

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA DE MÊIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE NATAL/RN**

LETÍCIA COSTA FERREIRA

NATAL/RN
2016

LETÍCIA COSTA FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA DE MÉIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE NATAL/RN**

*Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Nutrição da Universidade Federal do
Rio Grande do Norte, como requisito
final para obtenção do grau de
Nutricionista.*

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Nély Holland

Co-orientador: Prof^ª. Dr^ª Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves Damasceno

NATAL/RN
2016

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 5 |
| 2. OBJETIVOS | 7 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL..... | 7 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 7 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| 3.1. PRODUÇÃO DE MEL | 8 |
| 3.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO MEL | 9 |
| 3.3. SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DO MEL | 11 |
| 3.3.1. Microbiota do mel..... | 11 |
| 3.3.2. Micro-organismos indicadores | 11 |
| 3.3.3. Micro-organismos pesquisados no mel | 12 |
| 3.3.3.1. <i>Salmonella sp.</i> | 12 |
| 3.3.3.2. <i>Coliformes a 45°C</i> | 13 |
| 3.3.3.3. <i>Bolores e leveduras</i> | 15 |
| 3.4. FRAUDES POR ADULTERAÇÃO | 16 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 18 |
| 4.1. MATERIAL | 18 |
| 4.2. MÉTODOS..... | 18 |
| 4.2.1. Análises microbiológicas | 18 |
| 4.2.1.1. <i>Salmonella sp.</i> | 19 |
| 4.2.1.2. <i>Coliformes a 45°C</i> | 20 |
| 4.2.1.3. <i>Análise de bolores e leveduras</i> | 22 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 7. CONCLUSÃO..... | 26 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |

FERREIRA, Letícia Costa. **Avaliação da qualidade microbiológica de méis comercializados na cidade de Natal RN**. 2016. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

RESUMO

O mel, juntamente com os demais produtos das abelhas, está associado a uma imagem de produto natural, saudável e limpo. Porém, durante o manuseio, acondicionamento e armazenamento podem ocorrer contaminações microbiológicas, inclusive pela adição de substâncias ou soluções estranhas que caracterizam a fraude. Diante disto, e sabendo que o mel é um alimento de fácil adulteração, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições higiênico-sanitárias de méis comercializados na cidade de Natal-RN, por meio de análises microbiológicas de *Salmonella sp.*, coliformes a 45°C e bolores e leveduras. Para tanto, foram coletadas 20 amostras de méis, a maioria não rotulados, comercializados em feiras de Natal- RN, no período de janeiro a julho de 2015. Em todas as amostras analisadas foi verificada a ausência de *Salmonella sp.* e para determinação do NMP de coliformes a 45°C e contagem de bolores e leveduras os resultados obtidos foram negativos, o que demonstra que os méis em questão estavam de acordo com o que é preconizado pela Resolução Nº12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA e pela Instrução Normativa Nº11 de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Conclui-se, portanto, que todas as amostras de méis analisadas estavam em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, sendo os mesmos considerados próprios para consumo humano.

Palavras-chave: Mel, Condições higiênico-sanitárias, Análises microbiológicas.

1. INTRODUÇÃO

O mel é uma substância natural elaborada pelas abelhas a partir do néctar das flores ou de exsudações sacarínicas de outras partes vivas das plantas, que são coletadas e transformadas através da evaporação da água e da adição de enzimas (LEGLER, 2007). Segundo a Instrução Normativa nº 11 (BRASIL, 2000) o mel é classificado de acordo com as suas respectivas origens em mel floral ou mel de melato.

O mel de abelha é um produto alimentício de grande valor nutritivo e de alta aceitabilidade por parte do consumidor, principalmente por ser considerado um produto terapêutico, benéfico à saúde, e um produto biológico muito complexo, 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 apicultor (RACOWSKI, 2009).

Um alto conteúdo de monossacarídeos glicose e frutose compõem o mel. Em função da pouca solubilidade, a glicose determina a tendência da cristalização do mel, enquanto a frutose, por ter alta higroscopicidade, possibilita sua doçura (SEEMANN; NEIRA, 2008). Dentre os dissacarídeos encontrados no mel, a sacarose prevalece, e quando constatada em valores altos geralmente indica um mel “verde” ou adulterado (VIDAL; FREGOSI, 2004).

O mel, juntamente com os demais produtos das abelhas, está associado a uma imagem de produto natural, saudável e limpo (BOGDANOV, 2006). Contudo, ainda é possível observar a ocorrência de diversos micro-organismos no mel, que se constituem em um dos principais critérios de qualidade do produto, juntamente com as suas características sensoriais, químicas e físicas (SOUZA et al., 2009).

A maior preocupação da fiscalização, consumidores, comerciantes e produtores idôneos refere-se aos riscos de adulteração do mel (VARGAS, 2006). A fim de se verificar a presença de possíveis fraudes e as condições higiênico-sanitárias, são feitas as análises físico-químicas e microbiológicas do mel.

Segundo Franco e Landgraf (2008), as análises microbiológicas apresentam importante relevância pelo fato de poderem prover informações a respeito da ocorrência de contaminação de origem fecal, da possível presença de patógenos e do potencial de deterioração de um alimento, além de poderem indicar condições sanitárias insatisfatórias durante o processamento, produção ou armazenamento.

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, e por se tratar de um produto consumido por crianças, idosos, gestantes e doentes que são grupos considerados vulneráveis (TCHOUMBOUE et al., 2007), temos que tomar como base também os valores de referência estabelecidos pela 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.*

O controle da qualidade da produção do mel é primordial, tornando-se fundamental o atendimento das boas práticas de higiene por parte dos produtores, bem como a utilização de um local adequado para o manuseio e extração do mel (PIRES, 2011). Além disso, sendo o mel um alimento de fácil adulteração, por diferentes maneiras, o que significa mais manuseio deste com a adição de substâncias ou soluções, torna-se importante avaliar a qualidade higiênico-sanitária de méis que são comercializados, principalmente aqueles sem rótulos, portanto sem controle fiscal.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar as condições higiênico-sanitárias de méis comercializados na cidade de Natal-RN.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Pesquisar a presença de *Salmonella sp.*, determinar o NMP de coliformes a 45°C e realizar a contagem de bolores e leveduras em méis comercializados em Natal;

Comparar os resultados das análises com a legislação vigente, a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA e a INS nº11 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. PRODUÇÃO DE MEL

Atualmente a criação de abelhas se divide em duas amplas linhas de estudo: a apicultura e a meliponicultura. A apicultura (criação de abelhas da espécie *Apis mellifera*) foi introduzida no Brasil por colônias vindas de Portugal em 1839 (NOGUEIRA NETO, 1997) e atualmente é responsável por quase todo o mel vendido no mundo. O conhecimento a seu respeito já é bastante explanado em várias regiões do Brasil. No entanto, os estudos sobre a meliponicultura são mais atuais, sendo desenvolvidos com abelhas regionais (OLIVEIRA, 2012).

