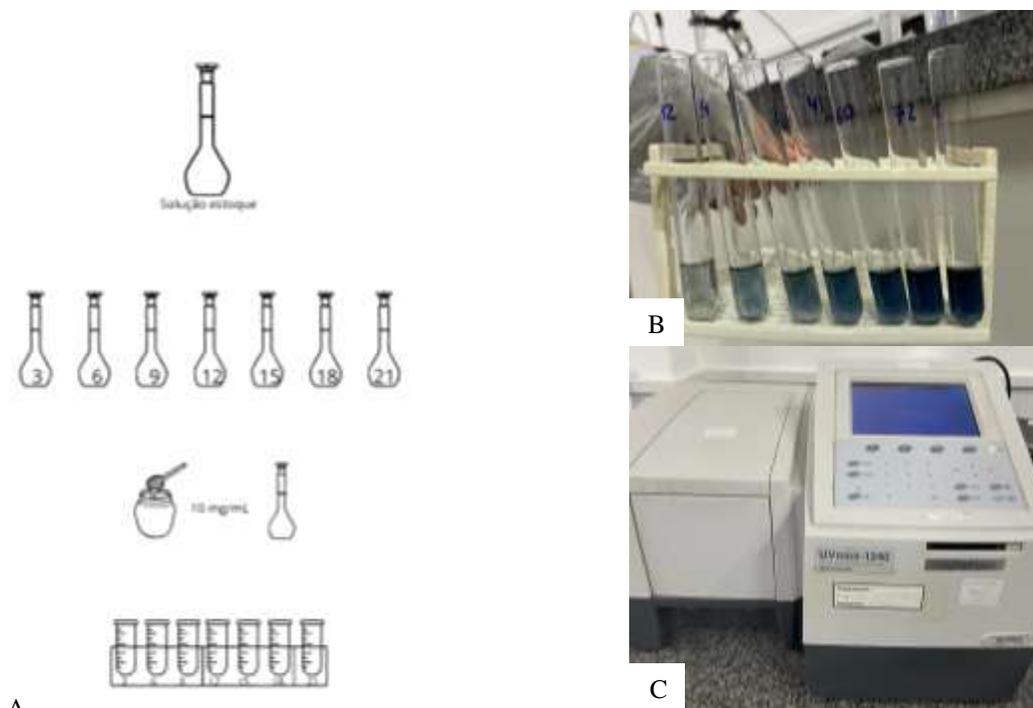
4.4 Determinação do grau de Brix e densidade

O grau Brix e a densidade dos méis foram determinados utilizando o densímetro Density Meter DMA 35.

4.5 Teor de fenóis totais

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método descrito por Chaves *et al* (2016), com adaptações, com $R^2 = 0,9913$ determinado na curva padrão do ácido gálico como padrão, nas concentrações de 3 a 21 $\mu\text{g/mL}$, em balões volumétricos de 10 mL, a partir de uma solução estoque de 1mg/mL. Para o mel, foi preparada uma solução na concentração de 100 mg/mL, onde foi pesado 1g de mel e adicionado água destilada em balão volumétrico de 100 mL. Foi adicionada 0,5 mL de cada concentração preparada, em um tubo de ensaio contendo 0,5 mL do reagente *Folin-Ciocalteu*, e após 2 minutos foi adicionado 1 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (p/v), onde permaneceu em repouso durante 8 minutos ao abrigo da luz. A determinação do teor de fenóis totais foi realizada usando um Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-Mini 1240, com um comprimento de onda de 757 nm (Figura 10). Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico/g de mel (mg GAE/g de mel). Toda a análise foi realizada em triplicata.

Figura 10 - (A) Esquema para determinação dos fenóis totais. (B) Tubos com as amostras em diferentes concentrações para leitura. (C) Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-Mini 1240.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.6 Validação do método analítico

As figuras de mérito avaliadas foram: seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e robustez. O processo de validação seguiu as diretrizes estabelecidas pela RDC 166/2017 da ANVISA.

4.6.1 Linearidade

A linearidade do método foi analisada a partir da preparação da curva de calibração feita partindo da média das análises em triplicata de uma solução padrão de ácido gálico, nas concentrações de 3 $\mu\text{g/mL}$ a 21 $\mu\text{g/mL}$, e também através do branco (solução de água destilada, reagente de *Folin Ciocauteau* e carbonato de sódio). A equação da reta foi obtida pelo método dos

mínimos quadrados e, a partir disso, calculou-se o coeficiente de correlação linear. Os dados de cada nível de concentração foram avaliados por meio da análise unilateral de variância de dados ANOVA.

4.6.2 Seletividade

A seletividade do método foi obtida a partir da análise comparativa entre as curvas de linearidade das amostras analisadas que continham o analito de interesse contra as amostras do branco, que continham os reagentes de *Folin-Ciocalteu* e carbonato de sódio.

4.6.3 Limite de detecção

O limite de detecção foi calculado através do desvio padrão do intercepto e em razão da inclinação da curva analítica. O cálculo foi realizado utilizando a fórmula descrita na Equação 1.

$$LD = DP * 3,3 IC.$$

Onde: DP = desvio padrão do intercepto; IC = inclinação da curva analítica.

4.6.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação foi calculado a partir do desvio padrão do intercepto e na inclinação da curva analítica, como descrito na Equação 2.

$$LQ = DP * 10 IC.$$

Onde: DP = desvio padrão do intercepto; IC = inclinação da curva analítica.

4.6.5 Precisão

A precisão do método desenvolvido foi analisada a partir dos testes de repetibilidade. A precisão do método analítico foi avaliada pela repetibilidade, através da leitura espectrofotométrica de 6 soluções contendo quercetina doseadas no mesmo dia, com concentrações de 12 µg mL⁻¹. A

precisão intermediária (precisão inter-dia) e inter-analista foram avaliadas através de medições espectrofotométricas de 6 soluções doseadas em dias diferentes por analistas diferentes. A precisão foi verificada em função do desvio padrão relativo (DPR%).

4.6.6 Robustez

Para a robustez, amostras de ácido gálico foram analisadas com variações no comprimento de onda (± 2 nm) e variação no tempo de reação sob Abrigo de luz (+2 minutos protegida da luz). A análise foi realizada de modo que, para cada tempo (8 minutos e 10 minutos) 3 amostras foram avaliadas (para a triplicata do modelo), de modo que cada uma das amostras foi submetida a análise nos seguintes comprimentos de onda: 767 λ e 769 λ . A concentração de ácido gálico foi obtida através da equação adquirida com a curva de calibração. Para avaliação da robustez do método, foram avaliados os seguintes parâmetros: Desvio Padrão e Desvio Padrão Relativo entre as 12 análises realizadas.

4.7 Atividade antioxidante

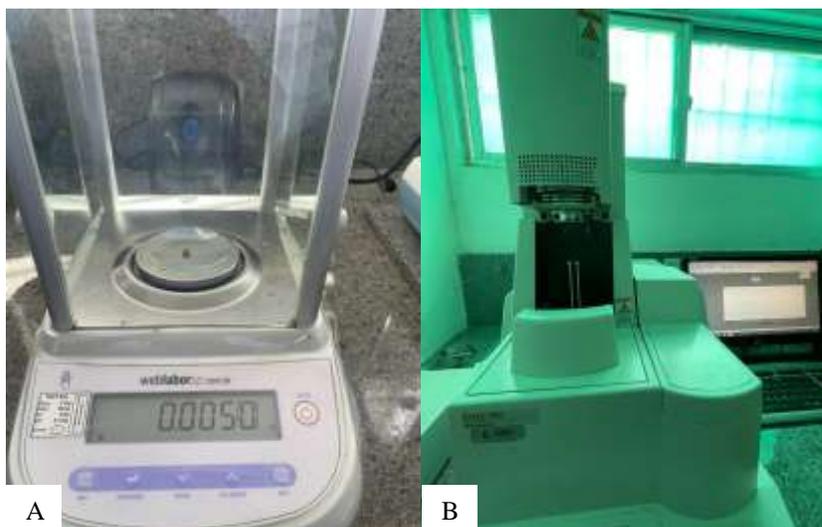
A avaliação da atividade antioxidante foi feita utilizando a técnica do DPPH conforme Chaves e colaboradores (2016). Inicialmente, preparou-se soluções etanólicas de DPPH 200 mM, ácido gálico 20 $\mu\text{g/mL}$ e das amostras de méis, na proporção de 1:4. O ácido gálico foi utilizado como padrão. Em seguida, transferiu-se 100 μL das soluções de méis e ácido gálico para uma microplaca de 96 poços. Também foram transferidos 100 μL de etanol para poços como controle negativo. Adicionou-se 100 μL da solução de DPPH a cada poço, e as misturas repousaram por 30 minutos. Após esse tempo, a absorbância das soluções foi medida em um leitor de microplacas calibrado para o comprimento de onda de 495 nm (filtro verde).

