

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA BACHARELADO

**GUSTAVO DA COSTA FREIRE**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO MEL DE TIÚBA (*Melipona fasciculata*  
SMITH) PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE NO  
ESTADO DO MARANHÃO.**

SÃO LUÍS

2019

**GUSTAVO DA COSTA FREIRE**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO MEL DE TIÚBA (*Melipona fasciculata*  
SMITH) PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE NO  
ESTADO DO MARANHÃO.**

Monografia apresentada ao Curso de  
Agronomia Bacharelado do Centro de  
Ciências Agrárias da Universidade Estadual do  
Maranhão, como requisito para obtenção do  
título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador(a): Prof. Dr. José de Ribamar Silva  
Barros

Co-orientadora: Msc. Bruna Fernanda Silva de  
Sousa

SÃO LUÍS

2019

Freire, Gustavo da Costa.

Qualidade microbiológica do mel de tíuba (*Melipona fasciculata*, SMITH) produzido na microrregião da baixada maranhense no estado do Maranhão / Gustavo da Costa Freire.– São Luís, 2019.

... f

Monografia (Graduação) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Prof. Dr. José de Ribamar Silva Barros.

**GUSTAVO DA COSTA FREIRE**

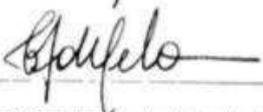
**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO MEL DE TIÚBA (*Melipona fasciculata*  
SMITH) PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE  
NO ESTADO DO MARANHÃO.**

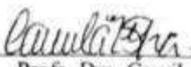
Monografia apresentada ao Curso de  
Agronomia do Centro de Ciências  
Agrárias da Universidade Estadual do  
Maranhão, como requisito para obtenção  
do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).

Aprovada em: 12/12/2019

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. José de Ribamar Silva Barros – **Orientador**  
Departamento DBIO/UEMA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Thiago Anchieta de Melo  
Departamento/DBIO/UEMA

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Camila Magalhães Silva  
Departamento de Engenharia de Pesca/UEMA

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me proteger, guiar, iluminar, por me dar abrigo nas horas de tempestade, por criar saídas onde parece não haver escapatória. Agradeço pela sua compaixão, pela sua graça, pela sua bondade, pela força concedida nessa jornada.

Aos meus pais, que me acompanharam em toda a minha jornada de vida, que estiveram presentes nos momentos mais importantes e me deram força nesta batalha pois sem eles seria impossível chegar até aqui.

Às pessoas maravilhosas da minha família que me ajudaram. Não citarei nomes, pois a família é gigantesca, porém, preciso destacar as pessoas que me acompanharam diretamente nesses anos, que me auxiliaram e me receberam em sua casa, compartilharam cama e me deram todo apoio para eu mudar de cidade para iniciar a graduação. tia Antônia, tio Pinheiro e Felipe. Agradeço de coração.

A Oderlane Nascimento Silva e todo apoio nas horas mais difíceis, por sempre me incentivar a continuar, por nunca desistir de mim e sempre está ao meu lado me dando forças para prosseguir.

Aos meus amigos da UEMA que sempre me apoiaram e me acompanharam: Carlos Neto, Priscila Carvalho, Monique Gabrielle, Rafael Dias, Luana Corrêa, Jonas Alves, Phelipe Araújo, Francisco de Assis, Risley Belfort. Foram muitas brincadeiras, muitos sufocos, muitas gargalhadas. Sentirei falta da nossa convivência diária.

Ao meu orientador José de Ribamar Silva Barros, pelo apoio dado, pela confiança, pela paciência que teve comigo. Agradeço a minha coorientadora Bruna Fernanda Silva de Sousa pela ajuda, por me acompanhar, me auxiliar e me ensinar neste trabalho. Aos meus companheiros de laboratório: Jonas Alves e Victória Torquato.

Aos Professores da minha graduação, pois contribuíram para minha formação, sendo essenciais ao meu desenvolvimento profissional. A Universidade Estadual do Maranhão. À todos que, direta e indiretamente contribuíram para a finalização desta etapa, agradeço.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar amostras de mel, verificando a qualidade microbiológica quanto a presença de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e *Salmonella* além de verificar o teor de umidade de méis de tábua oriundos da região da Baixada Maranhense no Estado do Maranhão. Para tanto adotou-se a metodologia descrita no Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água e os resultados analisados segundo a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento e para a análise de umidade a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Não houve a detecção de nenhum contaminante microbiológico do grupo dos Coliformes, Bolores e Leveduras e *Salmonella* sp. Contudo em 16% das amostras verificou-se uma contagem elevada de bactérias aeróbias mesófilas. A umidade variou de 19 a 21,43% nas amostras e teor de sólidos solúveis oscilou entre 70 a 80,62%. O teste de correlação de Spearman mostrou não existir uma relação entre o teor de água e bactérias aeróbias mesófila. O teste do Qui-quadrado para independência foi de  $\chi^2 = 2.102$ , mostrando não haver associação entre as variáveis formas de coletas. As análises microbiológicas dos méis da microrregião da Baixada Maranhense mostraram que 84% das amostras se encontravam livres de contaminação, com exceção de 8 amostras (16%) que apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas acima do recomendado.

**Palavras chaves:** Meliponicultura. Umidade. Microbiologia.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	7
2. OBJETIVOS.....	9
2.1    Objetivo Geral .....	9
2.2    Objetivos Específicos.....	9
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	10
3.1    Abelha Tiúba ( <i>Melipona fasciculata</i> Smith).....	10
3.2    Meliponicultura .....	10
3.3.    Caracterização do mel.....	12
3.4.    Contaminantes do mel.....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1.    Etapas de Campo .....	15
4.2.    Padrões vigentes estabelecido na legislação para análises microbiológicas em mel. 16	
4.3.    Preparo das diluições das amostras.....	17
4.4.    Determinação do Número Mais Provável de Coliformes (NMP) à 35°C e Coliformes à 45°C. ....	17
4.5.    Contagem padrão de Bolores e Leveduras .....	19
4.6.    Contagem padrão em placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas .....	20
4.7.    Análises de <i>Salmonella</i> .....	21
4.8.    Umidade do mel.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
5.1.    Características das amostras .....	24
5.2.    Análises microbiológicas e de umidade .....	24
6. CONCLUSÕES .....	31
REFERÊNCIAS.....	32

## 1. INTRODUÇÃO

Nas Américas o conhecimento sobre as abelhas sem ferrão e a meliponicultura é muito antigo. Antes da chegada da abelha *Apis mellifera* no continente americano, ou da exploração da cana para fabricação de açúcar, o mel das abelhas nativas era utilizado como principal adoçante natural e fonte de energia indispensável em grandes jornadas (VILLAS-BÔAS, 2012).

No trabalho de Andrade e Ribeiro (2014), a abelha que obteve destaque em relação ao desenvolvimento de negócio rural foi a Tiúba devido a sua elevada produtividade de mel que pode chegar a 10 litros por ano, outro bom motivo é que a Tiúba é uma abelha sem ferrão, Segundo Kerr (1996) possui o ferrão atrofiado, assim tornando seu manuseio mais fácil, seguro e barato, pois dispensa o uso de alguns equipamentos de segurança utilizados no manuseio de *Apis mellifera*.

A criação de abelhas nativas na microrregião da Baixada Maranhense é considerada uma atividade tradicional, o que pode ser verificado pelas histórias de muitos dos atuais criadores, que iniciaram a atividade por influência dos pais/avós dos quais herdaram seus primeiros enxames de *Melipona fasciculada* Smith, mais conhecida como Tiúba (ANDRADE; RIBEIRO, 2014). Essa espécie de abelha nativa sem ferrão produz cera, mel e geoprópolis, porém tradicionalmente a meliponicultura tem a produção de mel como principal objetivo.

O mel de abelha é um alimento de alto valor nutricional e de alta aceitação no mercado consumidor, principalmente por ser considerado um produto terapêutico, cuja qualidade e composição físico-química variam notadamente dependendo da flora visitada, das condições climáticas e edafológicas da região onde for produzido, bem como do manejo do criador (RACOWSKI, 2009 apud BARBOSA et al. 2014).