A apicultura vem ganhando espaço no Brasil como uma atividade rentável, pois apresenta retorno rápido do capital investido. Além disso, as condições climáticas são bastante favoráveis ao desenvolvimento das abelhas do gênero *Apis* (APICULTURA, 2004).

Conforme Nogueira Neto (1997), a criação de abelhas nativas ou indígenas sem ferrão (meliponíneos) constitui a meliponicultura. Os meliponíneos são apreciados e criados em todo país. Ainda pouco conhecidas e estudadas, algumas espécies são criadas com maior destaque no Nordeste (SILVA et al., 2009).

A agricultura brasileira tem crescido significativamente em produtividade e qualidade técnica nas últimas décadas, situando o Brasil como um dos pólos produtores mundiais de alimentos. Em termos de volume, em 2014 houve um aumento de 56,46% comparado a 2013, fechando o ano de 2014 com 25.317.263 Kg de mel exportados (ABEMEL, 2015).

O setor apícola vem desenvolvendo esforços de organização e aprimoramento técnico tendo por parceiros várias entidades públicas e privadas, bem como centros e empresas públicas de pesquisas, com vistas à compreensão das propriedades do mel nacional, da melhoria das técnicas de manejo, do fortalecimento da cadeia produtiva como um todo e da comercialização nacional e internacional dos produtos derivados das abelhas (ABEMEL, 2015).

A região Nordeste do Brasil possui um dos maiores potenciais apícolas do mundo, sendo uma das poucas com possibilidade de produzir o mel orgânico em grande quantidade, devido à existência de extensas áreas onde não se utilizam agrotóxicos nas lavouras (HENRIQUE et al., 2008).

O resultado mais importante da implementação da apicultura na região Nordeste é a conservação do ecossistema, que por falta de alternativa para a sobrevivência do sertanejo tem sido degradado com a retirada de lenha, desmatamentos e queimadas (SANTOS; RIBEIRO, 2009).

Uma primeira limitação à produção de mel se refere à questão ambiental. Boa parte das atividades agrícolas na região Nordeste se desenvolve sobre um ecossistema frágil, com limitações de ordem edafoclimáticas. Parte considerável da região convive historicamente com o problema da seca. Especificamente a região conhecida como semiárido, que abrange a maior parte do sertão e do agreste nordestinos, se encontra nessa situação. Traduzindo em números o tamanho do semiárido, essa região abrange 57% da área total do Nordeste e, aproximadamente, 40% da população. No semiárido, a precipitação média anual é inferior a 800 milímetros (SUASSUNA, 2005).

Contudo, apesar do fenômeno da seca afetar alguns estados da região Nordeste do Brasil, a citar Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, esse fator não foi suficiente para frear o crescimento da produção de mel nesta região (IBGE, 2013).

3.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO MEL

O mel é composto, em sua maior parte, por água e carboidratos, principalmente glicose e frutose, além de minerais (cálcio, cobre, ferro, magnésio, fósforo, potássio e outros), proteínas, aminoácidos, vitaminas, flavonóides, pigmentos e um grande número de ácidos orgânicos (SILVA et al., 2008).

Sais minerais, ácidos orgânicos e aminoácidos em mel dissociado fazem do mel um eletrólito. Os pigmentos do mel pertencem às classes dos carotenóides, antocianinas e flavonas; o mel é pobre em vitaminas, apresentando poucas variedades, contendo traços de vitaminas A, B2, C e B6 (SILVA et al., 2006).

Os ácidos orgânicos contribuem substancialmente para o sabor característico de mel, enriquecendo e diversificando o gosto de variedades desse produto (SIMPSON; MAXLEY; GREENWOOD, 1975). Ácidos butírico, acético, fórmico, láctico, succínico, fólico, málico, cítrico e glucônico foram identificados no alimento, sendo os dois últimos os principais ácidos (PEREIRA et al., 2003).

Há aproximadamente 175 mg de aminoácidos livres em 100 g de mel de néctar. Em variedades de mel de melato, o conteúdo comum de aminoácidos livres é 178 mg. O aminoácido livre principal, prolina, constitui entre 49 e 59% do conteúdo de aminoácido livre total do mel de néctar e melato, respectivamente (BOSI, BATTAGLINI, 1978). O mel contém várias enzimas específicas: invertase, amilase, glicose oxidase, catalase, e fosfatase (SILVA et al.; 2006).

O mel é um alimento de alta qualidade, rico em energia e inúmeras outras substâncias que contribuem para o equilíbrio dos processos biológicos do corpo. Sendo dotado de propriedades terapêuticas, é amplamente utilizado na medicina popular sob diversas formas e associações com fitoterápicos (PEREIRA, 2010), assim como antianêmicos, emoliente, antiputrefante, digestivo, laxativo e diurético (SALGADO et al., 2008).

O mesmo ainda é especialmente indicado para permitir maior resistência contra o cansaço físico e intelectual em ocasiões de atividade intensa, além de fortalecer o organismo contra os efeitos do estresse. Em casos de doenças, o mel pode ser utilizado contra anemias, anorexia, atraso de crescimento, bronquites, conjuntivites, desnutrição infantil, emagrecimento, hipoglicemia, insônia, má dentição, nefrites, prisão de ventre, queimaduras (aplicação externa), tosse, úlceras externas e úlceras gastrointestinais (BONTEMPO, 2008).

As inúmeras características intrínsecas do mel contribuem para sua atividade antimicrobiana, dentre elas estão: elevada pressão osmótica / baixa atividade de água, baixo pH / meio ácido, baixo conteúdo proteico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, a viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos (TAORMINA; NIEMIRA; BEUCHAT, 2001; NATIONAL HONEY BOARD, 2004)

Segundo Molan (2003) o mel, por ser uma solução supersaturada de açúcares possui uma baixa atividade de água, assim, não oferece condições favoráveis para o crescimento de bactérias. Além disso, a acidificação natural do meio pode inibir o desenvolvimento de muitos patógenos.

A enzima glicose-oxidase, excretada pelas abelhas, é a responsável pela conversão da glicose, na presença de água e oxigênio, em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, ambos considerados fortes agentes antioxidantes que atacam o envoltório dos micro-organismos, preservando e mantendo a esterilidade do mel durante a maturação (SILVA et al., 2006).

3.3. SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DO MEL

3.3.1. Microbiota do mel

A qualidade do mel não é só influenciada pelas propriedades físicas e químicas, mas também pelos micro-organismos presentes (OLAITAN; ADELEK; OLA, 2007). As características microbiológicas do mel estão relacionadas à qualidade e a segurança deste alimento. Os micro-organismos de importância são primariamente leveduras, bolores e bactérias formadoras de esporos. Estes micro-organismos podem estar envolvidos em atividades de deterioração do produto, produção de enzimas, toxinas, conversão metabólica do alimento, produção de fatores do crescimento (vitaminas e aminoácidos) e fatores de inibição de micro-organismos competidores (GOMES, 2006).