4.8 Caracterização térmica

A caracterização térmica dos diferentes tipos de méis de abelha, foi realizada conforme Silva et al. (2013), com modificações. As análises foram realizadas em um analisador térmico simultâneo DTG-60 Shimadzu, em atmosfera inerte de nitrogênio com vazão de 100 mL/min, em diferentes razões de aquecimentos (5, 10, 20 e 40°C) com amostra de $5,0 \pm 0,1$ mg, visando obter

dados de termogravimetria e análise térmica diferencial (Figura 11).

Figura 11- (A) Pesagem do mel em balança analítica. (B) Analisador térmico simultâneo DTG-60 Shimadzu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.9 *Fingerprint/Perfil cromatográfico do mel*

O método cromatográfico realizado, foi desenvolvido e validado por (FERNANDES et al., 2015). As amostras de mel foram submetidas a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência usando um cromatógrafo Shimadzu modelo LC 20 A Prominence com um detector UV-, acoplado ao software LC Solution da Shimadzu (Figura 12), sendo pré-estabelecido o comprimento de onda de 254 nm e 366 nm. A fase móvel consistiu em água acidificada (ácido ortofosfórico 1%), pH ajustado para 3,5 (fase A) e metanol (fase B) (70:30 v/v). O modelo de coluna cromatográfica Gemini C18 (Phenomenex) (250 x 4,60 mm x 5 µm) foi utilizada durante as corridas cromatográficas, a mesma foi mantida em uma temperatura de 30 °C com um volume de injeção de 20 µL. os parâmetros cromatográficos foram definidos de acordo com o comportamento da amostra. As seguintes substâncias foram utilizadas como compostos fenólicos de interesse a serem detectados nas amostras de mel: ácido gálico, ácido tânico, ácido benzoico, vanilina, quercetina, rutina, catequina e ácido cinâmico (Chaves *et al.*, 2016).

A separação cromatográfica foi realizada em fase móvel com ácido fosfórico: água 0,05% como solvente A e metanol como solvente B a uma vazão de 1 ml/min. O programa de gradiente

foi o seguinte: 90-10% B (10 min), 70-30% B (3 min), 40-60% B (5 min), 60-40% B (3 min), 80-20 % B (3 min) e 90-10% B (6 min). Os picos foram detectados em 254 nm e foram identificados comparando o tempo de retenção com ácido gálico padrão.

Figura 12 - Cromatógrafo Shimadzu modelo LC 20 A Prominence.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.10 Atividade antimicrobiana

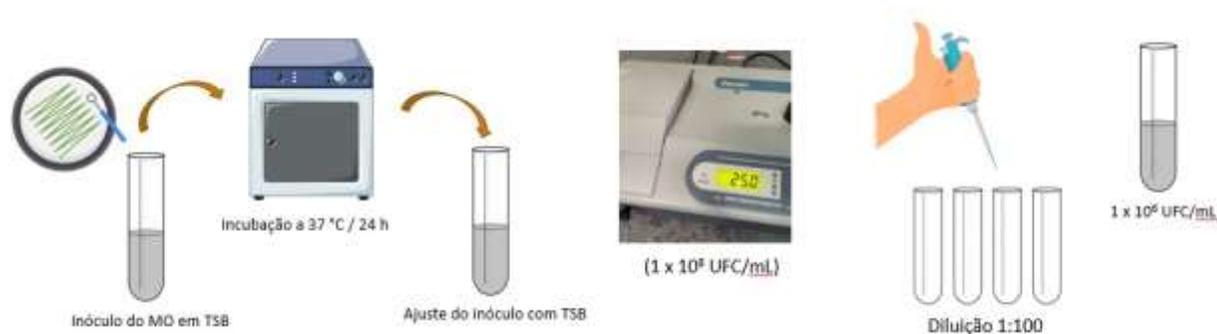
4.10.1 Cepas bacterianas

Foram utilizadas cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC), de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Esses microrganismos estão frequentemente relacionados a infecções de feridas, queimaduras e doenças respiratórias bacterianas.

4.10.2 Preparo do inóculo

O microrganismo testado foi inoculado em caldo Caldo *Tryptic Soy* (TSB) por 24h em estufa bacteriológica a 37 °C, após esse período, foi preparado o inóculo para o teste em espectrofotômetro na faixa de 580 nm, onde foi ajustado a 25% de transmitância (1×10^8 UFC/mL), realizando-se as correções com o Caldo *Tryptic Soy* (TSB). Após o ajuste, o inóculo foi diluído em 1:100, obtendo-se assim uma concentração de 1×10^6 UFC/mL, conforme representado na figura 13.

Figura 13 – Esquema para o preparo do inóculo das cepas bacterianas.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.10.3 Método de difusão em ágar

O ensaio de difusão em ágar foi realizado conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 5^a ed, em triplicata e representado na figura 14, onde inicialmente foi preparada uma camada base com ágar *Mueller Hinton*, fundido em placas de Petri medindo 90 x 15 mm. Após a solidificação do meio base, preparou-se 100 mL do ágar superfície, e após ser fundido e atingir uma temperatura de 46 a 48 °C, foi adicionado 1 mL do inóculo ajustado, homogeneizado e distribuído uniformemente nas placas contendo a base. Após o endurecimento, foram colocados os cilindros de aço inoxidável, onde foi adicionado 100 µL do mel de abelha a ser testado. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica na temperatura de 37 °C, durante 24 horas e após esse tempo, realizou-se a medição do diâmetro dos halos formados.

Figura 14 – Esquema para o ensaio de difusão em ágar.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.10.4 Concentração inibitória mínima e bactericida mínima

O microrganismo testado foi inoculado em caldo *Tryptic Soy* (TSB) por 24h em estufa bacteriológica a 37 °C, após esse período, foi preparado o inóculo para o teste em espectrofotômetro na faixa de 580 nm, onde foi ajustado a 25% de transmitância (1×10^8 UFC/mL), realizando-se as correções com o caldo *Tryptic Soy* (TSB). Após o ajuste, o inóculo foi diluído em 1:100, obtendo-se assim uma concentração de 1×10^6 UFC/mL.

Para determinar a concentração inibitória mínima, em uma microplaca contendo 96 poços contendo 8 linhas nomeadas de A-H e 12 colunas numeradas de 1 a 12, colocou-se inicialmente 100 µL de água destilada estéril em todos eles. Nos poços A1 e B1 foi adicionado 100 µL de caldo TSB, nos poços C1 e D1 adicionou-se 100 µL das soluções dos antimicrobianos. As amostras dos méis A, B, C e D, foram aliqüotadas nos poços E1, F1, G1 e H1, respectivamente.

Diluições sucessivas foram realizadas e em seguida, foi adicionado 100 µL do inóculo ajustado em todos os poços, com exceção da linha A. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica na temperatura de 37 °C, durante 24 horas. Após esse período de incubação, foi realizado o plaqueamento a partir dos poços, em placas contendo ágar *Mueller Hinton*, e incubadas a 37 °C, durante 24 horas, para a determinação da concentração bactericida mínima, então foi adicionado 20 µL de resazurina preparada numa concentração de 100 µg/mL em todos os poços e depois de 2 horas foi-se realizada a leitura da concentração inibitória mínima (Figura 15). O teste foi realizado em triplicata, considerando os 3 microrganismos testados.

Figura 15 – Esquema para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

No dia seguinte, após 18 horas, as placas semeadas a partir dos poços foram observadas, e consideradas segundo a presença ou ausência de crescimento bacteriano, determinando a concentração bactericida mínima (Eloff, 1998).

4.11 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste *t* de *Student*, que foi utilizado para comparar os dados obtidos para diferentes amostras de mel. Os resultados foram representados como média \pm desvio padrão (DP) de três medições paralelas. Os valores médios foram considerados estatisticamente significativos para $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de pH

Na Tabela 3, observamos que os valores de pH obtidos neste estudo, variaram entre 4,09 - 4,14, assemelhando-se com amostras analisadas por Gois et al. (2015), em diferentes municípios do Estado da Paraíba, que encontrou valores entre 3,17 - 4,34. A variação do pH pode influenciar na textura, estabilidade e vida útil dos méis (Bhalchandra *et al.*,2022). Em muitos estudos podemos encontrar a análise do pH, embora não seja um parâmetro exigido na legislação vigente. Dessa forma, é possível observar que esse parâmetro é muito influenciado pela região geográfica, fonte floral e clima (Tesfaye *et al.*,2016), e a sazonalidade pode ter sido responsável pela diferença significativa que ocorreu entre os méis de marmeleiro nas duas épocas coletadas. As amostras de mel geralmente apresentam soluções com alto teor de frutose e glicose e com baixo pH, em que, contribui para inibição do crescimento de muitas bactérias (Habib *et al.*,2014).