De acordo com Villas-Bôas (2012), para que a qualidade do mel seja mantida, alguns cuidados devem ser tomados como: localização, pois deve-se evitar instalar os meliponários em áreas poluídas, próximas a depósitos de lixo, criadouros de animais, higienização dos materiais utilizados antes do uso e uso de acessórios como toca, luvas e máscaras para a manipulação.

Segundo Franco e Landgraf (2005), as análises microbiológicas de alimentos possuem grande relevância pelo fato de apresentarem informações sobre a possível ocorrência de contaminação de origem fecal, de patógenos e do potencial de deterioração de um alimento.

Não existem padrões microbiológicos para os méis de *Melipona fasciculata* Smith. As normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) só contemplam padrões apenas para méis de *Apis mellifera*, porém vários trabalhos com *Melipona spp.* mostram que a contaminação pode acontecer nesse tipo de mel também. De acordo com Rodrigues et al. (2005) o mel de abelhas nativas apresenta um teor de umidade mais elevada, em torno de 25,25% do que o mel de abelhas africanizadas, gira em torno de 18,76%.

A umidade em mel deve ser levada em consideração, pois os microrganismos precisam de água para se desenvolver e esse teor de umidade elevado encontrado no mel de *Melipona* pode favorecer o aparecimento desses microrganismos, assim destacando a importância da implantação de padrões microbiológicos para esse tipo de mel.

A atual legislação brasileira para o mel (BRASIL, 2000) contempla apenas as características microbiológicas aceitáveis para o produto no que diz respeito aos bolores e leveduras. A mesma não estabelece padrões microbiológicos para bactérias mesófilas, sendo assim, utilizou-se os mesmos padrões para bolores e leveduras, a presença de bactérias mesófilas foi avaliada devido aos riscos que esses microrganismos trazem a saúde humana, pois de acordo com Olaitan, Adeleke e Ola (2007) é possível encontrar no intestino das abelhas bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Bacteridium*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Pseudomonas*.

Porém podem ser encontrados no mel outros tipos de organismos então deve-se tomar como base também os valores de referência estabelecidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001), que contemplam a determinação do NMP de coliformes a 45 °C e a verificação da presença de *Salmonella sp.*

Com o objetivo de investigar a existência de contaminantes microbiológicos existentes no mel, que podem interferir na qualidade higiênico-sanitária do produto e assim alertar a importância de uma normativa para padrões microbiológicos para o mel de meliponíneos a fim de evitar riscos à saúde do consumidor, é que esse trabalho foi realizado, sua importância se torna visível através dos resultados obtidos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica e a umidade do mel produzido pela abelha *Melipona fasciculata* Smith comercializado por meliponicultores nos municípios da Baixada Maranhense.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Coletar e realizar análises microbiológicas em amostras de mel fresco extraído diretamente pelos meliponicultores;
- Determinar a umidade do mel
- Determinar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes à 35°C e coliformes à 45 °C;
- Realizar a Contagem Padrão em placas para Bolores e Leveduras;
- Realizar a Contagem Padrão em placas para Bactérias Mesófilas;
- Verificar a presença ou ausência de *Salmonella* nas amostras de mel;
- Verificar a relação entre a umidade e o possível crescimento de microrganismos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Abelha Tiúba ( *Melipona fasciculata* Smith)

Na ordem Hymenoptera pode-se destacar a superfamília Apoidea, onde se encontram as abelhas sem ferrão. Esta é subdividida em 8 famílias: Apidae, Andrenidae, Megachilidae, Halictidae, Colletidae, Oxaeidae, Melittidae e Anthophoridae. Na superfamília Apoidea pode-se encontrar a família Apidae que se subdivide em quatro subfamílias: Meliponinae, Apinae, Euglossinae e Bombinae. As abelhas da subfamília Meliponinae possuem o ferrão atrofiado e não são capazes de ferroar, por esse motivo são comumente chamadas de "abelhas indígenas sem ferrão". Podem ser encontradas na América do Sul, Ásia, Ilhas do Pacífico, América Central, África, Austrália e Nova Guiné (VILLAS-BÔAS, 2012).

Os Meliponinae se dividem em duas tribos, sendo elas Meliponini e Trigonini (KERR et al., 1996). Os trigoníneos (Trigonini) são um grupo muito diversificado de abelhas sem ferrão, no qual se encontram a maioria dos gêneros existentes. Alguns de seus membros estão presentes em todo o território brasileiro, a exemplo da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*), que produz um mel de alta qualidade.

A *M. fasciculata*, além de ser a abelha social mais comum é uma das principais fontes de renda para as famílias do interior do Maranhão, além de possuir uma grande importância na polinização de diversas espécies nos diferentes ecossistemas locais. Popularmente conhecida como Tiúba, ela vem sendo criada pela população maranhense, sendo utilizados produtos como a cera, o própolis e o mel (KERR et al., 1996).

A abelha Tiúba possui a característica de não coletar fezes (hábito higiênico). Além de ter um mel de ótima qualidade e produzido em boa quantidade, ele é armazenado em potes constituídos quase puramente de cera. Na Baixada, a época de floração vai de julho a dezembro, nesse período ocorre os menores índices de chuvas na região, contudo, essas abelhas têm a maior produção de mel no intervalo de agosto a novembro, (VENTURIERI et al., 2015).

#### 3.2 Meliponicultura

A criação de meliponíneos é uma prática bastante antiga. Há relatos de que esta atividade começou a ser desenvolvida no Egito Antigo, nos primórdios das antigas civilizações (PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008 apud SILVA; PAZ, 2012). Inicialmente, a

Meliponicultura brasileira era praticada pelos índios; com o passar do tempo foi sendo utilizada por pequenos e médios produtores de forma tradicional, sendo considerada uma atividade econômica complementar, auxiliando na renda destes trabalhadores (COLETTI, 2005). No Brasil esta prática é muito comum nos dias atuais, sendo ainda utilizada por povos indígenas e por comunidades tradicionais de várias regiões (ALVES et al., 2007).

Os meliponíneos são abelhas que produzem uma menor quantidade de mel em relação à *Apis*, em especial à *Tiúba*, tornando maior a procura por esse produto em vista da dificuldade de encontrá-lo no comércio. Além do mais, algumas outras espécies de abelhas extraem sua fonte de proteína em organismos mortos, produzindo méis tóxicos e possivelmente prejudiciais à saúde (NOGUEIRA NETO, 1997)

A meliponicultura nas regiões Norte e Nordeste do Brasil é uma atividade bastante difundida. Assim como na apicultura, o mel é o principal produto de valor na exploração (ALVES et al. 2007). No Nordeste destaca-se a criação de espécies de abelhas do gênero *Melipona*. As abelhas deste gênero proporcionam satisfatórias colheitas de mel por apresentarem porte avantajado quando comparado aos outros gêneros de meliponíneos (CORTOPASSI-LAURINDO; MACÊDO, 1998 apud ALVES et al., 2009).

No Maranhão, a criação de abelhas é bastante disseminada, sendo a Baixada Maranhense a região onde se concentra o maior número de criadores e a maior produção de mel de abelhas *Tiúba* e de africanizadas; e a Amazônia Maranhense, a região onde se encontra o maior índice de produção de mel de abelhas *Apis* (SILVA, 2007).

A *Tiúba* apresenta um mel com qualidades diferenciadas dos outros meis, possuindo suavidade, leve acidez, coloração clara, consistência fina e odor pronunciado. Além disso, a proporção da quantidade de água é mais elevada do que o percentual de açúcares em comparação ao mel de *Apis* (CARVALHO et al, 2003).

De acordo com Kerr et al. (1996), o fato da comercialização do mel promover um aumento da renda familiar, servir como fonte de lazer e ter uso nutricional e terapêutico justificam o interesse pelas abelhas sem ferrão. Além disso, esses insetos promovem a polinização, garantindo assim, a perpetuação de uma grande diversidade de plantas exóticas cultivadas e nativas. Por isso, a criação de abelhas também possui grande importância biológica.