De acordo com Snowdon (1999), a microbiota do mel é constituída por micro-organismos presentes no estado esporulado, como as bactérias do gênero *Bacillus*, e outros ocasionais ou acidentais, como fungos dos gêneros *Penicillium*, *Mucore*, *Saccharomyces*, os quais são incorporados ao mel pelas próprias abelhas da colônia, durante as operações de coleta, preparo do néctar e pólen, ou de maneira fortuita por manipulações pouco higiênicas, durante as etapas de coleta e processamento do mel.

3.3.2. Micro-organismos indicadores

Segundo o ICSMF (1984), a presença de micro-organismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Excetuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterelização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros micro-organismos.

Muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao serem consumidos quando os princípios de sanitização e higiene são violados. Se o alimento fica sujeito às condições que podem permitir a entrada e/ou crescimento de agentes infecciosos ou toxigênicos, pode se tornar um veículo de transmissão de doenças (ICMSF, 1984).

A presença de micro-organismos denominados indicadores, de acordo com Franco e Landgraf (1996), pode fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Esses micro-organismos podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida de prateleira ou à segurança, neste último caso devido à presença de patógenos alimentares (JAY, 2005).

Um microrganismo indicador deve apresentar as seguintes características: i) ser de fácil e rápida detecção na amostra; ii) ser facilmente diferenciado de outros membros da microbiota presente; iii) ser detectado na presença de patógenos e não detectado na ausência dos mesmos, com exceção de números mínimos; iv) possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno (LIMA; SOUSA, 2002).

Segundo Silva (2002), são considerados como bons micro-organismos indicadores coliformes totais e *E. coli*, bolores e leveduras, *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes*.

3.3.3. Micro-organismos pesquisados no mel

3.3.3.1. Salmonella sp.

A *Salmonella sp.* pertence à família “*Enterobacteriaceae*”, é uma bactéria gram-negativa, anaeróbica facultativa que apresenta forma em bastonete medindo de 0,7 a 1,5 x 2,0 a 5µm, não fermenta lactose, sendo movida por flagelos peritríquios (PAULA, 2002; LEVINSON, 2005).

Essas bactérias são divididas em dois grandes grupos: *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*. A *Salmonella entérica* possui seis subespécies, sendo a subespécie I a que apresenta a quantidade de 2500 sorovares identificados e compreende os sorogrupos de A a H. Sua temperatura ideal de crescimento se dá em torno de 37°C com um pH em torno de 7,0. Cepas dos sorogrupos de A, B, C1, C2, D e E são as que causam aproximadamente 99% das infecções em seres humanos e animais de sangue quente (LEVINSON, 2005).

Essa bactéria é o micro-organismo causador da salmonelose, uma Doença Transmitida por Alimentos (DTA's). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma DTA é geralmente de natureza infecciosa ou tóxica, provocada por agentes que em contato com o organismo humano, pela ingestão de alimentos ou da água contaminados, causam desde uma gastroenterite até uma septicemia, entre outros sintomas (VIEGAS, 2009).

Segundo Cardoso e Carvalho (2006) as salmonelas estão amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais o principal reservatório natural. Entre os animais, as aves (galinhas, perus, patos e gansos) são o reservatório mais importante, mas suínos, bovinos, equinos e outros mamíferos domésticos e silvestres, bem como répteis, também apresentam salmonela.

Sabe-se que o período de incubação desta bactéria gira em torno de 6 a 48 horas sendo que a enterite se inicia com sinais de náusea, vômito e progrida para dores abdominais e diarreia, que varia de branda a severa. Esta bactéria invade e danifica a mucosa intestinal, fazendo com que haja presença ou ausência de sangue na diarreia, como também febre de 38 a 40°C. Mesmo que a taxa de mortalidade por diarreia seja considerada baixa, é preciso levar em conta que ainda é considerada como uma ameaça à saúde pública (BLACK, 2002; MICHEL et al., 2009).

As medidas de prevenção das salmoneloses são extremamente fáceis. Entretanto, há uma dificuldade de adoção dessas medidas de controle, como por exemplo, a correta lavagem das mãos dos manipuladores de alimentos, cuidados desde a recepção da matéria prima até o preparo e consumo do alimento, correta higienização dos utensílios e equipamentos, e o consumo de água potável, entre outras medidas. Além dessas medidas para evitar o risco de infecção da salmonelose na população humana, o controle desta doença é de grande interesse para a economia dos países em que ocorre este tipo de surtos (ORDEÑEZ, 2011).

3.3.3.2. *Coliformes a 45°C*

A denominação “coliformes fecais” foi utilizada durante muitos anos para descrever coliformes que fermentavam a lactose com produção de gás a 44,5°C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o

intestino humano e de animais (SILVA; CAVALLI, OLIVEIRA, 2006). *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal (DOYLE, 1996).

Na literatura, tem-se que os micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida de prateleira ou à segurança, neste último caso devido à presença de patógenos alimentares. Em geral, micro-organismos indicadores, como o grupo dos coliformes, são utilizados para avaliar a sanificação dos alimentos. Contudo, eles podem ser usados para avaliar aspectos gerais de qualidade, uma vez que são rotineiramente empregados para avaliar a qualidade do produto final e a higiene empregada no seu processamento (SANT'ANA et al., 2003).

Dentre os grupos de micro-organismos indicadores destaca-se como melhor indicador de contaminação fecal a *Escherichia coli* (JAY, 2005), por ser de fácil isolamento nos meios de cultura convencionais e mais resistente por um período de tempo maior (SOUZA, 2006). Esta bactéria tem uma tendência de se modificar de organismo comensal para um patógeno oportunista e para uma bactéria extremamente especializada (HART; WINSTANLEY, 2001), ocasionando doenças em hospedeiros sadios; por isso, é desejável a determinação de sua incidência em uma população de coliformes (JAY, 2005).

O trato gastrointestinal humano é suscetível a infecções alimentares, sendo seus principais agentes causadores representados por membros da família *Enterobacteriaceae*. Dentre as bactérias dessa família têm destaque fundamental as categorias diarreiogênicas de *E. coli*. Suas infecções são limitadas à colonização de superfícies mucosas ou podem se disseminar através do organismo, tendo sido implicadas, além dos processos de infecção, também em casos de meningite (NATARO; KAPER, 1998).

E. coli pode ser classificada por mecanismos de patogenicidade (toxinas, adesinas, invasibilidade), danos a animais de laboratório e padrões de adesão a células eucarióticas em cultura, e seus patótipos incluem: i) *E. coli* enteropatogênica (EPEC); ii) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); iii) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); iv) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); v) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); vi) *E. coli* de adesão difusa (DAEC); vii) *E. coli* enteroagregativa (EAEC) (SOUZA, 2006).

Em virtude desses vários sorotipos de *E. coli* estarem relacionados com a ocorrência de doenças diarréicas, isso se constitui num grave problema de saúde pública no mundo, com mais de dois milhões de mortes relatadas, a cada ano. (NATARO; KAPER, 1998).