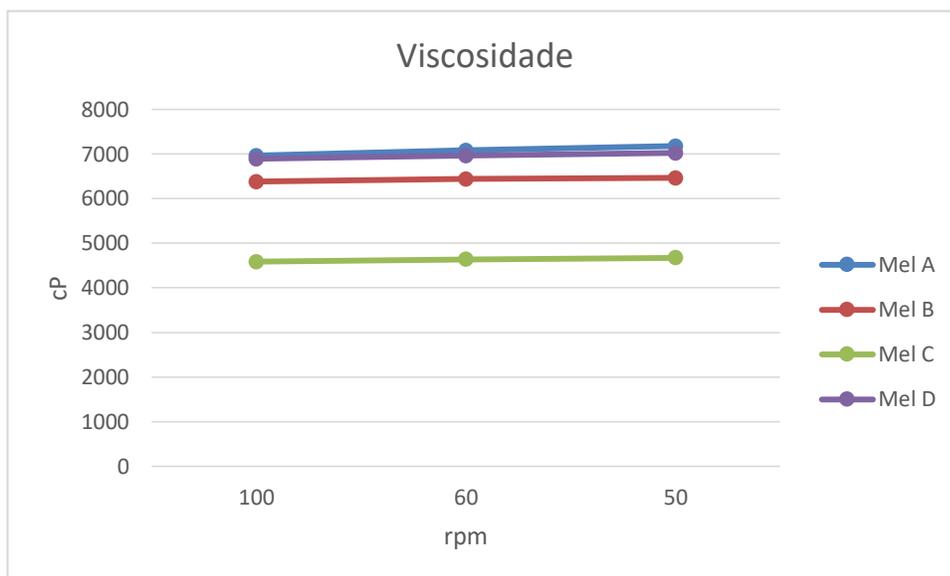
Tabela 3 - Determinação do pH dos méis.

Amostra	M
Mel A (Marmeleiro, seco)	4,14 ± 0,02
Mel B (Aroeira, seco)	4,06 ± 0,05
Mel C (Marmeleiro, chuvoso)	4,07 ± 0,03
Mel D (Aroeira, chuvoso)	4,10 ± 0,02

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

5.2 Viscosidade

Alguns fatores interferem diretamente na viscosidade do mel, como a origem floral, temperatura, teor de água, que em menor quantidade, favorece na maior densidade e viscosidade, e a relação entre frutose e glicose, onde a maior concentração de frutose resulta em uma menor viscosidade (Alves *et al.*, 2005), esse parâmetro não é determinado na legislação vigente. Os valores encontrados foram consideravelmente maiores em relação ao estudo de Sekine et al. (2019) que ficaram entre 395 – 4115 cP.

Gráfico 1 - Viscosidade determinada nos méis A-D.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Onde: Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso.

5.3 Determinação do grau de Brix e densidade

O conteúdo de sólidos solúveis, representando principalmente compostos de açúcar encontrados nos méis estudados, variaram de 79,2 °Brix (Mel C) até 79,9 °Brix (Méis A e D), conforme tabela 4. Estes valores corroboraram com os encontrados por Utzeri (2018), e colaboradores, que foram entre 76,3 e 85,3°Brix.

De acordo com Chiqueti (2022), espera-se que o valor da densidade do mel, em temperatura de 20 °C, varie de 1,38 a 1,45 g/cm³, assim como os resultados encontrados no presente estudo.

Tabela 4 - Determinação do grau de Brix e densidade nas amostras analisadas.

Amostra	°Brix (média ± DP)	Densidade (g/cm³)
Mel A (Marmeleiro, seco)	79,9 ± 0,15	1,41 ± 0,003
Mel B (Aroeira, seco)	79,4 ± 0,25	1,41 ± 0,001
Mel C (Marmeleiro, chuvoso)	79,2 ± 0,28	1,40 ± 0,002
Mel D (Aroeira, chuvoso)	79,9 ± 0,05	1,41 ± 0,004

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

5.4 Teor de fenóis totais

Pode-se observar que os maiores valores ocorreram para os méis predominantemente de aroeira B e D, onde houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os dois períodos, em que foram coletados, sendo no período chuvoso $142,4 \pm 0,05$ mgGAE 100 g^{-1} , e no período seco $114,5 \pm 0,04$ mgGAE 100 g^{-1} . Enquanto que para os méis predominantemente de marmeleiro, os valores foram de $105,1 \pm 0,04$ mgGAE 100 g^{-1} no período seco, e $74,3 \pm 0,03$ mgGAE 100 g^{-1} . Valores semelhantes foram encontrados por Gardoni et al. (2022), variando entre 107,2 e 178,5 mg 100 g^{-1} , e também por Royo et al. (2022) que encontrou valores que variaram de $40,70 \pm 0,03$ mgGAE 100 g^{-1} a $84,77 \pm 0,05$ mgGAE 100 g^{-1} .

Os valores e as diferenças ($p \leq 0,05$) encontradas, podem ser explicadas pelo fato em que o metabolismo e a composição das plantas, são determinados pelas condições ambientais e climáticas, influenciando diretamente no seu conteúdo polifenólico e no néctar oferecido às abelhas para a produção do mel (Sousa *et al.*, 2016), o que possivelmente implica na composição e presença desses metabólitos nos méis.

Tabela 5 - Valores médios de três análises das amostras A-D diferentes \pm desvios padrão. TFT = teor de fenóis totais.

Amostra	TFT (mgGAE 100 g ⁻¹)
Mel A (Marmeleiro, seco)	105,10 \pm 0,04 ^a
Mel B (Aroeira, seco)	114,50 \pm 0,04 ^b
Mel C (Marmeleiro, chuvoso)	74,30 \pm 0,03 ^c
Mel D (Aroeira, chuvoso)	142,40 \pm 0,05 ^d

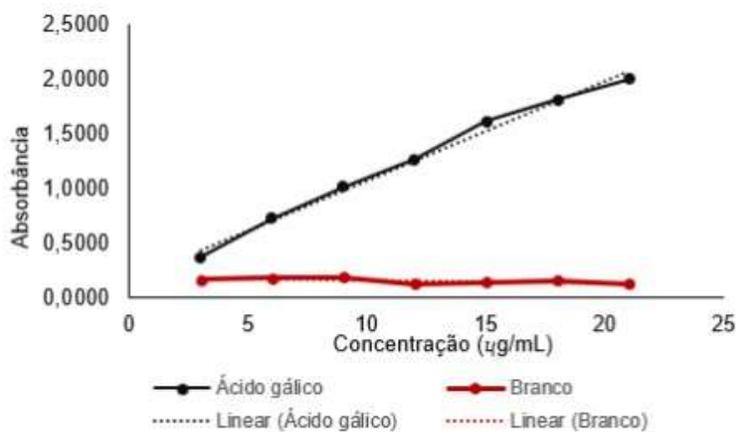
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023. *Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, $p < 0,05$)

5.5 Validação do método de quantificação do Teor de Polifenóis Totais

5.5.1 Seletividade

Comparando-se as linearidades das amostras contendo o composto fenólico de referência (ácido gálico) e das amostras do branco, foi possível constatar uma boa seletividade do método, conforme o gráfico 2.

Gráfico 2 - Comparação entre as faixas de linearidade das amostras contendo analito de interesse e amostras Branco.

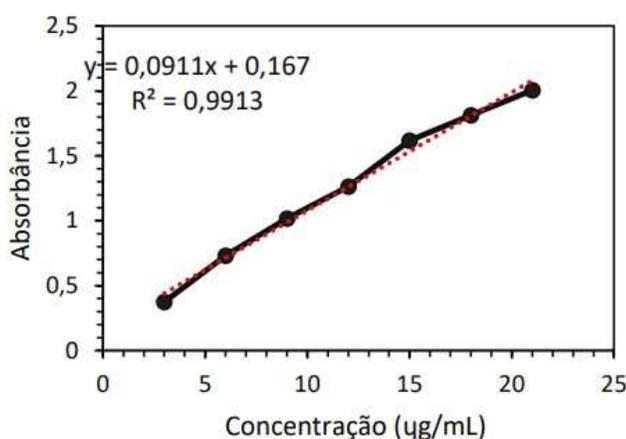


Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

5.5.2 Linearidade

De acordo com os dados obtidos através do método de regressão para a média de 3 diferentes curvas de calibração, o método desenvolvido apresentou linearidade na faixa de 3 à 21 $\mu\text{g/mL}$ (para a solução analisada na cubeta). O valor para o coeficiente de correlação linear obtido foi de 0,9913, significando uma taxa de erro de 0,87% e que 99,13% dos eventos podem ser explicados e previstos pela regressão realizada (Gráfico 3). A partir da análise dos dados pela análise de variância unilateral (ANOVA), foi possível evidenciar a qualidade da regressão realizada. Onde não houve falha no ajuste do modelo, uma vez que, no nível de 95% de confiança, os valores de calculados de F foram menores que os valores críticos de F.