Segundo Silva (2007), é essencial que se conheça a flora apícola para a criação racional de abelhas que produzem mel. Sendo essa flora a responsável pela disponibilização dos produtos essenciais para as abelhas produtoras de mel, é necessário ter conhecimento das plantas mais atrativas para cada espécie, podendo assim determinar se a criação racional de

abelhas em uma determinada região será vantajosa, além de reconhecer o período de baixa produção de alimento para que se possa fazer a manutenção do meliponário ou apiário, aumentando assim sua produção (MOREIRA, 1991).

### 3.3. Caracterização do mel

O mel é caracterizado como uma substância açucarada de origem natural, gerado pelas abelhas a partir do néctar ou das secreções provenientes de partes vivas das plantas, onde são misturadas a substâncias digestivas das abelhas sofrendo uma transformação (ALVES et al., 2005). No caso da abelha *Tiúba*, após estes processos, a substância é depositada e armazenada em potes para amadurecer (VILLAS-BÔAS, 2012).

A localização geográfica, origem floral, temperatura, umidade, solo, estação do ano e grau de maturação da colmeia influenciam diretamente na quantidade de água presente no mel. Em comparação com o mel de *Apis*, o mel de *M. fasciculata* contém maior percentual de umidade, sendo mais fluido e menos viscoso (GONZÁLEZ, 2002; CARVALHO et al., 2003).

Os açúcares possuem um importante papel na conservação do mel, tendo participação no estabelecimento de várias características, como a pressão osmótica, que por exemplo, barra o desenvolvimento de alguns microrganismos; além de estarem relacionados com o teor de acidez e cristalização do mel (MOREIRA; DE MARIA, 2001).

Conforme González (2002), variadas condições possuem influência na cor que o mel irá apresentar, como a composição físico-química e origem floral, características ambientais e climatológicas, maturação e presença de pigmentos. Sua cor pode variar de branco a próximo de preto, sendo que os mais claros geralmente são vendidos para consumo direto e os mais escuros são frequentemente utilizados pelas indústrias. Os mais claros possuem um maior valor no mercado mundial (CRANE, 1985).

De acordo com o Regulamento Técnico MERCOSUL para identidade e qualidade do mel (BRASIL, 1994), a classificação pode ser dada de quatro formas: por sua origem botânica (mel de flores, mel de melada), pelo procedimento de obtenção (escorrido, prensado, centrifugado ou filtrado), de acordo com sua apresentação (mel, mel em favos, com pedaços de favo, cristalizado ou cremoso) e segundo seu destino (consumo direto e uso industrial).

O mel é uma substância de grande importância e interesse, pois é um produto utilizado para variados fins. Além de sua qualidade como alimento, são concedidas ao mel várias propriedades medicinais. Ele pode ser usado como ingrediente em rações, remédios, cosméticos, entre outros. Apresenta propriedade antibiótica e pode ser útil no tratamento de

lesões na pele e queimaduras. Contudo, pode representar também um veículo para agentes microbianos, em especial bactérias e leveduras (GOMES, 2006).

Desde os tempos mais antigos essa substância vem sendo utilizada no tratamento de microrganismos, mesmo antes de se conhecer que as bactérias poderiam ser causadoras de infecções (AMÉNDOLA, 2003). Foram encontradas em antigos documentos romanos, gregos, egípcios de 10.000 anos atrás, em textos sumérios e até mesmo na Bíblia e no Alcorão citações sobre o uso do mel no tratamento de feridas e queimaduras (HENRIQUES, 2004).

Pode-se perceber que naquele período já tinham conhecimentos sobre os benefícios desse produto no tratamento de edemas e infecções, (AMÉNDOLA, 2003). No século XX, com a descoberta dos antibióticos, a utilização do mel como medicamento permaneceu somente na cultura de algumas comunidades passando a ser realizada pela medicina tradicional, (HENRIQUES, 2004).

### **3.4. Contaminantes do mel**

A presença de contaminantes no mel pode ser resultante de fatores ambientais ou das atividades apícolas, ou seja, de resíduos originários dos materiais da colmeia, de produtos de tratamento das doenças das abelhas, de contaminação na cera, dos instrumentos usados na obtenção de mel e da madeira utilizada na fabricação das colmeias (KUJAWSKI; NAMIÉSNIK, 2008).

A segurança higiênico-sanitária do mel está diretamente relacionada às características microbiológicas deste alimento. Os fungos filamentosos, as leveduras e bactérias formadoras de esporos são os microrganismos de importância primária, pois através da produção de toxinas, enzimas, pela conversão metabólica do alimento, bem como pela produção de fatores de inibição de microrganismos competidores e fatores do crescimento, causam a deterioração do produto (GOERZEN, 1991).

O próprio trato digestório das abelhas melíferas, o pólen, o néctar, a poeira, o ar e o solo são considerados fontes primárias de contaminação do mel e possuem difícil controle, diferente das fontes consideradas secundárias (exposição ao ar durante a extração de mel, infecções de pele, contaminação fecal, espirros e equipamentos sem uma devida esterilização), que podem ser evitadas através de uma boa manipulação. Tetos e paredes podem, também, ser depósitos de microrganismos que contaminam o alimento, (SNOWDON; CLIVER, 1996).

Os microrganismos com maior importância na indicação de qualidade dos alimentos são as bactérias mesófilas e os coliformes, pois de acordo com suas taxas de crescimento pode se determinar a higiene com que o produto foi manipulado e conservado (FRANCO; LANDRAF, 2005).

O controle higiênico-sanitário e o conteúdo nutricional dos alimentos são fatores de grande importância quando se trata de alimentação e saúde. Indivíduos que possuem baixa imunidade estão mais suscetíveis a doenças, principalmente as doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (SILVA JR, 2007).

Para Siqueira et al. (2006), a ingestão de um alimento que possua uma quantidade de toxina microbiana ou um elevado número de microrganismos patogênicos provoca danos à saúde humana.

Os padrões microbiológicos de qualidade para o mel exigem que *Salmonella spp* e *Shigella spp* estejam ausentes em 25g de dez amostras de um mesmo lote. Estabelecem também a ausência de coliformes totais/g em cinco amostras analisadas de um lote e presença de no máximo 100 UFC/g de bolores e leveduras em duas amostras de cinco examinadas de um mesmo lote (BRASIL, 2000).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado no trabalho amostras de mel de *Melipona fasciculata* oriundos dos municípios de Pinheiro, São Bento, Peri-Mirim, Palmeirândia, Bequimão, Viana e Anajatuba, localizados na Baixada Maranhense (tabela 1). Não foi possível a homogeneização da quantidade de amostras de cada município devido a fatores como: poucos produtores na região, saída de alguns produtores do projeto e falta de mel em algumas propriedades devido a fatores externos.

**Tabela 1.** Identificação e localidade das amostras de mel utilizadas no trabalho.

Município	Numero de produtores	Numero de amostras
Pinheiro	2	6
São Bento	3	15
Perimirim	5	11
Palmeirândia	1	3
Bequimão	1	2
Viana	4	7
Anajatuba	1	6

Fonte: Elaborada pelo autor

##### 4.1. Etapas de Campo

Para a extração do mel de Tiúba, foram coletadas amostras mensais, estas realizadas diretamente pelo produtor em meliponários oriundos de suas próprias criações nos municípios da Baixada Maranhens perfazendo um total de 50 amostras.

Foram entregues kits (figura 1) aos produtores contendo tubos falcon estéreis, luvas, seringa, dispositivos para alongamento da seringa e etiquetas para identificação. O objetivo dos kits foi reduzir possíveis contaminações no acondicionamento do mel. Além disso, os produtores foram orientados a cerca de como deveriam efetuar a coleta desse mel.

As amostras foram acondicionadas em tubos falcon estéreis, em alíquotas de 50 mL e armazenadas a temperatura de 25 °c ±2 em uma sala com temperatura controlada sem exposição a luz direta no Laboratório de Genética e Biologia Molecular – LabWick (UEMA), s e analisadas no Laboratório de Microbiologia de alimentos (UEMA).