Portanto, é necessária a prevenção dessas doenças veiculadas por alimentos, através de instituição de medidas preventivas eficazes e de treinamento, aliadas à implantação de boas práticas de higiene, desde o campo até o consumidor final, o que irá contribuir para a minimização de contaminação e/ou crescimento bacteriano indesejado em produtos alimentícios (SOUZA, 2006).

3.3.3.3. *Bolores e leveduras*

Segundo Silva et al. (2010), bolores são fungos filamentosos, multicelulares, podendo estar presentes no solo, no ar, na água e em matéria orgânica em decomposição. Leveduras são fungos não filamentosos, normalmente disseminados por insetos vetores, pelo vento e pelas correntes aéreas. Tanto bolores como as leveduras podem ser tanto benéficos quanto prejudiciais à saúde.

A presença de bolores e leveduras viáveis ou em índices elevados nos alimentos pode fornecer várias informações, tais como condições higiênicas deficientes de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria prima com contaminação excessiva (SIQUEIRA, 1995).

Os bolores revelam notável capacidade de adaptação e crescimento sob condições extremamente variáveis, como a umidade e a temperatura. O intervalo ótimo desta última se situa entre 25°C a 30°C, mas muitas espécies se desenvolvem em temperaturas de refrigeração a 4°C a 5°C ou mesmo abaixo de 0°C. Outros fatores também podem interferir, como pH (são capazes de desenvolver em um alimento no intervalo de 2,0 a 8,5, embora o ótimo se situe na faixa de 4,5 a 5,0), taxa de oxigenação e período de armazenamento (SILVA et al., 2010). São também pouco exigentes quanto aos nutrientes disponíveis, razão pela qual o crescimento pode ocorrer praticamente em qualquer tipo de substrato (LEITÃO et al., 1988).

A ocorrência de espécies patogênicas de leveduras em alimentos é praticamente desconhecida. Sua importância reside muito mais no fato de serem

eventuais agentes de deterioração em alimentos nos quais apresentam condições de desenvolvimento (PELCZAR; REID; CHAN, 1996).

Certos fungos em crescimento produzem metabólitos secundários, que são chamados de micotoxinas, podendo contaminar grãos e sementes durante o amadurecimento da planta, na colheita, no armazenamento, no processamento e até mesmo no transporte (BORGES, 1999). A incidência de micotoxinas e as micotoxicoses não estão restritas a um determinado clima, região geográfica ou país (LAZZARI, 1997).

É difícil de estimar a extensão dos problemas causados pelas micotoxinas, pois as toxinas podem ocorrer em baixas concentrações, dificultando a sua detecção e os sinais de micotoxicoses podem ser confundidos com outras doenças, dificultando a sua caracterização. Um dos efeitos mais comuns do consumo de níveis baixos de micotoxinas é a predisposição às infecções causadas por doenças normalmente presentes no meio ambiente (LAZZARI, 1997).

3.4. FRAUDES POR ADULTERAÇÃO

A presença de fraudes, assim como a inadequação de alguns dos estágios de produção, processamento, acondicionamento e distribuição do mel, pode propiciar o crescimento de micro-organismos nos alimentos.

Entende-se que fraudes em alimentos são alterações, adulterações e falsificações realizadas com a finalidade de obtenção de maiores lucros. Essas operações procuram ocultar ou mascarar as más condições estruturais e sanitárias dos produtos e atribuir-lhes requisitos que não possuem, comprometendo características sensoriais e, muitas vezes, o valor nutritivo dos alimentos; ou seja, são práticas prejudiciais que vão sempre de encontro aos interesses dos consumidores (EVANGELISTA, 1989).

Quando se trabalha com mel, é comum encontrar variações na sua composição física e química, tendo em vista que variados fatores interferem na sua qualidade. Segundo a IN nº 11 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), o mel não deve conter nenhum tipo de substância estranha à sua composição original. É expressamente proibida a adição de qualquer tipo de produto ou substância ao mel.

O mel é considerado um dos alimentos mais puros da natureza, apreciado por seu sabor característico e considerável valor nutritivo. Seu preço é relativamente alto, o que incentiva muitas vezes a sua adulteração (ARAÚJO; SILVA; SOUSA, 2006), por adição de açúcares ou xaropes (RODRIGUES et al., 2005).

Os principais tipos de xaropes e açúcares utilizados na adulteração do mel são: o xarope de milho, xarope de açúcar, xarope de açúcar invertido de beterraba e cana de açúcar e amido (COUTINHO, 2006). A adulteração simples pode ser realizada por meleiros ou falsos apicultores, mas também por técnicas refinadas, a partir do uso de açúcares monossacarídeos em percentuais próximos a 50%, o que impossibilita a detecção da fraude (SILVA, 2001).

Nas adulterações, para se obter a coloração desejada, são frequentes o uso de “tintura de iodo” e/ou mercúrio cromo, substâncias tóxicas para o organismo, além de outros aditivos químicos para obtenção da viscosidade (SALGADO et al., 2008).

A qualidade do mel é afetada durante os processos de aquecimento, extração, liquefação ou clarificação ou por período de estocagem prolongado. As suas características devem ser controladas analiticamente e garantidas através de certificado que ateste a sua genuidade, assegurando ao consumidor a aquisição de um produto de qualidade e a proteção contra a especulação comercial (MENDES et al., 2009).

Devido à preocupação dos consumidores em adquirir produtos de qualidade, torna-se necessário que o mel se enquadre nos requisitos exigidos pelo mercado, e para isso deve-se ter um amplo conhecimento da sua composição físico-química e microbiana (SOUZA, 2003).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

Para a realização das análises foram coletadas 20 amostras de mel de abelha, dentre os quais 15 eram não rotulados e 5 rotulados, de diferentes produtores que comercializavam seus méis nas feiras do Alecrim e de Santa Catarina, ambas localizadas na cidade de Natal-RN. No presente estudo foram analisadas 50% das amostras provenientes de municípios que compõe as regiões do agreste e seridó potiguar, e as demais foram provenientes das outras regiões do nordeste e de produtores desconhecidos. As coletas foram feitas entre janeiro e julho de 2015 e as amostras foram levadas para o Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (Natal-RN), onde as análises foram realizadas.