Gráfico 3 - Curva de calibração obtida a partir das análises das amostras de Ácido Gálico (concentrações de 3 a 21 $\mu\text{g/mL}$).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

5.5.3 Limites de Quantificação e Detecção

Os limites de detecção e quantificação foram calculados baseando-se no desvio padrão do residual da linha de regressão e sua relação com o coeficiente angular (inclinação da reta), dados estes obtidos a partir de curva de calibração resultante da média de 3 outras curvas de calibração. O método mostrou-se sensível a variação de pequenas concentrações, de modo que os limite de detecção e quantificação corresponderam, respectivamente, a 0,3657 $\mu\text{g/mL}$ e 1,1082 $\mu\text{g/mL}$.

5.5.4 *Precisão*

As análises de precisão intermediária inter-turno, inter-dia e inter-analistas mostrou resultado satisfatório, de modo que os valores da média das 24 análises na concentração de 12 µg/mL, o desvio padrão e o desvio padrão relativo foram, respectivamente, de 1,1781, 0,0576 e 4,8933%.

5.5.5 *Robustez*

Os resultados obtidos a partir das leituras em diferentes comprimentos de onda e com variação de tempo das soluções de ácido gálico nas concentrações de 12 µg/mL, mostraram, respectivamente, valores de média, desvio padrão e o desvio padrão relativo de 1,4428, 0,0267 e 1,8514%.

5.6 **Atividade antioxidante**

Com base nos dados de absorvância, calculou-se os valores de IC50 para as amostras. Os IC50 obtidos foram: 14,5404 mg/mL (mel A), 15,2454 mg/mL (mel B), 212,2887 mg/mL (mel C) e 166,7899 mg/mL (mel D), tendo como referência 3,9999 µg/mL (ácido gálico).

Os resultados demonstraram o potencial antioxidante do mel de *Apis mellifera* para aplicações terapêuticas e cosméticas. A amostra A apresentou a maior atividade antioxidante, enquanto a C apresentou a menor. Ambas as amostras são do mel de marmeleiro, indicando que o potencial antioxidante do mel, possivelmente varia de acordo com a época da coleta.

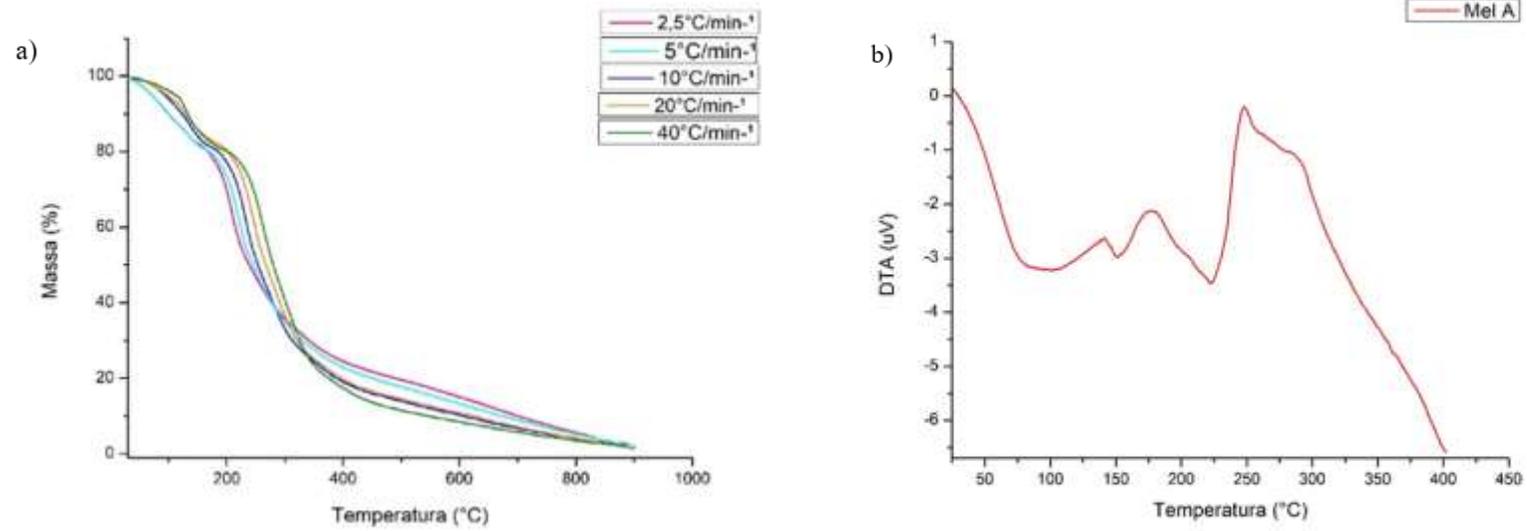
De acordo com Gregório et al. (2020), a variação da atividade antioxidante pode estar relacionada a cor das amostras, e também com a presença de flavonóides como quercetina, flavonas, isoflavonas, antocianinas, catequinas e isocatequinas, e os fenólicos podem participar juntamente com os flavonóides na determinação dessa atividade.

5.7 **Caracterização térmica**

Os eventos térmicos por técnicas de TG e DTA, estão representados nas figuras 16 a 19, e foram observados na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, conforme dispostos nas tabelas 6 a 9. O

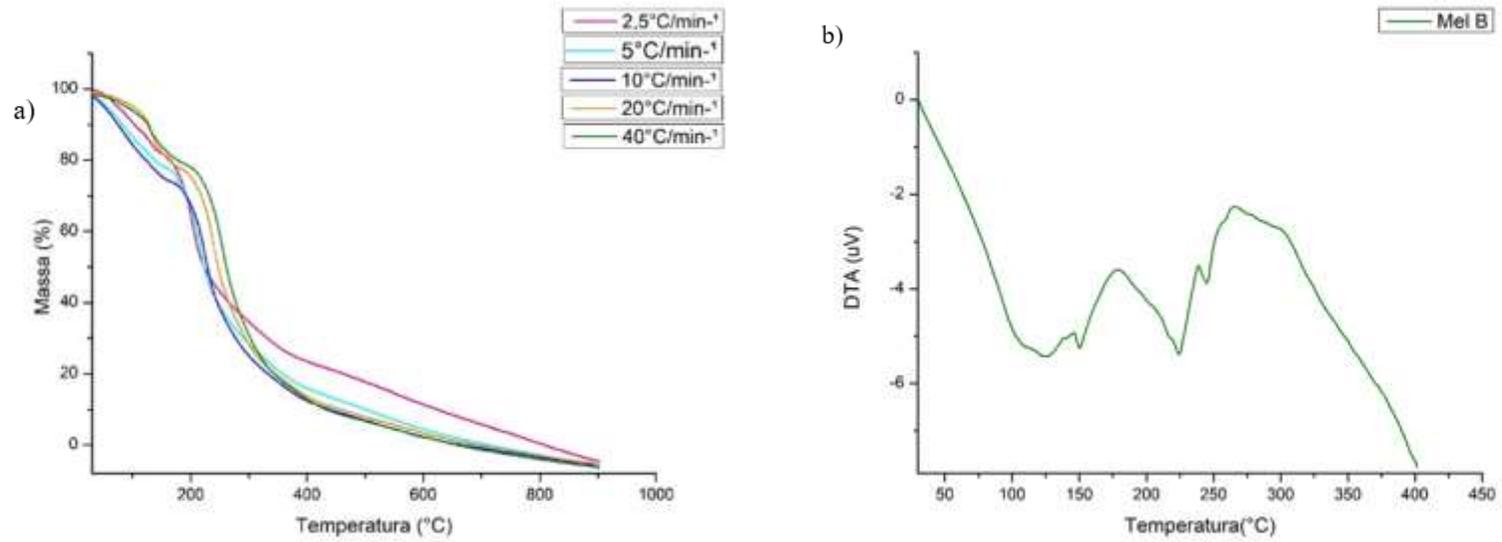
teor de água e de açúcares presentes nos méis podem sofrer perda e degradação em temperaturas elevadas, os quais afetam o efeito biológico do produto. Esses parâmetros podem ser analisados por técnicas termoanalíticas que verificam eventos de perda de massa em função do aumento da temperatura.

Figura 16 - (a) TG do Mel A*; (b) DTA do Mel A*.