**Figura 1-** Kit com material estéril enviado aos produtores



**Fonte:** arquivo pessoal

#### **4.2. Padrões vigentes estabelecido na legislação para análises microbiológicas em mel**

A metodologia adotada foi recomendada no Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (BRASIL, 2001).

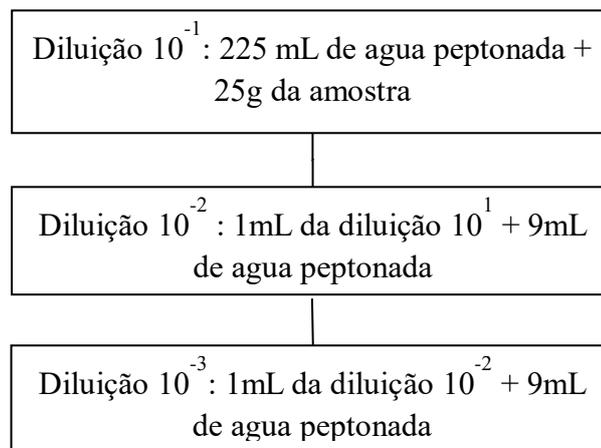
Foram realizadas segundo a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, que estabelece o regulamento para análises do mel de *Apis mellifera* o valor aceitável de  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL, para Bolores e Leveduras e ausência de *Salmonella* e valor  $<3,0$  NMP/g) para Coliformes à 35 °C e Coliformes à 45 °C (BRASIL, 2000).

A análise de bactérias aeróbias mesófilas não é estabelecida para o mel, contudo foi utilizada para avaliar a qualidade higiênico-sanitária na manipulação do mel complementando a análise de coliformes, e considerando o valor aceitável de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g.

#### 4.3. Preparo das diluições das amostras

De cada amostra foi retirada uma alíquota de 25 g e dosadas em provetas esterilizadas, que posteriormente foi diluída 225 mL de água peptonada. A diluição obtida correspondeu à diluição  $10^{-1}$ , e a partir da qual foram obtidas as demais diluições decimais  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  de acordo com a Figura 2.

**Figura 2-** Preparo das diluições seriadas.



**Fonte:** arquivo pessoal

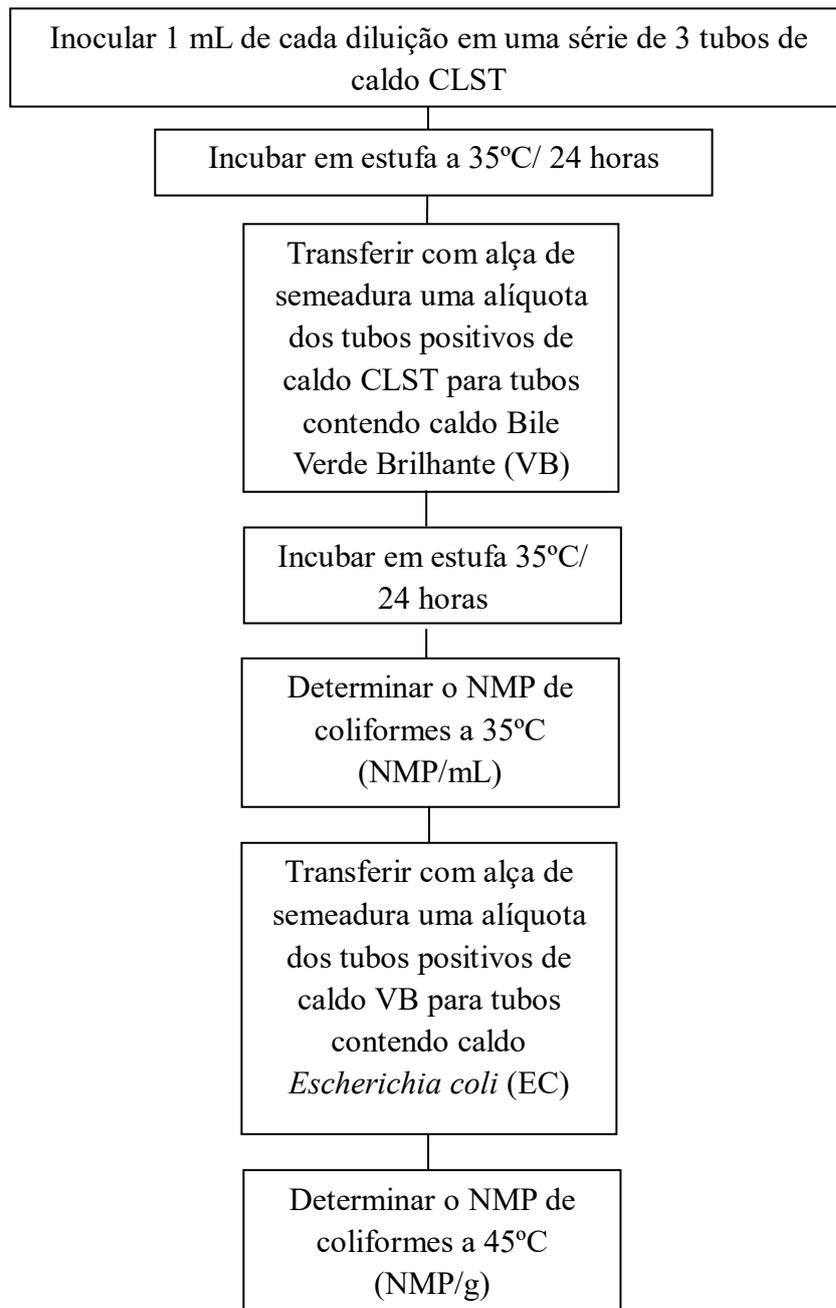
#### 4.4. Determinação do Número Mais Provável de Coliformes (NMP) à 35°C e Coliformes à 45°C.

A análise de NMP para coliformes se dividem em algumas em duas fases sendo a primeira presuntiva e as outras seletivas como pode ser visto na Figura 3. Para a fase presuntiva foi inoculado 1 mL de cada diluição selecionada para séries de três tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Tryptose (CLST). Utilizou-se as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  para todas as amostras e foram incubadas em estufa à  $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  por 48 horas. A leitura foi realizada, considerando positivo o tubo que apresentou turvação e gás no interior resultante de fermentação, em seguida foi realizado o teste para coliformes a 35°C onde foi transferida com alça de semeadura uma alíquota dos tubos positivos no caldo CLST para tubos contendo caldo Bile Verde Brillante com tubos de fermentação. Os tubos foram incubados por 48 h em estufa a  $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .

Foram considerados positivos os tubos que apresentaram gás nos tubos de fermentação, quando confirmada a presença de coliformes a 35 °C foi verificada a existência

de coliformes a 45 °C. Com alça de sementeira, transferiu-se alíquotas para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de fermentação. Foram incubados os tubos a 44,5 °C  $\pm$ 2 °C, em banho-maria, por 24 h. Considerou-se positivo os tubos que apresentarem gás no caldo EC. Os resultados foram analisados com auxílio da tabela de Hoskins, onde interpretou-se o Número Mais Provável (NMP) de Coliformes à 35 °C e a 45 °C por grama (NMP/mL).