4.2. MÉTODOS

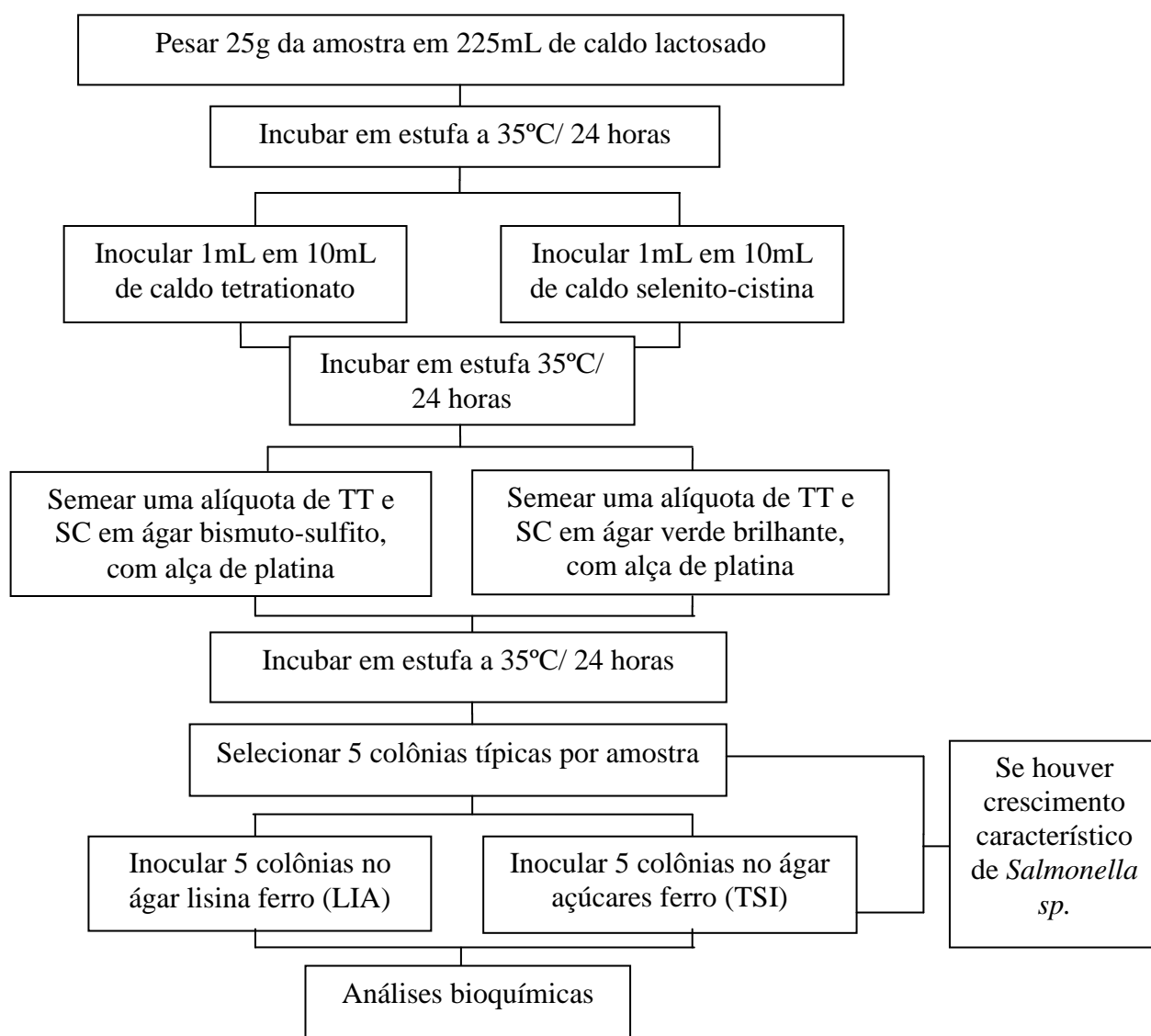
4.2.1. Análises microbiológicas

Para a realização das análises microbiológicas do presente trabalho seguiu-se a metodologia da *American Public Health Association* (1992). Os parâmetros utilizados foram os preconizados pela Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que estabelece o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de mel, e define um valor tolerável de $1,0 \times 10^2$ UFC/g para bolores e leveduras (BRASIL, 2000). E a RDC N°12 de 2 de janeiro de 2001- ANVISA, para “Açúcares, Adoçantes e Similares” (BRASIL, 2001) para a determinação do NMP de coliformes a 45°C, sendo o seu limite tolerável de <3 NMP/g, e para verificação de presença de *Salmonella sp.*

4.2.1.1. *Salmonella sp*

Para a pesquisa de *Salmonella sp*, foram realizados os seguintes procedimentos: pesou-se 25g da amostra e adicionou-se a um erlenmeyer com 225mL de caldo lactosado, que foi incubado em estufa à 35°C durante 24 horas. Transcorridas as 24 horas, inoculou-se 1mL da cultura em 10mL de caldo Tetrionato (TT) e o mesmo se fez para o caldo Selenito-Cistina (SC); ambos foram levados à estufa a 35°C por 24 horas. Em seguida, semeou-se uma alíquota da cultura em TT e SC para placar com ágar Bismuto Sulfito (BS) e ágar Verde Brilhante (VB), com auxílio de uma alça de platina e as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. A análise foi encerrada nesta etapa, devido ao não crescimento de colônias típicas de *Salmonella sp* (Figura 1).

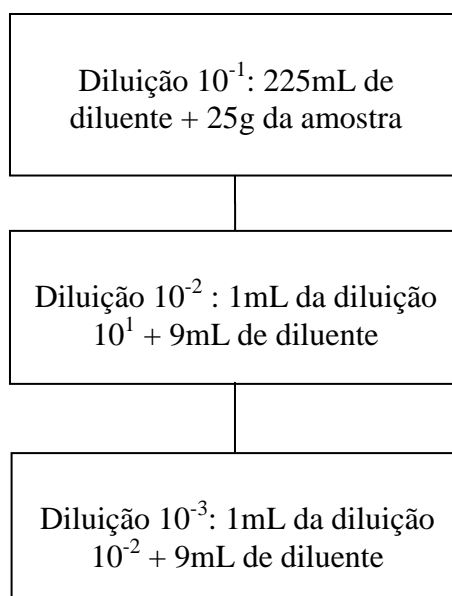
Figura 1. Esquema da análise microbiológica de *Salmonella sp*.



4.2.1.2. Coliformes a 45°C

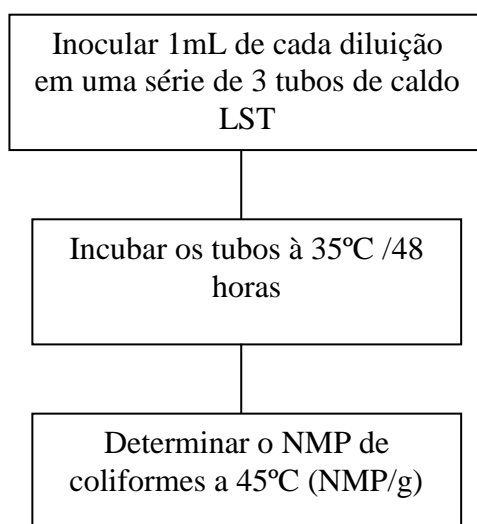
Para realizar a determinação do NMP de Coliformes a 45°C, inicialmente foi feita uma série de diluições a partir da amostra utilizando como diluente a água peptonada 0,1%. A diluição 10^{-1} foi feita utilizando-se um erlenmeyer estéril contendo 225mL do diluente e 25g da amostra. A partir dessa diluição foi feita a diluição 10^{-2} e em um tubo de ensaio contendo 9mL do diluente, no qual foi adicionado 1mL da diluição 10^{-1} . O preparo da diluição 10^{-3} seguiu o mesmo raciocínio, uma vez que em um tubo contendo 9mL de diluente foi adicionado 1mL da diluição 10^{-2} .