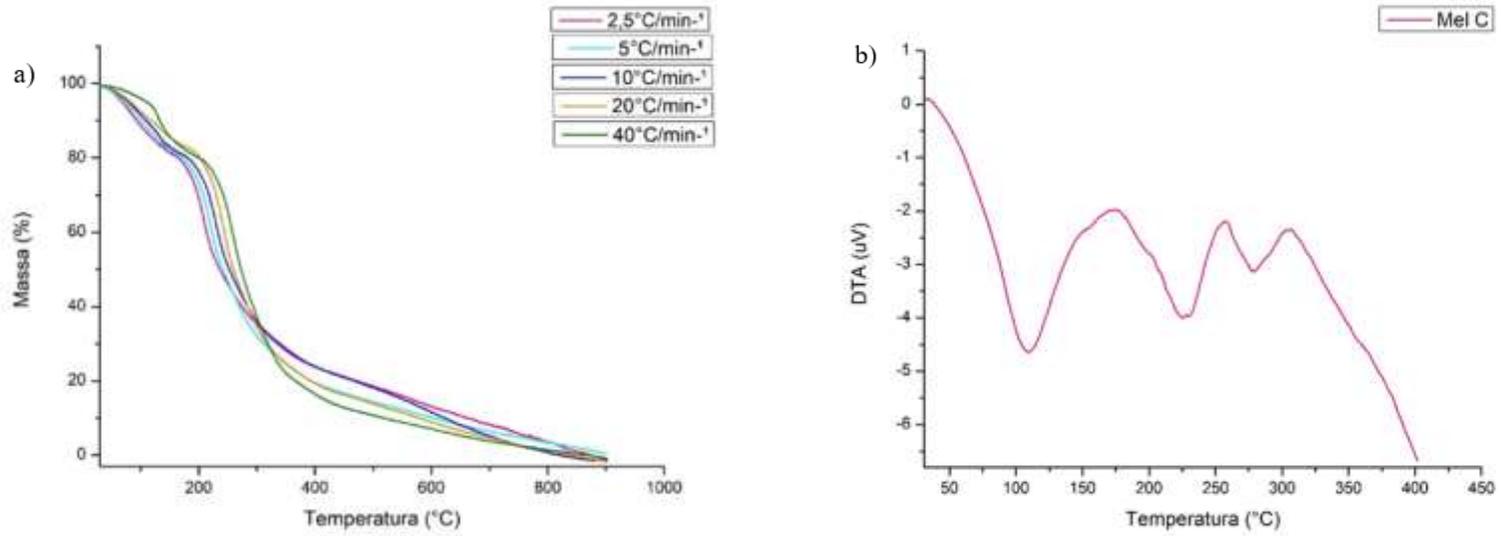
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.
*Mel A: Marmeleiro, seco.

Figura 17 - (a) TG do Mel B*; (b) DTA do Mel B*.



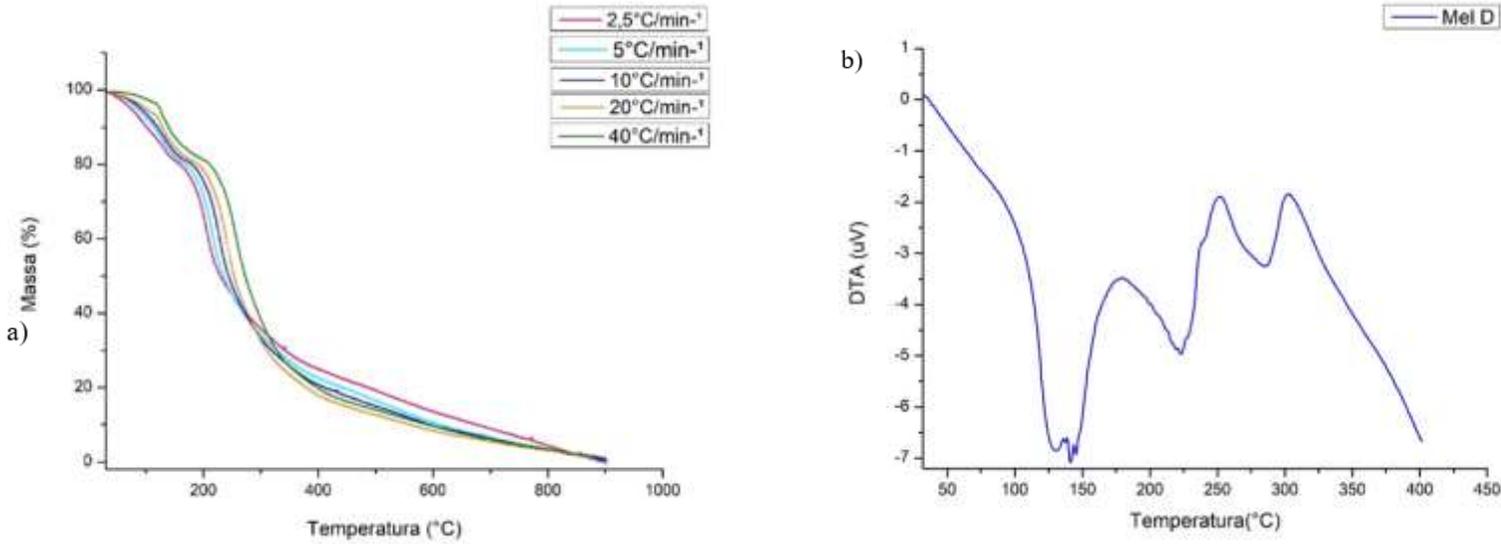
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.
* Mel B: Aroeira, seco.

Figura 18 - (a) TG do Mel C*; (b) DTA do Mel C*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.
*Mel C: Marmeleiro, chuvoso.

Figura 19 - (a) TG do Mel D*; (b) DTA do Mel D*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.
*Mel D: Aroeira, chuvoso.

Tabela 6 - Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel A (Marmeleiro, seco), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Mel A	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
T inicial (°C)	103,91°C	212,10°C	246,19°C	329,69°C	422,22°C
T final (°C)	153,58°C	240,84°C	284,50°C	422,22°C	900°C
Perda de massa	17,59%	28,25%	24,96%	24,78%	4,42%

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Tabela 7 - Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel B (Aroeira, seco), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Mel B	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
T inicial (°C)	54,93°C	210,35°C	241,92°C	402,70°C	606,77°C
T final (°C)	107,53°C	233,08°C	278,33°C	606,77°C	900°C
Perda de massa	20,91%	28,99%	26,85%	16,04%	6,85%

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Tabela 8 - Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel C (Marmeleiro, chuvoso), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Mel C	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
T inicial (°C)	84,81°C	223,09°C	251,45°C	418,76°C	587,17°C
T final (°C)	145,89°C	240,35°C	282,56°C	587,17°C	900°C
Perda de massa	18,28%	30,16%	22,95%	28,24%	0,37%

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Tabela 9 - Eventos térmicos das curvas termogravimétricas do mel D (Aroeira, chuvoso), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Mel D	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
T inicial (°C)	107,05°C	208,64°C	219,50°C	249,48°C	325,88°C
T final (°C)	138,74°C	256,95°C	236,33°C	325,88°C	900°C
Perda de massa	15,79%	11,57%	20,50%	46,54%	5,60%

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Ao confrontar os dados das figuras 16, 17, 18 e 19 com os dados das tabelas 6, 7, 8 e 9, respectivamente, é possível observar que, nas curvas termogravimétricas, a degradação dos méis ocorre em cinco etapas, a qual está associada a uma possível decomposição de outros açúcares (mono-, di-, tri- e oligossacarídeos), confirmada pelos picos endotérmicos nas curvas de DTA nas figuras 16(b), 17(b), 18(b) e 19(b). Observa-se cinco eventos térmicos ocorridos nos quatro tipos de méis, em que, as massas perdidas começam em temperaturas distintas, sendo o Mel B o que apresentou a temperatura mais baixa (54,93°C) de provável perda de água ou decomposição dos açúcares, seguido do Mel C (84,81°C), Mel A (103,91°C) e Mel D (107,05°C).

Dentre os eventos observados, pode-se inferir que o primeiro evento térmico pode ser associado à provável volatilização de água e de algum produto de degradação térmica da sacarose, devido ao seu ponto de fusão ocorrer em 185°C. O segundo e o terceiro evento térmico que ocorrem em temperaturas maiores que 200°C, podem estar envolvidos na degradação de açúcares e proteínas, em que estão diretamente relacionadas com a condutividade elétrica do mel. As últimas etapas indicam uma possível decomposição de outros açúcares (mono-, di-, tri- e oligossacarídeos), devido às altas temperaturas de aquecimento, que facilitam a degradação de açúcares mais compostos e também de algum composto inorgânico, corroborando com os resultados encontrados por Wanderley et al., 2015.