**Figura 3-** Metodologia para análise microbiológica de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C.



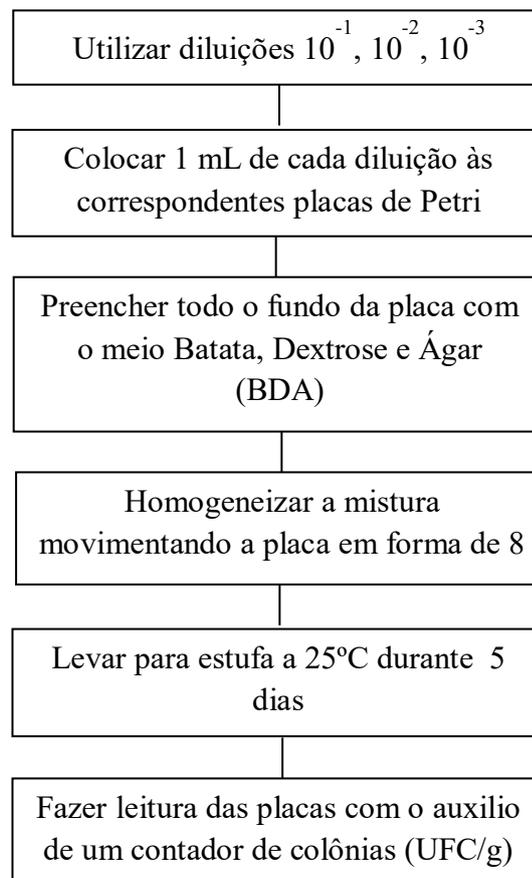
**Fonte:** arquivo pessoal

#### 4.5. Contagem padrão de Bolores e Leveduras

Na figura 4 pode ser visto a esquematização passo a passo de como foram realizadas as análises para bolores e leveduras, foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade (*pour plate*). Transferiu-se 1 mL das diluições selecionadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) para placas de Petri, em duplicata, contendo o meio Batata Dextrose Ágar (BDA). As placas foram incubadas por cinco dias em estufa BOD ( $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Para a contagem, foram selecionadas placas que continham um número de colônias encontrado dentro do intervalo de precisão e repetitividade estabelecido pelo método em uso, entre 30 a 300 colônias. As colônias foram quantificadas com o auxílio de contador de colônias. Os cálculos do número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama das amostras, multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada ( $\text{UFC/mL} = \text{N}^{\circ} \text{colônias/diluição}$ ) sendo o resultado dado em estimativa.

**Figura 4-** Metodologia para análise microbiológica de bolores e leveduras.



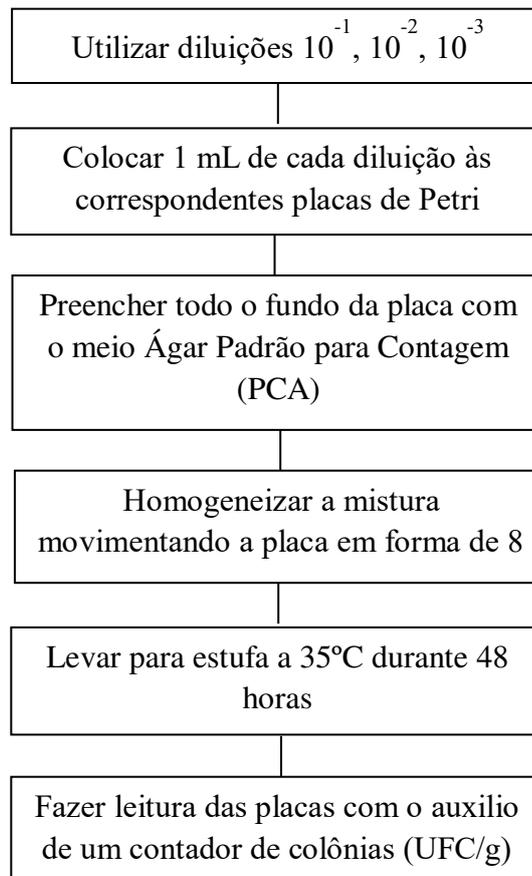
**Fonte:** arquivo pessoal

#### 4.6. Contagem padrão em placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas

Na figura 5 pode ser vista a esquematização passo a passo de como foram realizadas as análises para bactérias mesófilas. A técnica utilizada foi a de semeadura em profundidade. Assim transferiu-se 1 mL das diluições selecionadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) para placas de petri, em duplicata, contendo o meio Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas em estufa à  $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e após este período foram selecionadas para contagem.

Para a contagem, foram selecionadas placas que continham um número de colônias encontrado dentro do intervalo de precisão e repetitividade estabelecido pelo método em uso, entre 30 a 300 colônias. As colônias foram contadas com o auxílio de contador de colônias. Os cálculos do número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama das amostras, multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada ( $\text{UFC/mL} = \text{N}^{\circ} \text{colônias/diluição}$ ) sendo o resultado dado em estimativa.

**Figura 5-** Metodologia para análise microbiológica de bactérias mesófilas



**Fonte:** arquivo pessoal

#### 4.7. Análises de *Salmonella*

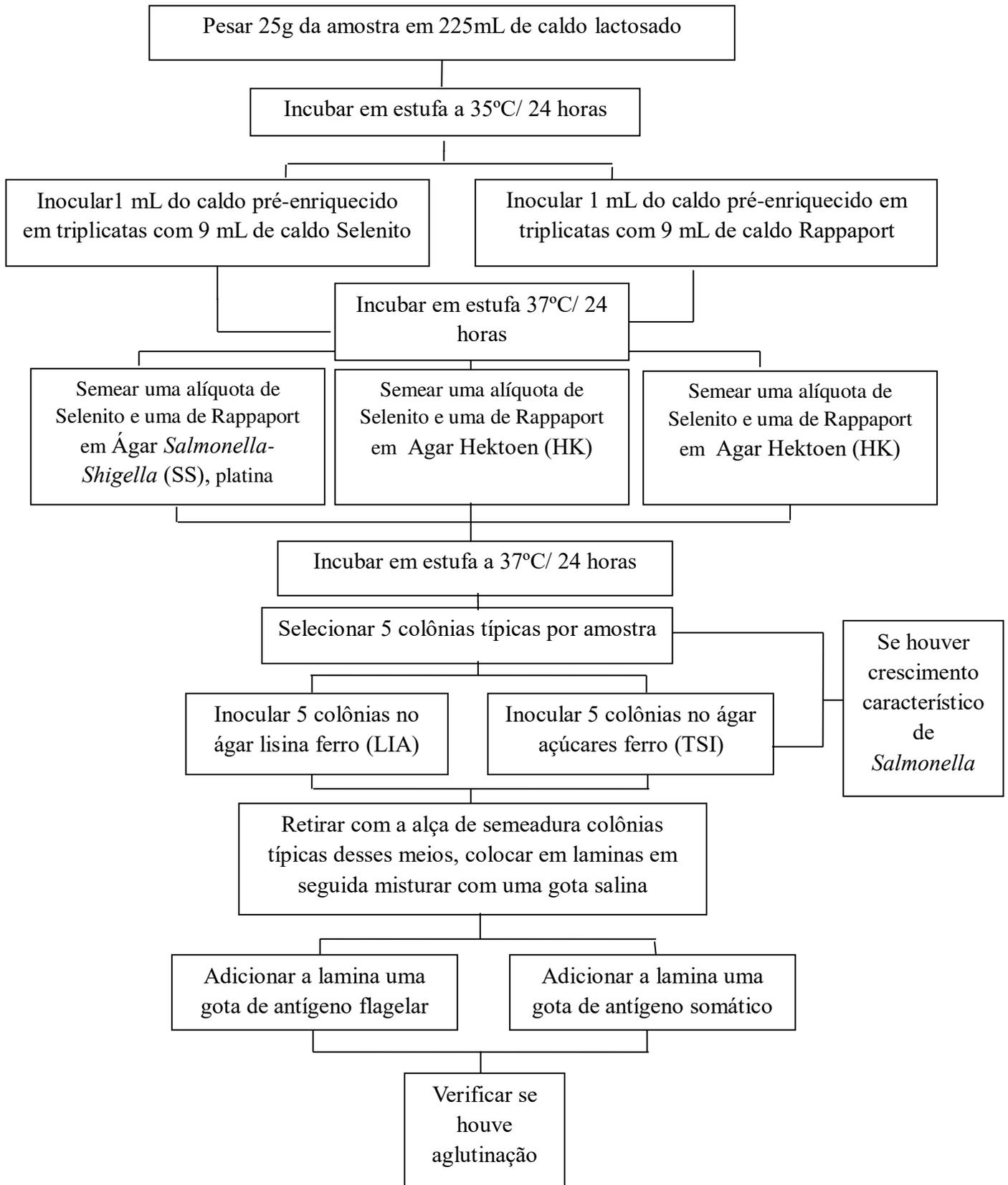
A análise de *Salmonella* se divide em várias fases como pode ser visto na Figura 6, sendo, a primeira fase presuntiva. Para realização da análise a diluição  $10^{-1}$  foi incubada a  $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  por 24 h, após esse período foi feito o enriquecimento onde adicionou-se em triplicatas, 1 mL do caldo pré-enriquecido em 9 mL de caldo Selenito e 1 mL do caldo pré-enriquecido em 9 mL de caldo Rappaport, incubando-os por 24 horas a  $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .

Após as 24 h, foi realizado o plaqueamento diferencial em meio seletivo indicador a partir do crescimento dos caldos Selenito e Rappaport. Esta se deu em placas de Ágar *Salmonella-Shigella* (SS), Ágar Hektoen (HK) e Ágar Xilose-Lisina-Dedoxicolato (XLD), que foram incubadas por 24 h a  $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  e, em seguida observada quanto a presença e as características das colônias.

Para constatar a presença da *Salmonella* nos meios Selenito e Rappaport observou-se a mudança de coloração, pois no Selenito o meio fica vermelho-alaranjado e no Rappaport fica verde-azulado, já no meio ágar SS as colônias são opacas ou translúcidas/incolores podendo ter centro negro, no meio ágar Hektoen as colônias são incolores e o meio fica azul e no meio ágar XLD as colônias são alaranjadas, ligeiramente opacas ou da cor do meio de cultura.

A partir do crescimento nas placas foram realizadas as provas bioquímicas, semeando 3 a 5 colônias típicas em tubos inclinados contendo os meios Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Agar Lisina Ferro (LIA). os tubos por 24 horas a  $37\text{ °C}$  e foi observado as características das colônias, já que em Agar TSI o meio ficou amarelo no fundo com ou sem produção de  $\text{H}_2\text{S}$  e a superfície de cor vermelha e colônias incolores, e no meio Agar LS o meio ficou com a superfície e o fundo de cor violeta, sem alteração da cor do meio, com ou sem produção de  $\text{H}_2\text{S}$ .

Após detectada a presença do microrganismo foram realizadas provas sorológicas com antígeno somático e flagelar. A partir do crescimento em TSI e LIA foi retirado com a alça de semeadura colônias típicas desses meios, e então em lâmina, misturou-se a colônia com uma gota de salina e adicionado uma gota de cada antígeno. A reação positiva foi aquela onde ocorreu aglutinação.

**Figura 6-** Metodologia da análise microbiológica de *Salmonella sp.*

Fonte: arquivo pessoal

#### **4.8. Umidade do mel**

Para a umidade utilizou-se a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), que consiste em obter os índices refratométricos, por meio de um refratômetro de Abbé termostaticado a 20 °C, e convertê-los em índices de umidade conforme equivalência da tabela de Chataway, que também fornece os valores de sólidos solúveis (°Brix).

Realizou-se no trabalho o teste do Qui-quadrado para independência em nível de 5% para comparar as coletas realizadas pela equipe do projeto e as coletas realizadas pelos meliponicultores. Também foi empregado o teste de correlação de Spearman para verificar a relação existente entre o teor de água e a contagem de bactérias aeróbias mesófilas. As análises foram realizadas através do software BioEstat 5.3, os demais dados estão apresentados em porcentagens de amostras adequadas para consumo por cada local estudado.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Características das amostras

Amostras adquiridas estavam armazenadas em tubos falcon de 50 mL, identificados com nome do produtor, município e data da coleta . Em algumas amostras notou-se a presença de sujeiras, espuma e/ou cristalização. Todas as análises foram realizadas no Laboratório Warwick Estevam Kerr – LABWICK (UEMA). A tabela 2 mostra as principais características apresentadas pelas amostras analisadas.

**Tabela 2** – Principais características das amostras de mel de *M. fasciculata* Smith coletadas na Baixada Maranhense.

Característica	Número de amostras
Sujeira (corpo estranho no tubo)	2 amostras
Cristalização	11 amostras
Espuma	8 amostras
Normal	29 amostras

### 5.2. Análises microbiológicas e de umidade

Como apresentado na tabela 3, verifica-se nas análises de coliformes a 35 °C e coliforme a 45 °C, que as amostras estão 100% em conformidade com a legislação nacional, legislação para mel de *Apis* (Instrução Normativa N° 11, de 20 de outubro de 2000). Também não foram observadas colônias de bolores e leveduras acima do limite máximo estabelecido, de  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL nas amostras. Os mesmos resultados foram relatados por Holanda et al. (2015), com amostras de mel de Tiúba coletadas no cerrado maranhense que também não observaram a presença de coliformes, bolores e leveduras acima do limite máximo. A ausência de coliformes também identifica boa localização dos meliponários, pois de acordo com Oliveira et al. (2005), a contaminação do mel de tiúba pode ocorrer caso os meliponários estejam muito próximos a galinheiros, chiqueiros e córregos.

Contudo Matos et al. (2011), trabalhando com mel de *Melipona sp.* na Amazônia Central verificaram que um terço das amostras apresentava contagem de coliformes acima do permitido, e duas das quinze amostras estudadas, contagem elevada de bolores e leveduras.

Mesmo que haja contagem padrão muito elevada de bolores e leveduras no mel sabe-se que sua ocorrência é natural no produto, principalmente em colmeias de meliponíneos em que a presença de bolores e leveduras é comum nos potes de pólen, desempenhando função de produzir enzimas que degradam macromoléculas proteicas permitindo assim a assimilação pelas abelhas (NOGUEIRA-NETO, 1997). Todavia muitos dos fungos encontrados no mel, principalmente os esporulados causam sérios danos à saúde podendo até provocar a morte do consumidor (ALVES et al., 2009).

Os resultados das análises de bactérias aeróbias mesófilas mostraram que 16% do total das amostras ultrapassaram o limite máximo de  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL, variando de 1,41 a  $5,6 \times 10^2$  UFC/mL (Tabela 4), sendo assim consideradas impróprias ao consumo humano. Apenas as cidades de Palmeirândia e Bequimão não apresentaram amostras contaminadas por bactérias aeróbias mesófilas (Tabela 3). As amostras da cidade de Anajatuba foram aquelas que apresentaram menor porcentagem de amostras adequadas, com 33,33% de amostras contaminadas por este grupo de microrganismos, seguido por Viana com 28,57% (Tabela 3). A preocupação em relação a este grupo de microrganismos se deve ao fato dos mesmos indicarem deficiências na sanitização ou falha de processamento (SILVA et al., 2010), além de fornecer informações sobre a alteração incipiente dos alimentos, sua provável vida útil, a falta de controle no descongelamento dos alimentos ou desvios na temperatura de refrigeração (SILVA, 2002).

**Tabela 3-** Porcentagem de amostras livres de contaminação, Coliformes a 35 e 45°C, Bolores e Leveduras e Bactérias Aeróbias Mesófilas em diferentes localidades da Baixada Maranhense.

Local	Coliformes a 35°C (%)	Coliformes a 45°C (%)	Bolores e Leveduras (%)	Bactérias Aeróbias Mesófilas (%)
Pinheiro	100	AUS	100	83.33
São Bento	100	AUS	100	86.67
Peri-Mirim	100	AUS	100	90.91
Palmeirândia	100	AUS	100	100
Bequimão	100	AUS	100	100
Viana	100	AUS	100	71.43
Anajatuba	100	AUS	100	66.67

AUS - Ausente.

**Fonte:** Elaborada pelo autor a partir de dados originais da pesquisa

Em relação à análise de *Salmonella* sp., foi possível observar que em 47 amostras (94%), a primeira leitura apontou para resultados positivos nos meios de crescimento Selenito e Rapaport, contudo após o crescimento nos meios ágar SS, ágar XLD e ágar Hektoen, a leitura apontou para resultados negativos em relação à presença de *Salmonella* sp. nas amostras. Contudo o fato de 94% das amostras terem tido resultados positivos na fase presuntiva indica que existem outros microrganismos presentes mas estes não são *Salmonella* spp. . Dickel et al. (2005), relata que métodos como ELISA e PCR apresentam maior eficiência na detecção de *Salmonella* sp. do que métodos convencionais.

A RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 exige que a *Salmonella* spp. esteja ausente em 25g de mel pois esta bactéria. é um dos principais causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (RODRIGUES, 2016). A salmonelose, doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, é uma das zoonoses que trazem transtorno a saúde pública mundial devido à capacidade de causar toxi-infecção alimentar podendo levar o indivíduo ao óbito (FILHO; et. al. 2014). É a doença mais preocupante entre DTAs, para a saúde pública em todo o mundo, pelas suas características endêmicas e pelo seu controle depender muito da ação humana, visto que o homem pode ser disseminador dessa bactéria.

**Tabela 4-** Resultados das análises microbiológicas.

<b>Amostras</b>	<b>Bol. e lev. (UFC/mL)</b>	<b>Bact. aer. Mes. (UFC/mL)</b>	<b>Col. a 35°C (NMP/mL)</b>	<b><i>Salmonella</i> spp.</b>
AM01	<30	<30	<30	AUS
AM02	<30	<30	<30	AUS
AM03	<30	<30	<30	AUS
AM04	<30	<30	<30	AUS
AM05	<30	<30	<30	AUS
AM06	<30	<30	<30	AUS
AM07	<30	<30	<30	AUS
AM08	<30	2,47 x 10 <sup>5</sup>	<30	AUS
AM09	<30	<30	<30	AUS
AM10	<30	<30	<30	AUS
AM11	<30	<30	<30	AUS
AM12	<30	<30	<30	AUS
AM13	<30	<30	<30	AUS
AM14	<30	<30	<30	AUS

AM15	<30	<30	<30	AUS
AM16	<30	<30	<30	AUS
AM17	<30	<30	<30	AUS
AM18	<30	<30	<30	AUS
AM19	<30	<30	<30	AUS
AM20	<30	<30	<30	AUS
AM21	<30	<30	<30	AUS
AM22	<30	<30	<30	AUS
AM23	<30	<30	<30	AUS
AM24	<30	<30	<30	AUS
AM25	<30	$1,99 \times 10^3$	<30	AUS
AM26	<30	<30	<30	AUS
AM27	<30	<30	<30	AUS
AM28	<30	<30	<30	AUS
AM29	<30	<30	<30	AUS
AM30	<30	$5,6 \times 10^4$	<30	AUS
AM31	<30	<30	<30	AUS
AM32	<30	<30	<30	AUS
AM33	<30	<30	<30	AUS
AM34	<30	<30	<30	AUS
AM35	<30	<30	<30	AUS
AM36	<30	$3,02 \times 10^5$	<30	AUS
AM37	<30	$3,65 \times 10^5$	<30	AUS
AM38	<30	<30	<30	AUS
AM39	<30	$1,64 \times 10^5$	<30	AUS
AM40	<30	<30	<30	AUS
AM41	<30	<30	<30	AUS
AM42	<30	<30	<30	AUS
AM43	<30	<30	<30	AUS
AM44	<30	$1,53 \times 10^3$	<30	AUS
AM45	<30	$1,41 \times 10^3$	<30	AUS
AM46	<30	<30	<30	AUS
AM47	<30	<30	<30	AUS

AM48	<30	<30	<30	AUS
AM49	<30	<30	<30	AUS
AM50	<30	<30	<30	AUS

AUS- Ausente.

**Fonte:** Elaborada pelo autor a partir de dados originais da pesquisa

A umidade variou de 19 a 21,43% nas amostras como mostra a tabela 5. Segundo a legislação vigente a umidade não deve ser inferior a 16,8% e nem superior a 20%, logo apenas 15% das amostras se encontra dentro do intervalo adequado. Contudo quando comparado com a proposta Camargo et al. (2017), para regulamentação do mel de meliponíneos, que propõe até 40g/100g de umidade, ou 40% de umidade em mel *in natura*, os méis se encontram dentro do aceitável.

**Tabela 5-** Resultado das análises de umidade e sólidos solúveis

Amostras	Umidade (%)	°Brix (%)
AM01	19,43	73,09
AM02	21,20	79,75
AM03	21,18	79,67
AM04	19,82	74,57
AM05	19,00	71,48
AM06	20,01	75,27
AM07	21,14	79,53
AM08	21,43	80,62
AM09	21,18	79,67
AM10	21,34	80,29
AM11	20,22	76,05
AM12	21,14	79,53
AM13	20,22	76,05
AM14	21,03	79,10
AM15	21,35	80,32
AM16	19,88	74,79
AM17	21,21	79,77
AM18	20,18	75,93
AM19	20,35	76,55
AM20	20,51	77,15
AM21	21,21	79,77
AM22	19,88	74,79
AM23	21,20	79,75
AM24	21,18	79,67
AM25	21,37	80,39
AM26	19,70	74,10
AM27	21,03	79,10
AM28	20,86	78,47

AM29	20,80	78,26
AM30	20,37	76,62
AM31	20,51	77,15
AM32	20,80	20,80
AM33	21,21	79,77
AM34	21,21	79,77
AM35	21,18	79,67
AM36	21,21	79,77
AM37	20,86	78,47
AM38	21,09	79,34
AM39	21,21	79,77
AM40	20,64	77,63
AM41	*	*
AM42	*	*
AM43	*	*
AM44	*	*
AM45	*	*
AM46	*	*
AM47	*	*
AM48	*	*
AM49	*	*
AM50	*	*

---

**Fonte:** Elaborada pelo autor a partir de dados originais da pesquisa

A umidade é um fator de extrema importância nos alimentos por se relacionar com a estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar as características do produto como estocagem, embalagem, processamento, sendo também o principal fator para os processos microbiológicos, como o desenvolvimento de fungos, leveduras, bactérias e para o desenvolvimento de insetos (PARK; ANTÔNIO, 2006). O teor de sólidos solúveis oscilou entre 70 a 80,62% (Tabela 3), com valor médio de 79,10%, resultado maior que o encontrado para *Melipona scutellaris* (72%) por Campos et al. (2010), contudo bem próximo ao de *Apis mellifera* (OLIVEIRA et al., 2015). A análise dos sólidos solúveis (°Brix) tem grande importância para a agroindústria, no controle de qualidade do produto final, controle de processos, de ingredientes e outros como: melaço, álcool, açúcar, licores e bebidas em geral (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

O teste de correlação de Sperman, obtido foi  $r_s = 0.2974$  ( $p\text{-value}=0.0623$ ), mostrando não existir uma relação entre o teor de água e bactérias aeróbias mesófilas. o mesmo resultado foi verificado pelo de trabalho de Sousa et al., (2009), analisando méis de trigoníneos, corroborando o fato da quantificação destes microrganismos no mel representarem dados pontuais sobre sua quantidade e não o seu crescimento no meio. Quando comparadas as formas de coleta do mel de *Melipona fasciculata* na região Baixada Maranhense o teste do

Qui-quadrado para independência foi de  $\chi^2 = 2.102$ , ( $p > 0,05$ ) mostrando não existir associação entre as variáveis coletas. O teste ainda mostra que a utilização dos kits estéreis não influenciou a microbiota analisada, demonstrando boas práticas por parte dos meliponicultores na extração e na manipulação do mel.

## 6. CONCLUSÕES

As análises microbiológicas dos méis da microrregião da Baixada Maranhense mostraram que a maior parte do mel coletado se encontra livre de contaminação, com exceção de 8 das 50 amostras que apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas acima do recomendado. Já em relação a Presença de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, *salmonella spp.* e bolores e leveduras, foi possível verificar que 100% das amostras encontram-se dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa N° 11, de 20 de outubro de 2000

Não se verificou uma relação entre o teor de água nas amostras e a contagem de bactérias mesófilas. Também foi possível observar que as coletas se comportam de forma independente, demonstrando que a extração e manipulação do mel ocorrem obedecendo as boas práticas higiênicas.

Ficou ainda perceptível no trabalho como a legislação brasileira é omissa e inespecífica em relação aos quantitativos toleráveis para qualidade microbiológica do mel de abelhas, principalmente no diz respeito ao mel de abelhas nativas.