Figura 2. Preparo das diluições seriadas.



A partir das diluições realizadas, foi feito o teste presuntivo de Coliformes à 45°C utilizando-se 3 séries de três tubos contendo 10mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) cada um. Para cada série adicionou-se 1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , respectivamente. Em seguida colocou-se os tubos em estufa a 35°C durante 48 horas. Como não houve produção de gás e turvação, não foi necessária a realização do teste confirmatório.

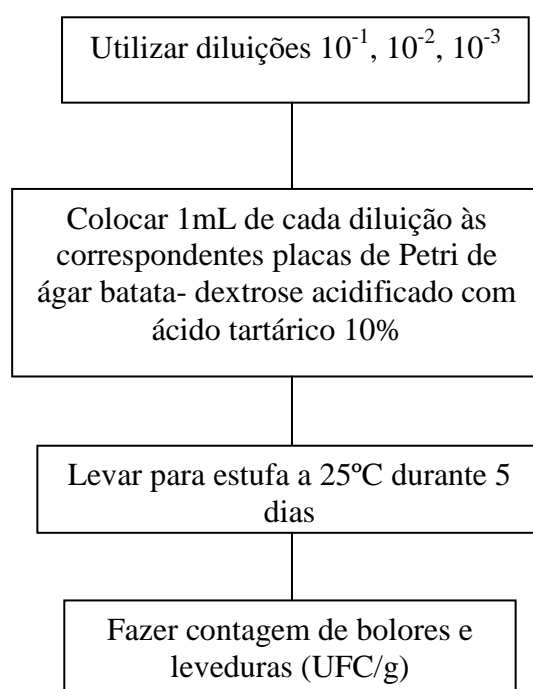
Figura 3. Esquema para análise microbiológica de Coliformes a 45°C.



4.2.1.3. Análise de bolores e leveduras

Para a realização da contagem de bolores e leveduras foram preparadas uma série de três placas de Petri contendo ágar batata-dextrose acidificado com ácido tartárico 10%, a fim de evitar o crescimento de bactérias. Em cada placa inoculou-se 1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , respectivamente, preparadas anteriormente. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa sem inverter a 25°C durante cinco dias.

Figura 4. Esquema para análise microbiológica de bolores e leveduras.



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas essas amostras foi verificada a ausência de *Salmonella sp.* e para a determinação do NMP de coliformes a 45°C e da contagem de bolores e leveduras os resultados obtidos foram negativos, o que demonstra que os méis em questão estão de acordo com o que é preconizado pelas legislações vigentes.

Com o conhecimento das características do alimento, é possível prever a microbiota que poderá se multiplicar nele (BANWART, 1995; MUNDO et al., 2004), uma vez que a capacidade de algumas espécies de micro-organismos sobreviverem em determinados alimentos depende não somente de suas características físicas e nutricionais, mas também de fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos como: temperatura, pH, atividade de água entre outros, como também das condições de manipulação e armazenamento inadequado (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

Os resultados encontrados nesse estudo podem ser explicados pela composição físico-química do mel, que determina quais micro-organismos serão capazes ou não de se desenvolver (SEREIA, 2005; SILVA, 2000).

No trabalho realizado por Marinho (2015), no qual foram utilizadas as mesmas amostras de méis do presente trabalho, porém para as análises físico-químicas, verificou-se que 60% das amostras apresentaram teor de acidez livre inferior ao estabelecido pela legislação, que é até 50mEq/Kg, e 40% destas apresentaram-se acima do estabelecido. De acordo com Carnejo (1988), a acidez do mel é um componente de extrema relevância, pois além de conferir características químicas e sensoriais, contribui para a sua estabilidade frente ao desenvolvimento de micro-organismos; Além disso, segundo Crane (1983), a acidez permite indicar as condições de armazenamento e ocorrência de processos fermentativos. Entretanto, de acordo com as análises microbiológicas realizadas no presente trabalho, não se pôde relacionar a elevada acidez em quase a metade das amostras analisadas com o crescimento de micro-organismos.

Alguns trabalhos referentes à microbiologia do mel demonstraram valores semelhantes aos valores obtidos no presente trabalho. Um deles foi o estudo realizado por Alves et al. (2009), que analisaram 24 amostras de mel orgânico de *Apis mellifera* africanizada. As mesmas foram coletadas nas ilhas Floresta e Laranjeira do alto rio Paraná e nelas foi-se verificado a presença de coliformes à 45°C (NMP/g) e de bolores e leveduras (UFC/g). Em todas as amostras analisadas a contagem de coliformes à 45°C foi menor que 3,0 NMP/g e a contagem de bolores e leveduras foi menor que

$1,0 \times 10^2$ UFC/g, o que quer dizer que as mesmas encontravam-se dentro dos parâmetros estabelecidos e aceitos pelos órgãos oficiais vigentes.

No estudo conduzido por Oliveira, Ribeiro e Oliveira (2013) foram obtidas amostras de méis em três enxames da espécie *Scaptotrigona depilis* (“abelha canudo”) e um enxame da espécie *Tetragonisca angustula* (“abelha jataí”), provenientes da criação de um produtor rural na Cidade de Barra do Garças (MT). Todas as amostras de méis apresentaram baixa contagem microbiana de coliformes a 45 °C, indicando boa qualidade higiênico-sanitária. Em contrapartida, as contagens de bolores e leveduras de ambos os méis apresentaram-se acima do limite estabelecido pela legislação. Também foi detectada a presença de *Salmonella sp* em uma amostra de mel de *S. depilis* sendo, portanto, imprópria para o consumo humano, já que o critério de classificação é ausência em 25 g de amostra.

Almeida-Anacleto (2007) avaliou a qualidade microbiológica de 31 amostras de méis produzidos por cinco espécies de abelhas sem ferrão no Estado de São Paulo (*T. angustula*, *S. bipunctata*, *N. testaceicornis*, *F. varia* e *Tetragona clavipes*) e verificou que um total de 20 amostras (64,5%) apresentaram contagem de bolores e leveduras acima do permitido pela regulamentação brasileira, variando entre $1,50 \times 10^2$ e $1,58 \times 10^4$ UFC/g. Contudo, não foi verificada a presença de coliformes à 45°C em nenhuma das amostras.

O estudo realizado por Souza et al. (2009) obteve resultados semelhantes ao de Almeida-Anacleto (2007). No mesmo foram utilizadas 14 amostras de mel de abelha sem ferrão produzido pelos gêneros *Frieseomelitta* (1 amostra), *Nannotrigona* (3 amostras), *Partamona* (1 amostra), *Scaptotrigona* (4 amostras), e *Tetragonisca* (5 amostras), provenientes de diferentes localidades do Estado da Bahia em suas respectivas épocas de produção. De acordo com os resultados obtidos para contagem de bolores e leveduras, sete amostras (50,0%) apresentaram valores acima do máximo estabelecido pela legislação, sendo consideradas impróprias para o consumo humano. Porém, como no presente trabalho, não foi verificada a presença de coliformes a 45°C, sugerindo, dessa forma, uma observância às boas práticas de manipulação em relação ao mel.