No mel D, observa-se um evento endotérmico significativo, o qual apresentou em uma baixa variação de temperatura (208,64-256,95°C) uma rápida perda de massa de 11,57%. Esse evento foi comprovado na curva de DTA e observa-se uma instabilidade térmica evidenciada pela não formação de um platô nas curvas termogravimétricas. Essa etapa pode estar relacionada a fusão dos açúcares ou minerais presentes no mel em maior quantidade ou devido à época de coleta e

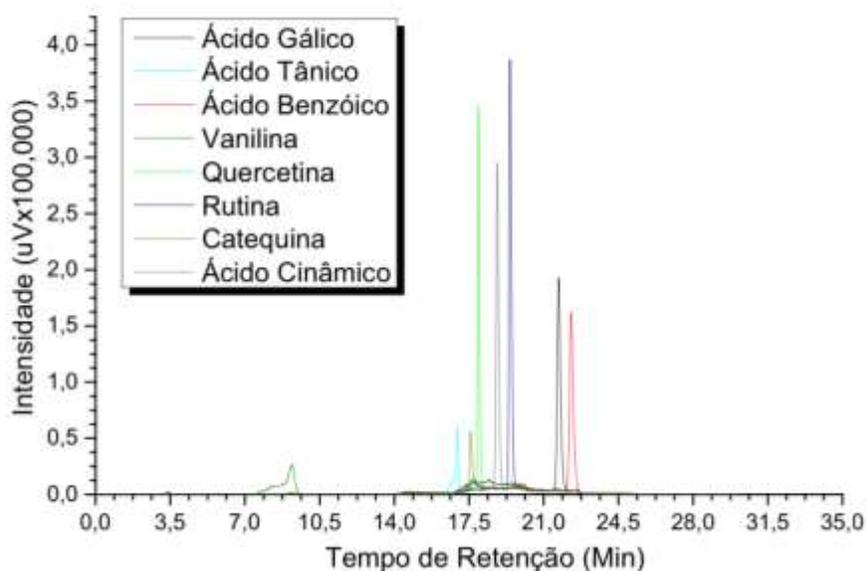
condições climáticas. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2013).

5.8 Perfil cromatográfico (*Fingerprint*) das amostras de mel

A abordagem qualitativa (perfil cromatográfico) vem sendo empregada para estabelecer parâmetros de autenticidade e qualidade de amostras de produtos naturais.

O método empregado foi desenvolvido e validado por Fernandes (2015) e colaboradores. Após a obtenção dos cromatogramas (*fingerprint*), foi avaliado o perfil cromatográfico, nas condições analíticas pré-definidas pelo método validado, dos seguintes padrões: ácido gálico, ácido tânico, ácido benzóico, vanilina, quercetina, rutina, catequina e ácido cinâmico, conforme podemos observar na Figura 20.

Figura 20 - Cromatograma dos padrões.



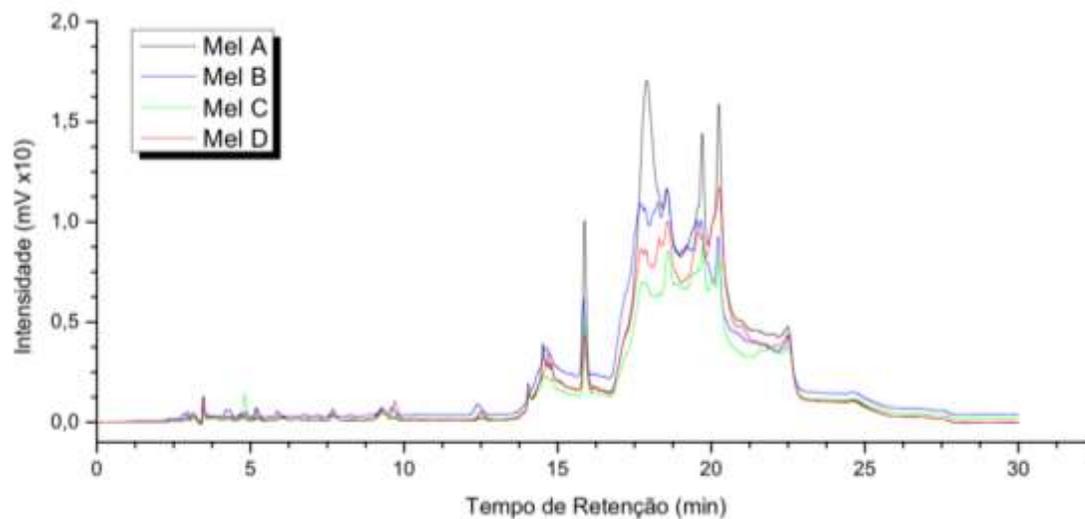
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

A figura 21 apresenta os perfis cromatográficos obtidos para as amostras dos méis: A, B, C e D. Observa-se, após uma inspeção visual, variações nos diferentes cromatogramas, conforme a época do ano.

A partir da avaliação dos perfis cromatográficos dos padrões químicos, sobrepostos às amostras dos méis: A, B, C, e D, foi possível observar a ocorrência dos padrões químicos: ácido gálico e vanilina, porém não foram detectados: ácido tânico, ácido benzoico, quercetina, rutina,

catequina e ácido cinâmico (Figura 21).

Figura 21 - Cromatograma dos méis sobrepostos.

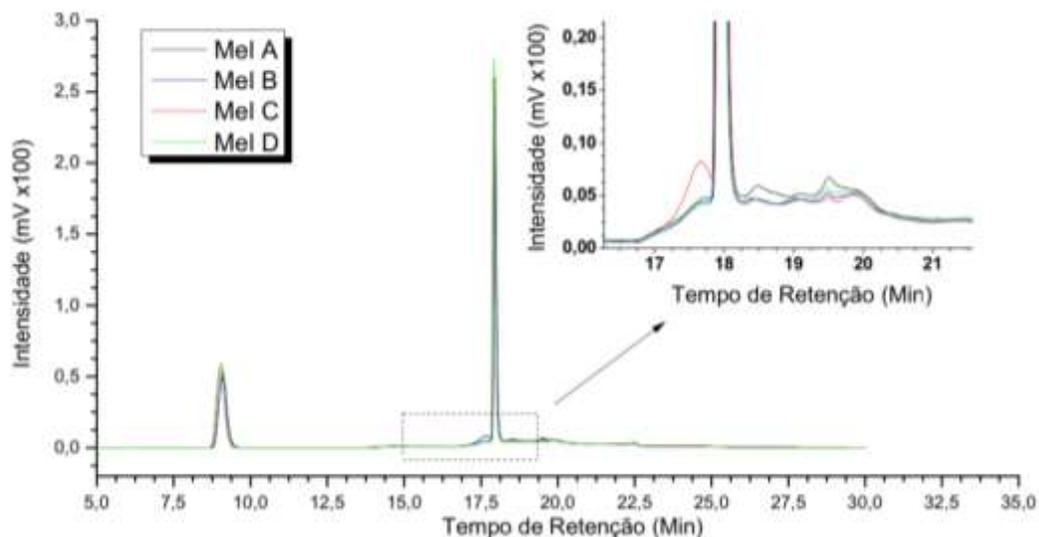


Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Onde: Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso.

A presença dos padrões químicos, ácido gálico e vanilina, nas amostras analisadas, foi confirmada, através da avaliação do parâmetro cromatográfico tempo de retenção. Cada amostra foi fortificada com quantidades conhecidas do padrão e em seguida foi obtido o perfil cromatográfico. (Figura 22).

Figura 22 - Cromatograma dos méis fortificados com ácido gálico e vanilina.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Os resultados da análise estão em concordância com os dados disponíveis de Ramanauskienė et al. (2012), para diferentes tipos de mel lituano, e outros grupos de pesquisadores que encontraram o ácido gálico, como um dos ácidos dominantes no mel, determinado em amostras de mel de diferentes origens geográficas. A vanilina também foi detectada em todas as amostras testadas no estudo, corroborando com os resultados de Jiang *et al.* (2020).

5.9 Atividade antimicrobiana

A susceptibilidade dos microrganismos testados, foi demonstrada nas tabelas 10 e 11, conforme as metodologias aplicadas, para concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), expressas em porcentagem e em mg/mL (tabelas 10 e 11), e difusão em ágar, com o diâmetro dos halos determinados em milímetros, conforme tabela 13.

Tabela 10 - Média dos resultados obtidos nos testes de susceptibilidade, pela concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

AMOSTRAS	CIM			CBM		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Mel A (%)	14,58 ± 7,21	25 ± 0,00	20,83 ± 7,21	25 ± 0,00	-	-
Mel B (%)	14,58 ± 7,21	25 ± 0,00	16,66 ± 7,21	25 ± 0,00	-	25 ± 0,00
Mel C (%)	6,25 ± 0,00	25 ± 0,00	6,25 ± 0,00	25 ± 0,00	-	25 ± 0,00
Mel D (%)	12,50 ± 0,00	25 ± 0,00	12,50 ± 0,00	25 ± 0,00	-	25 ± 0,00
Amicacina (µg/mL)		13,01 ± 4,50	1,62 ± 0,56	-	26,04 ± 9,02	3,25 ± 1,12
Cefazolina (µg/mL)	0,29 ± 0,17			1,30 ± 0,45		

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso. (-) CBM não detectada nas concentrações analisadas.

Os três microrganismos testados, apresentaram sensibilidade ao mel de *Apis mellifera*. As concentrações inibitórias mínimas, variaram de 6,25% a 14,58% contra o *Staphylococcus aureus*, e de 6,25% a 20,83% contra a *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto que para a *Escherichia coli*, não houve variação, com a concentração inibitória mínima de 25%, para os quatro méis testados.