## REFERÊNCIAS

- AMÉNDOLA, G. F.; ILHA, M.; BERGER, R.; STEDILE, R.; SCHOSSLER, J. E. Correção de defeito ósseo femural em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel, *Acta Cirúrgica Brasileira*, Santa Maria, RS, v.18, n.4, p. 302- 307, 2003.
- ANDRADE, A. A. S.; RIBEIRO, J. C. Sebrae-MA(Org.). **CENÁRIO ATUAL DA MELIPONICULTURA E APICULTURA EM MUNICÍPIOS DA BAIXADA MARANHENSE.: PROJETO: OBSERVATÓRIO – ESTUDOS E PESQUISAS.** 2014. Disponível em: <http://docplayer.com.br/42012072-Cenario-atual-da-meliponicultura-e-apicultura-em-municipios-da-baixada-maranhense.html>. Acesso em: 18 de outubro. 2019.
- ALVES, R. M. O.; SODRÉ, G. S.; SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; FONSECA, A. A. O. Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. *Mensagem Doce*,v. 91: 2-8. 2007.
- ALVES, R. M. O; CARVALHO, C. A. L; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. **Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae).** 2005.
- ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; ANDADE, J. P. Substratos vegetais utilizados pela abelha uruçú (*Melipona scutellaris*) no litoral norte do Estado da Bahia. *Mensagem Doce*, v. 100: 44-45, 2009.
- BARBOSA, L. S.; MACEDO, J. L.; SILVA, M. R. F.; MACHADO, A.V. Estudo Bioquímico de Qualidade do Mel de Abelha Comercializado no Município de Caraúbas – RN. *Revista Verde*, v. 9, n. 2, p. 45-51, 2014.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico MERCOSUL de identidade e qualidade do mel. Resolução n° 15 de 1994.** Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC\\_reS\\_1994-015.pdf](http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC_reS_1994-015.pdf). Acesso em: 19 de novembro de 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 12**, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b) . Acesso em: 17 de agosto de 2019.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). Qualidade dos Produtos - **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, Instrução Normativa n°11, de 20 de outubro de 2000. Diário oficial da união de 20 de outubro de 2000**, seção 1, p. 16-17.
- CAMARGO, R. C. R.; OLIVEIRA, K. L.; BERTO, M. I.; Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. *Brazilian Journal Food Technology*. 2017, v. 20.

CAMPOS, F. S.; GOIS, G.C.; CARNEIRO, G. G. Parâmetros físico-químicos do mel de abelhas *Melipona scutellaris* produzido no Estado da Paraíba. **FAZU em Revista**, Uberaba, n.7, p. 186 - 190, 2010.

CARVALHO, C. A. L; ALVES, R. M. O; SOUZA, B. A. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Salvador, 2003. 42p. (Série Meliponicultura).

COLETTI, S. A. **Implicações na implantação da meliponicultura e etnobiologia de abelhas sem ferrão em três comunidades indígenas no estado do Amazonas**. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Entomologia, Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM). 2005.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2 ed. São Paulo, 1985. 226p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras, 1990. 783p

DICKEL, E. L.; Rodrigues, L. B.; SANTOS, L. R.; VALLE S. F.; PILOTTO, F.; RODEMBUSH, C.; WALD, V. B.; CANAL, C. W.; NASCIMENTO, V. P. Análise comparativa entre microbiologia convencional, ELISA e PCR para detecção de *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum* e *S. pullorum* em carne de frango contaminada artificialmente. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 12, n. 1/3, p. 5-10, 2005.  
FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182p.

FILHO, V. J. R. G.; et. al. Investigation of *Salmonella* spp. in backyard chickens (*Gallus gallus domesticus*) and eggs sold in free markets in the city of Fortaleza, Ceará. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 1855-1864, 2014.

GOERZEN, D. W. Microflora associated with the alfalfa leafcutting bee, *Egachile rotundata* (Fab) (Hymenoptera: Megachilidae) in Saskatchewan, Canada. **Apidologie**, v.22, p.553-561, 1991.

GOMES, L. P. **Contaminação bacteriana em amostras de méis de *Apis mellifera* L. comercializados no Estado do Rio de Janeiro**. 2006. 46f, Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária)–Departamento de Microbiologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

GONZÁLEZ, M. M. El origen, la calidad y la frescura de una miel: la interpretación de un análisis. In.: LORENZO, C. **La miel de Madrid**. Madrid: Madridinnova, 2002. p. 27-45.  
HENRIQUES, A., **Mel: um milagre da natureza para o tratamento de feridas**. School of applied Sciences, University of Wales Institute; Wales - Cardiff, UK, 2004.

HOLANDA C. A.; BRANDÃO, C. M.; SOUZA, J. L.; RIBEIRO, M. N. S.; ALVES L. M. C.; COSTA, M. C. P. Qualidade e estimativa do tempo de consumo do Mel de Tiúba

(*Melipona fasciculata* Smith) produzido na região do cerrado maranhense. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 53 – 64, 2015.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A.; BEGO, L. R.; ALVES, R. M. O.; MARTINS, M. A. S.; SOUZA, I. C. **Abelha urucu**: biologia, manejo e conservação. Fund. Belo Horizonte, Ed. Acangaú. 1996.

KUJAWSKI, M. W.; NAMIÉSNIK, J. Challenges in preparing honey samples for chromatographic determination of contaminants and trace residues, **Trends in Analytical Chemistry**, Vol.27, n. 9, 785-793, 2008.

MOREIRA, A. S. **Apicultura**. Campinas. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1991. 52 p. (Boletim Técnico, 2002).

MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C.A.B. Glicídios no mel. **Revista Química Nova**, v.24, n.4, p.516-525, 2001.

MATOS, I. T. S. R.; NUNES, M. T.; MOTA, D. A.; LAUREANO, M.M.M.; HOSHIBA, M. A. Qualidade microbiológica do mel de *Melipona* sp. produzido na Amazônia Central (Parintins – AM – Brasil). **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.4, p.91 – 95 outubro/dezembro de 2011.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. –São Paulo: Nogueirapis, 1997, 445p.

OLAITAN, P.B.; ADELEKE, O.E.; OLA, I.O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **African Health Sciences**, v.7, n.3, p. 159-165, 2007.

OLIVEIRA, E. G.; NASCIMENTO, A. R.; COSTA, M. C. P.; MONTEIRO NETO, V. Qualidade microbiológica do mel tíuba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith) produzido no Estado do Maranhão. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 133, p. 92 – 99, 2005.

OLIVEIRA, M. E. J.; VIEIRA, R. P.; GHERARDI, S. E. M. Qualidade de mel produzido sob a influência do agronegócio convencional e agroecológico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. 2015, Campina Grande. v.17, n.4, p.433-439.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C. **Análises de materiais biológicos**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola. 2006, 21 p.

RODRIGUES, A. E. SILVA E. M. S.; BESERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L.. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p.1166-1171, out. 2005.

RODRIGUES, C. F. **Pesquisa de coliformes e salmonella spp. em ovos comercializados em feira livre, no município de Espigão do Oeste – Rondônia.** Dissertação (Mestrado). São Paulo, 2016.

SILVA JR., E. A.; **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Alimentos.** 6ª ed. São Paulo: Varela. 2007.

SILVA, J. M. **Recursos alimentares utilizados por abelhas *Apis mellifera* L. e *Melipona fasciculata* Smith. em São Bento - Baixada Maranhense.** 2007.60 p. Dissertação de Mestrado em Agroecologia – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís.

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

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema SimPlate.** São Paulo. 2002. 75 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

SIQUEIRA, L. M. et al. Ocorrência de Gastroenterites Relacionadas á Ingestão e Manipulação Inadequada de Alimentos. **Higiene Alimentar**, vol. 20, nº 144, p. 34- 36, set. São Paulo, 2006.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey, Review article, **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 1-26, 1996.

SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. S.; ODA-SOUSA M.; CARVALHO C. A. L.; ALVES, R. M. O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. **Ciências Tecnologia Alimentos**. Campinas. 2009.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão.** 2012.

VENTURIERI, G. C.; BAQUERO, P. L.; COSTA, L. Formação de minicolônias de uruçucinzenta [*Melipona fasciculata* Smith 1858 (Apidae, Meliponini)]. **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015.