Apesar da conhecida influência da quantidade de água sobre o crescimento de micro-organismos, a umidade e a atividade de água das amostras de mel não explicaram a contagem de bolores e leveduras encontrada em alguns estudos citados anteriormente. De acordo com Ferreira et al. (2013) o mel é um alimento com pH

relativamente ácido (3,5 a 4,0) e baixa Aa e umidade, não sendo, por isso, considerado um alimento com condições favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos.

A presença de bolores e leveduras acima do limite estabelecido pela legislação brasileira indica contaminação externa durante a manipulação, comprometendo assim a qualidade final do produto. Isso provavelmente justifica-se pelo fato da maioria dos apicultores possuírem instalações e equipamentos rudimentares, muitas vezes não obedecendo ao que é recomendado pelas Boas Práticas Apícolas, comprometendo a qualidade sanitária do mel, mesmo que algumas vezes minimamente e não prejudicial à saúde do consumidor (FERREIRA et al., 2013).

A detecção de *Salmonella sp.* em um dos estudos citados acima pode estar associada ao hábito forrageiro desta espécie ou à presença de inquilinos contaminados na colméia (NOGUEIRA-NETO,1997), já que o mel não é um dos substratos comuns desse micro-organismo. Conforme Germano e Germano (2008), são apontados como responsáveis pela ocorrência de surtos de salmoneloses alimentos com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como leite e produtos lácteos (queijos cremosos), ovos e derivados (pudins, gemadas, licores de ovos, maioneses), carnes (de bovinos, suínos e aves) e seus derivados. Portanto, o mel não está entre os principais substratos energéticos para os micro-organismos estudados no presente trabalho, devido tanto a sua composição nutricional quanto as suas características físico-químicas que determinam a sua capacidade antimicrobiana.

6. CONCLUSÃO

De acordo com as análises microbiológicas realizadas, todas as amostras de méis analisadas estavam dentro dos parâmetros exigidos pelas legislações que foram tomadas como referência, sendo os mesmos, portanto, considerados próprios para consumo humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALVES, E. M.; TOLEDO, V. A. A.; MARCHINI, L. C.; SEREIA, M. J.; MORETI, A. C. C. C.; LORENZETTI, E. R.; NEVES, C. A.; SANTOS, A. A. Presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto rio Paraná. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.224, outubro, 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION- APHA. **Standard methods for the examination of water and waste water.** Washington, 1992, p.4-93.

APICULTURA. **Instituto Centro de Ensino Tecnológico.** 2.ed. Fortaleza: Edição Demócrito Rocha; Ministério da Ciência e Tecnologia, 2004, 56p.

ARAÚJO, D. R.; SILVA, R. H. D.; SOUZA, G. S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.6, n.1, p. 51- 55, set. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL- ABEMEL. **Apicultura sustentável,** 2015. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Mel_e_produtos_apicolas/36RO/ICA_36RO.pdf> Acesso em: 25 de abril de 2016.

BANWART, G. J. **Basic food microbiology.** 2.ed. Westport, CT: AVI, 1995, p.784.

BLACK, J. G. **Microbiologia: Fundamentos e perspectivas.** 4 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2002, p. 583 - 584.

BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidologie.** v. 37, n. 1, 2006, p. 1-18.

BONTEMPO, Marcio. **Mel: uma vida doce e saudável.** São Paulo: Alaúde, 2008.

BORGES, L. R. **Análise de qualidade microbiológica (bolores e leveduras) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e identificação dos fungos potencialmente micotoxigênicos.** Dissertação (monografia apresentada a Universidade Federal do Paraná), Curitiba, 1999, 32p.

BOSI, G.; BATTAGLINI, M. Gas-chromatographic analysis of free and protein amino acids in some unifloral honeys. **Journal of Apicultura Research**, v. 17, 1978, p. 152-166.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Legislação por Assunto. Legislação de Produtos Apícolas e Derivados. Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.** Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm >. Acesso em: 17 de fevereiro de 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 12**, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 17 de Fevereiro de 2016.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella sp.* **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**. v. 24, n. 2, 2006, p. 95 – 101.

CORNEJO, L. G. **Tecnologia de miel**. In: SEEMANN, P.; NEIRA, M. (Ed). **Tecnologia de la produccion apicola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, 1988, p.145-71.

COUTINHO, D. A. **Estudos físico-químicos de méis do Curimataú Paraibano**. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 25p., 2006.

CRANE, E. **O Livro do Mel**. São Paulo: editora Nobel, 1983. 226p.

DOYLE, M.P. **Fecal coliforms in tea: what's problem? Food Technology, Back page**, 1996.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1989.

FERREIRA, J. D.; OLIVEIRA, F. C. E.; MANCINI, C. E.; ZANDONADI, F. B.; BRANCO, P. A. C. do V. Determinação de fungos filamentosos e leveduras em méis produzidos no município de Sinop, Mato Grosso. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 9, n.4, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. 182p.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008, 182p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, 182p.

GERMANO, P. M. L., GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. Barueri, SP: Manole, 2008, 229-230; 317 p.

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

HART, C. A.; WINSTANLEY, C. **What makes a pathogen? Microbiology Today**, v. 28, 2001, p. 4-6.

HENRIQUE R. G.; PEREIRA D. S.; OLIVEIRA A. M. DE; MEDEIROS P. V. Q. de; CUNHA F. F. Perfil dos produtores familiares de mel no município de Serra do Mel – RN. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.3, n.4, outubro/dezembro de 2008, p.29-41.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 41, 2013. Disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf> Acesso em: 25 de abril de 2016.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Micro-organismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico**. Zaragoza: Acribia, 1984, 431 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2a ed. Curitiba: Ed. Do Autor, 1997, p.148.

LEITÃO, M. F. F.; HAGLER, L. C. S. M.; HAGLER, A. N.; MENEZES, T. J. H. **Tratado de Microbiologia: microbiologia de alimentos, sanitária e industrial**. São Paulo: Manole, v.1, 1988, p.181.

LENGLER, S. **Inspeção e Controle de Qualidade do Mel**. 2007. Disponível em <http://www.sebraern.com.br/apicultura/pesquisas/inspecaomel101>. Acessado em 20 de fevereiro de 2016.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7 ed. Porto Alegre. Artmed, 2005, p.133-136.

LIMA, A. W. O.; SOUSA, C. P. Infecções e intoxicações alimentares. In: Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos. 1 ed. João Pessoa, PB: **Nova Ideia**, v. 1, 2002, p. 175-199.

MARINHO, J. K. L. **Avaliação da qualidade de méis comercializados na cidade de Natal- RN**. Monografia apresentada ao curso de nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2015, 31p.

MENDES, C. G.; SILVA, J. B. A.; MESQUITA, L. X.; MARACAJÁ, P. B. As análises de mel: Revisão. **Revista Verde**, v.22, 2009, p.7–14

MICHEL, J.; PELCZAR, J. R.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**. 2 ed. vol.2. São Paulo. Pearson, 2009, p. 229 – 232.