O mel C (Marmeleiro, chuvoso), obteve a menor concentração inibitória mínima contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, com 6,25%, mesmo valor encontrado por Anand *et al.* (2019), a partir do mel monofloral de Agastache cultivado na Austrália

Outro parâmetro para determinar, qualitativamente, a atividade antimicrobiana dos méis, de acordo com os valores obtidos no teste de microdiluição expressos em porcentagem, pode ser observado conforme descrito por Gregório *et al.* (2020), onde considera-se a atividade antimicrobiana forte (1,0% a 12,5%), moderada (12,5% a 50%) e fraca (>50%). Desta forma, pode-se relacionar os resultados da concentração inibitória mínima observada, conforme demonstrado na tabela 11.

Tabela 11 - Resultado qualitativo, conforme parâmetros para determinação da potência antimicrobiana do mel, pela concentração inibitória mínima, expressas em porcentagem.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA				
MICROORGANISMO	MEL A	MEL B	MEL C	MEL D
<i>S. aureus</i>	Moderada	Moderada	Forte	Moderada
<i>E. coli</i>	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada
<i>P. aeruginosa</i>	Moderada	Moderada	Forte	Moderada

Fonte: Adaptado de Gregório *et al.* (2020).

Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso.

Esses resultados demonstraram uma atividade moderada a forte contra microrganismos causadores de infecções da pele e doenças respiratórias (David; Daum, 2017).

Os valores de CIM/CBM obtidos para *Staphylococcus aureus*, foram compatíveis com os encontrados por Gregório *et al.* (2020), de 12,5% e 25%, respectivamente, em mel de *Apis mellifera* coletado na região ocidental do Estado do Paraná, enquanto que para a *Escherichia coli*, apenas a CIM de 25% corroborou com o estudo, e não foi possível detectar o valor da CBM nas concentrações analisadas.

Para os resultados de CIM/CBM expressos em mg/mL, observamos valores superiores aos encontrados por (Hamadou *et al.*, 2022), para todos os méis analisados, contra os microrganismos estudados. Para o *Staphylococcus aureus*, obtivemos as concentrações bacteriostáticas (CIM) e bactericidas (CBM) para todos os méis. Apenas para a *Escherichia coli* (Mel A-D) e *Pseudomonas aeruginosa* (Mel A), não ficou determinada a concentração bactericida, dentro das concentrações de méis testadas.

Tabela 12 - Resultados obtidos nos testes de susceptibilidade, pela concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), equivalentes em mg/mL de mel.

AMOSTRAS	CIM (mg/mL)			CBM (mg/mL)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Mel A	102,0	175,0	116,6	175,0	>175,0	>175,0
Mel B	43,7	175,0	87,5	175,0	>175,0	175,0
Mel C	43,7	175,0	116,6	175,0	>175,0	175,0
Mel D	87,5	175,0	87,5	175,0	>175,0	175,0

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso.

Quanto aos resultados obtidos pelo método de difusão em ágar (tabela 13), nota-se que, as duas variações de mel testadas, em duas épocas climáticas diferentes, apresentaram atividade contra a bactéria Gram-positiva utilizada nos experimentos, ou seja, *S. aureus*. Neste caso, as zonas de inibição do crescimento bacteriano foram observadas após a aplicação dos méis puros. O crescimento de *S. aureus* teve maior inibição pelos méis B (35 mm), C (35 mm) e D (34 mm), e teve uma zona mínima para o mel A (6 mm). Da mesma forma, os méis testados inibiram o crescimento de bactérias Gram-negativas *E. coli*. As zonas de inibição de crescimento para os méis B (20 mm), C e D (18 mm) e A (6 mm). Enquanto que, para a *Pseudomonas aeruginosa* (6 mm), obteve-se a menor zona de inibição para todos os méis testados, como demonstrado na tabela 10, corroborando com os recentes estudos de Kunat-Budzyńska (2023).

Neste estudo, observou-se que os resultados da atividade antimicrobiana obtidos a partir do ensaio de difusão em ágar de alguns méis, não estão em concordância com os resultados da CIM. Diferentes fatores podem estar relacionados a essa situação, entre eles, a difusividade do mel no ágar (Pavan, 2017).

Tabela 13 - Medidas obtidas do diâmetro dos halos formados, no teste de difusão em ágar.

Amostras	Diâmetro do halo (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Mel A	6	6	6
Mel B	35	20	6
Mel C	35	18	6
Mel D	34	18	6
Amicacina (250 µg/mL)	13	21	15

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Mel A - Marmeleiro, seco; Mel B - Aroeira, seco; Mel C - Marmeleiro, chuvoso; Mel D - Aroeira, chuvoso.

Dentre os quatro méis de *Apis mellifera* analisados, o mel C (Marmeleiro, chuvoso) obteve a melhor atividade antimicrobiana demonstrada para *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, e resultado semelhante aos demais para *Escherichia coli*. Ao observar os resultados obtidos na caracterização físico-química, percebe-se que o seu valor de pH diminuiu significativamente em relação ao mesmo mel em época seca, este também é o menos viscoso, com menor teor de fenóis totais e é também o que teve a maior perda de massa na análise térmica.

De modo geral, é possível afirmar que o mel de abelha do semiárido paraibano, possui atividade antibacteriana, e que as condições climáticas, o solo e a vegetação, pode favorecer ou não, características importantes nessa atividade em função da sua composição.

6 CONCLUSÃO

- Os aspectos físico-químicos avaliados, estão em consonância com outros estudos, e os valores encontrados demonstram alguns fatores que podem contribuir sinergicamente, para a atividade biológica do mel, como a baixa acidez, o teor de açúcar e a sua composição fenólica.

- O mel A (época seca), apresentou maior capacidade antioxidante, enquanto que o mel C (época chuvosa), ambos predominantemente de marmeleiro, a menor, dentre os quatro méis estudados, o que possivelmente se deve a influência da sazonalidade nas características do mel;

- Na análise de polifenóis totais, notou-se variação estatística para os dois tipos de méis, nas diferentes épocas coletadas, onde, o mel de aroeira, apresentou maior teor total de polifenóis, em ambas as épocas de coleta, em comparação ao mel de marmeleiro, o que se deve, possivelmente, à influência climática e diferença de vegetação na composição do mel.

- Os dois tipos de méis testados, sendo um predominantemente de marmeleiro e o outro, predominantemente de aroeira, em duas épocas climáticas distintas (seca e chuvosa), demonstraram atividade antimicrobiana contra cepas bacterianas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*), e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*).

- O mel C (Marmeleiro, chuvoso) obteve a melhor atividade antibacteriana, demonstrando eficácia contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, potenciais patógenos em infecções respiratória e de feridas.

- Foram observadas atividades biológicas (*in vitro*) importantes, em todas as amostras de mel de abelhas *Apis mellífera*, produzidos no semiárido paraibano, por apicultores vinculados a Associações e Cooperativas apícolas do Estado.

- Os méis do semiárido paraibano estudados, demonstraram potencial antibacteriano, e com estudos mais aprofundados, podem ser considerados como opção de ingrediente ativo farmacêutico, no tratamento de infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS

- AHANGARPOUR, A. et al. Gallic Acid and Gallic Acid Nanoparticle Modulate Insulin Secretion Pancreatic β -Islets against Silica Nanoparticle–Induced Oxidative Damage. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 12, p. 5159–5171, 1 dez. 2022.
- AHMAD-MANSOUR, N. et al. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. **Toxins**, v. 13, n. 10, p. 677, 23 set. 2021.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey. **Foods**, v. 3, n. 3, p. 420–432, set. 2014.
- ALVES, R. M. DE O. et al. Características físico-químicas de amostras de mel de Melipona mandacaia Smith (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, v. 25, p. 644–650, dez. 2005.
- AMARETTI, A. et al. Antibiotic Resistance, Virulence Factors, Phenotyping, and Genotyping of Non-Escherichia coli Enterobacteriales from the Gut Microbiota of Healthy Subjects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1847, jan. 2020.
- ANAND, S. et al. Antimicrobial Activity of Agastache Honey and Characterization of Its Bioactive Compounds in Comparison With Important Commercial Honeys. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.
- ANDERSON, D. J. et al. The Role of Stewardship in Addressing Antibacterial Resistance: Stewardship and Infection Control Committee of the Antibacterial Resistance Leadership Group. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. suppl_1, p. S36–S40, 15 mar. 2017.
- ARAÚJO, J. I. R. DE et al. Métodos analíticos para avaliação da estabilidade de rotina e análise da formação de seus produtos de degradação: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e399111234657–e399111234657, 18 set. 2022.
- AYOUB, W. S. et al. Exploiting the polyphenolic potential of honey in the prevention of chronic diseases. **Food Chemistry Advances**, v. 3, p. 100373, 1 dez. 2023.
- AZEVEDO, D. C. DE. Avaliação das propriedades antimicrobianas do mel e da geoprópolis da abelha plebeia aff. Flavocincta frente aos microorganismos staphylococcus aureus e enterococcus faecalis. 20 maio 2019.
- BAJPAI, B.; PATIL, S. A new approach to microbial production of gallic acid. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 708–711, dez. 2008.
- BARAN, A.; KWIATKOWSKA, A.; POTOCKI, L. Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5777, jan. 2023.
- BORSATO, D. M. 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, 12 jul. 2013.