MOLAN, P. C. **Honey as an antimicrobial agent**. 2003. Disponível em: <http://honey.bio.waikato.ac.nz/honey.shtml> Acesso em: 28 de fevereiro de 2016.

MUNDO, M. A.; OLGA, I.; PADILLA-ZAKOUR.; WOROBO, R. W. Growth inhibition of food borne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. **International Journal of Food Microbiology**, Geneva, v.97, n.1, 2004, p.1-8.

NATARO J. P.; KAPER, J. Diarrheagenic Escherichia coli. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, 1998, p. 142-201.

NATIONAL HONEY BOARD. **I'm here to tell you the bear facts about honey.** Longmont, Colorado, 2004. Disponível em: <http://www.nhb.org/foodtech>. Acesso em: 29 de fevereiro de 2016.

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

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, 2007, p.159-165.

OLIVEIRA, K. A. M.; RIBEIRO, L. S.; OLIVEIRA, G. V. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e Jataí (*Tetragonis caangustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.3, 2013, p.239-248.

OLIVEIRA, P. S. Ácidos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis Mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, Belém, v. 11, ago. 2012, p.1-5. Disponível em: <<http://quimicanova.s bq.org.br/qn/No%20Prelo/Artigos/AR11921.pdf>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2016.

ORDEÑEZ, J. A. **Tecnologia dos alimentos – Alimentos de origem animal.** v.2 . Artmed. Porto Alegre, 2011, p.187- 211.

PAULA, A. M. R. **Deteção de Salmonella em Alimentos Crus de Origem Animal Empregando os Imunoensaios Rápidos TECRA™ Salmonella VIA, TECRA™ Salmonella UNIQUE e o método convencional de cultura.** São Paulo, Dissertação para obtenção de grau de mestre. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2002, p.49.

PELCZAR, M. J.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** São Paulo, v.1, 1996, p. 524.

PEREIRA, F. de M.; LOPES, M. T. do R.; CAMARGO, R. C. R. de; VILELA, S. L. de O. **Produção de mel. Teresina: Embrapa Meio - Norte (Sistema de produção n° 3)** Teresina, 2003. Disponível em: <http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/apicultura/mel.htm>. Acesso em 27 de fevereiro de 2016.

PEREIRA, D. S.; MENEZES, P. R.; BELCHIOR FILHO, V.; SOUSA, A. H.; MARACAJÁ, P. B. Abelhas indígenas criadas no Rio Grande do Norte. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 5, n. 1, p.81-91, 2011. Disponível em: <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/2015/4785>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2016.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e *Meliponíneos*.** Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-29112010-082905/pt-br.php>>. Acesso em 25 de fevereiro de 2016.

PIRES, R. M. C. **Qualidade do mel de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 produzido no Piauí**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011, p.90.

RACOWSKI, I. Ação Antimicrobiana do Mel em Leite Fermentado. **Revista Analytica**. Nº 30. p.106-114. Agosto/Setembro 2009.

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. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1166-1171, set./out. 2005.

SALGADO, T. B.; ORSI, R. O.; FUNARI, R. S. C.; MARTINS, O. A. Análise físico-química de méis de abelhas *Apis mellifera* L. comercializados na região de Botucatu, São Paulo, Brasil. Publicações em **Medicina Veterinária e Zootecnia – PUBVET**, v. 2, n. 20, maio 2008.

SANT'ANA, A. S.; SILVA, S. C. F.; FARANI, I. O. Jr.; AMARAL, C. H. R.; MACEDO, V. F. Qualidade microbiológica de águas minerais. **Ciência e Tecnologia da Alimentação**, 23 supl., p.190-194, 2003.

SANTOS C. S. de; RIBEIRO A. de S. Apicultura uma alternativa na busca do desenvolvimento sustentável. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.4, n.3, p. 01- 06, julho/setembro de 2009.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de La producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste. 202p., 2008.

SEREIA, M. J. **Caracterização físico-química, microbiológica e polínica de amostras de méis orgânicos e não orgânicos produzidos por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção Animal) Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, 2005, p.115.

SILVA, E. M. S. **Análise físico-química dos méis de abelha (*Apis mellifera* e *Melipona scutellaris*)**. Monografia (Graduação em Zootecnia)–Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2001, p.39.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Varela, 2000, p.227.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26(2): 352-359, abr.-jun, 2006.

SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora: Varela- São Paulo, 4ªed, 2010.

SILVA, R. A.; AQUINO, I. de S.; RODRIGUES, A. E.; SOUZA, D. L. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do

Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 4, p.70-75, 2009.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. **Revista Alimentação e Nutrição**, Araraquara v.17, n.1, p.113-120, jan./mar. 2006

SILVA, S. J. N. da.; SCHUCH, P. Z.; VAINSTEIN, M. H.; JABLONSKI, A. Determinação do 5-hidroximetilfurfural em méis utilizando cromatografia eletrocínética capilar micelar. **Revista Ciências Tecnologia e Alimentação**, Campinas, n. 28, p. 46-50, dez. 2008.

SIMPSON, J.; MAXLEY, E.; GREENWOOD, S. P. **Can honey from sugar-fed bees be distinguished from natural honey by its flavour? Bee World**, v. 55, n. 1, 1975, p. 10- 14.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTAA, 1995, p.159.

SNOWDON, J. A. The microbiology of honey - meeting your buyers specifications (Why they do what they do). **American Bee Journal**, Hamilton, v.139, n.1, 1999, p.51-59.

SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. S.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (*Apidae: Trigonini*) do Estado da Bahia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. **Campinas**, 29(4): 798-802, out.-dez. 2009.

SOUZA, C. C. **Caracterização físico-química, química e análise de sabor de méis poliflorais**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2003, p.135.

SOUZA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. São Carlos- São Paulo/Brasil. **Revista APS**, v.9, n.1, p. 83-88, jan./jun. 2006

SUASSUNA, J. **Potencialidades hídricas do nordeste brasileiro. Parcerias estratégicas**, n. 20, p. 131-156, 2005.

TAORMINA, P. J.; NIEMIRA, B. A.; BEUCHAT, L. R. Inhibitory activity of honey against food borne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. **International Journal of Food Microbiology**, v. 69, n. 3, p. 217-225, 2001.

TCHOUMBOUE, J.; JULIUS, A. N.; A, F. F.; DELPHINE, D. N.; JONNAS, P.; ANTOINE, M. Z. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, 2007, p. 908-913.

VARGAS, T. **Avaliação da qualidade do mel produzido na região de Campos Gerais do Paraná**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006, p.148.

VIDAL, R.; FREGOSI, E. V. **Mel: características, análises físico-químicas, adulteração e transformação.** Barretos: Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios”, p.95, 2004.

VIEGAS, S. J. **Alterações do Estado de Saúde Associadas à Alimentação: contaminação microbiológica.** Lisboa, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Departamento de Alimentação e Nutrição. Unidade de Observação e Vigilância. 2009.