BOTELHO, J.; GROSSO, F.; PEIXE, L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology and evolution. **Drug Resistance Updates**, v. 44, p. 100640, maio 2019.

CAMARGO, R. C. R. DE; OLIVEIRA, K. L. DE; BERTO, M. I. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 0, 2017.

CAMPOS, G. et al. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 1–5, abr. 2003.

CARVALHO, C. A. L. DE et al. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. 1ª ed. Cruz das Almas: Nova Civilização, 2005.

CASTELLI, L. et al. Seasonal Dynamics of the Honey Bee Gut Microbiota in Colonies Under Subtropical Climate. **Microbial Ecology**, v. 83, n. 2, p. 492–500, 1 fev. 2022.

CHAVES, T. P. et al. Evaluation of the Interaction between the *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz Extract and Antimicrobials Using Biological and Analytical Models. **PLOS ONE**, v. 11, n. 5, p. e0155532, 18 maio 2016.

COSTA, A. C. V. DA. **Compostos voláteis e perfil sensorial de méis monoflorais produzidos por abelhas sem ferrão (*melipona spp.*) Do semiárido brasileiro**. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br>>. Acesso em: 17 jul. 2021.

COSTA, M. C. B. et al. Efeito da suplementação de catequinas na perda de peso em indivíduos obesos: uma Revisão Sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e28510313185–e28510313185, 16 mar. 2021.

DAVID, M. Z.; DAUM, R. S. Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. Em: BAGNOLI, F.; RAPPUOLI, R.; GRANDI, G. (Eds.). **Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis**. Tópicos Atuais em Microbiologia e Imunologia. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 325–383.

DEEPIKA; MAURYA, P. K. Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. **Molecules**, v. 27, n. 8, p. 2498, jan. 2022.

EL SOHAIMY, S. A.; MASRY, S. H. D.; SHEHATA, M. G. Physicochemical characteristics of honey from different origins. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 2, p. 279–287, 1 dez. 2015.

EL-KASED, R. F. Natural antibacterial remedy for respiratory tract infections. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 3, p. 270–274, 1 mar. 2016.

ELOFF, J. N. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n. 08, p. 711–713, dez. 1998.

FAUZI, A. N.; NORAZMI, MOHD. N.; YAACOB, N. S. Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 4, p. 871–878, 1 abr. 2011.

FEKNOUS, N.; BOUMENDJEL, M. Natural bioactive compounds of honey and their antimicrobial activity. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 40, n. 3, p. 163–178, 29 jun. 2022.

FERNANDES, F. H. A. et al. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 208–211, 1 maio 2015.

FIOROTTI, L. L. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL BIOATIVO DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO E AFRINCANIZADAS OCORRENTES NO ESPÍRITO SANTO**. Dissertação—Vila Velha - ES: Universidade Vila Velha, 2021.

FUENTE, J. L. D. L. et al. Thermal characterization of HCN polymers by TG–MS, TG, DTA and DSC methods. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, n. 5, p. 943–948, 1 maio 2011.

GARDONI, L. C. DE P. et al. Content of phenolic compounds in monofloral aroeira honey and in floral nectary tissue. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, p. e02802, 29 ago. 2022.

GOIS, G. C. et al. Physical and chemical study and honey microbiological quality *Apis mellifera* sold in the State of Paraíba. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 1, 19 out. 2015.

GREGÓRIO, A. et al. Antimicrobial activity, physical-chemical and activity antioxidant of honey samples of *Apis mellifera* from different regions of Paraná, Southern Brazil. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 583–590, 18 dez. 2020.

HABIB, H. M. et al. Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. **Food Chemistry**, v. 153, p. 35–43, 15 jun. 2014.

HAMADOU, W. S. et al. Chemical Composition and the Anticancer, Antimicrobial, and Antioxidant Properties of *Acacia* Honey from the Hail Region: The in vitro and in silico Investigation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, p. e1518511, 4 ago. 2022.

HASAN, R.; ACHARJEE, M.; NOOR, R. Prevalence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from burn wound infections. **Tzu-Chi Medical Journal**, v. 28, n. 2, p. 49, jun. 2016.]

JANG, J. et al. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 3, p. 570–581, set. 2017.

JIANG, L. et al. Phenolics and Carbohydrates in Buckwheat Honey Regulate the Human Intestinal Microbiota. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2020, 2020.

KUNAT-BUDZYŃSKA, M. et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of New

Honey Varietals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 2458, jan. 2023.

LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1–23, 31 maio 2018.

MARTINOTTI, S. et al. Honey: An Effective Regenerative Medicine Product in Wound Management. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 27, p. 5230–5240, 1 ago. 2019.

MENDES, T. A. D. et al. Ácido tânico como agente biomodificador de dentina. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 7, n. 2(Abr-Jun), p. 182–186, 11 abr. 2019.

MIGUES, V. H. et al. Determination of Soybean Isoflavone by HPLC/DAD and Simple UV Spectroscopic Analysis: a Comparative Study. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 2, p. 367–376, 1 fev. 2022.

PAVAN, T. F. T. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES MÉIS DE ABELHA SEM FERRÃO. p. 85–85, 2017.

RAMANAUSKIENE, K. et al. The quantitative analysis of biologically active compounds in Lithuanian honey. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1544–1548, jun. 2012.

ROMÁRIO-SILVA, D. et al. Antimicrobial Activity of Honey against Oral Microorganisms: Current Reality, Methodological Challenges and Solutions. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2325, dez. 2022.

ROYO, V. DE A. et al. Physicochemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Honeys Produced in Minas Gerais (Brazil). **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1429, out. 2022a.

ROYO, V. DE A. et al. Physicochemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Honeys Produced in Minas Gerais (Brazil). **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1429, out. 2022b.

RUIZ-RUIZ, J. C. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. **Food and Agricultural Immunology**, v. 28, n. 6, p. 1424–1437, 2 nov. 2017.

SANTOS, A. L. DOS et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 413–423, dez. 2007.

SEKINE, E. S. et al. Floral Origin and Physical and Chemical Characteristics of Honey from Africanized Bees in Apiaries of Ubiratã and Nova Aurora, State of Paraná. **Sociobiology**, v. 66, n. 1, p. 126–135, 25 abr. 2019.

SILVA, B. et al. In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. **Food Research International**, v. 141, p. 110086, 1 mar. 2021.

SILVA, R. A. DA et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da

saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, p. 607–623, 16 nov. 2020.

SILVA, I. A. A. et al. Thermal degradation of honeys and evaluation of physicochemical properties. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 114, n. 1, p. 353–358, 1 out. 2013.

SILVA, P. M. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 1 abr. 2016.

SILVA, W. et al. Biotecnologia da vanilina: Uma revisão sobre suas características e atividades biológicas. **Estrabão**, v. 4, p. 112–124, 17 fev. 2023.

SOUSA, J. M. et al. 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, 1 jun. 2016.

STAPLETON, P. J. et al. Antibiotic resistance patterns of Escherichia coli urinary isolates and comparison with antibiotic consumption data over 10 years, 2005–2014. **Irish Journal of Medical Science (1971 -)**, v. 186, n. 3, p. 733–741, 1 ago. 2017.

THI, M. T. T.; WIBOWO, D.; REHM, B. H. A. Pseudomonas aeruginosa Biofilms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 8671, jan. 2020.

VALDEZ SEPÚLVEDA, L.; GONZÁLEZ-MORALES, S.; BENAVIDES MENDOZA, A. Ácido benzoico: biosíntesis, modificación y función en plantas. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 6, n. 7, p. 1667–1678, nov. 2015.

WANDERLEY, R. O. S. et al. Avaliação dos parâmetros de qualidade e estabilidade térmica de méis produzidos na região de Sousa-PB. **ACTA Apícola Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 10, 31 jul. 2015.

XIAO, Y. et al. Spectrum-effect relationship between HPLC fingerprint and antioxidant of “San-Bai Decoction” extracts. **Journal of Chromatography B**, v. 1208, p. 123380, out. 2022.

ZHANG, F.; CHENG, W. The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. **Antibiotics**, v. 11, n. 9, p. 1215, set. 2022.

ZHOU, W. et al. Chip-Based MEMS Platform for Thermogravimetric/Differential Thermal Analysis (TG/DTA) Joint Characterization of Materials. **Micromachines**, v. 13, n. 3, p. 445, mar. 2022.