

CURSO

Implantação de
Laboratório de Análise
de Mel e Interpretação
de Resultados



Ficha Catalográfica

Ficha Catalográfica elaborada pela seção Técnica de Biblioteca e Documentação Ebram e Agro - Taubaté/ SP.

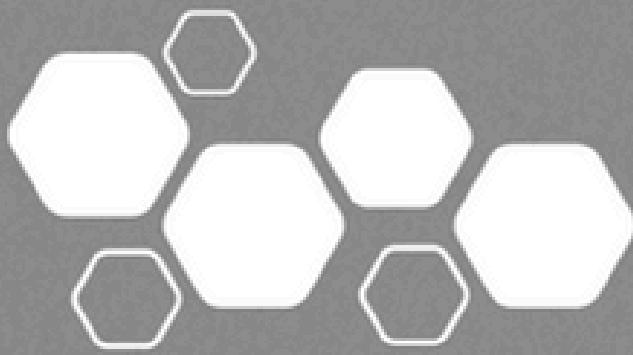
E-BOOK: Implantação de Laboratório de Análise de Mel e Interpretação de Resultados/ Lidia M.R.C Barreto; Ricardo Oliveira Orsi; Patrícia Rodrigues Orsi; Lisa Alvarelli Nakano; Fabricia Soriani.

1.Ed.Taubaté,SP,Edição EBRAM E AGRO, 2024, 302MB; PDF.

BIBLIOGRAFIA:

ISBN:

1. Mel: produção e processamento. 2. Boas práticas de produção e processamento. 3. Tecnologia da produção e do processamento. 4. Noções de segurança e boas práticas laboratoriais. 5. Conhecendo os equipamentos para instalação de um laboratório de análise de mel. 6. Preparo das amostras de mel para as análises. 7. Reagentes envolvidos no processo e preparo de soluções. 8. Metodologia para análise físico-químicas e microbiológicas. 9. Melissopalinologia. 10. Interpretação dos resultados das análises. 11. 12. Boas práticas e recomendações técnicas no campo e na indústria voltadas para a qualidade do produto. 13. Legislação: Identidade e Qualidade do mel.



Este material foi desenvolvido com
base em estudos, pesquisas e
experiências realizadas.
Escola Ebram e colaboradores.





Profª. Dra. Lidia Maria Ruv Carelli Barreto

Bacharelado, Licenciatura Curta e Plena em Ciências Biológicas - UNITAU-SP-(1984,1985,1987); Especialização em Saúde Pública- UMC-SP (1987), Mestrado em Entomologia-UFV-MG (1999), Doutorado e Pós Doutorado em Nutrição e Produção Animal -UNESP-Botucatu-SP (2004 e 2010). Foi Prof. Assistente Doutor na Cadeira de Apicultura da Universidade de Taubaté. Coordenou: Centro de Estudos Apícolas da Universidade de Taubaté- UNITAU-SP- 1988-2019. Dirigiu o Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté entre os anos de 2014 a 2018, aposentou-se em maio de 2019 da Graduação da Universidade de Taubaté. Autora e coautora em diversos artigos científicos bem como são de sua autoria mais de 20 livros didáticos relacionados com as abelhas. Atualmente Coordena o Curso de Pós-graduação, Lato Sensu- FAPETI-UNITAU, Vice-Presidente da Comissão Técnico Científica da Confederação Brasileira de Criadores de Abelhas-CBA. Proprietária da Escola Brasileira de Apicultura, Meliponicultura e Agrosustentabilidade-EBRAM E AGRO, Escola que promove diversos cursos em todo o território nacional, bem como atuando com consultoria para legalização de Unidades de Processamento, beneficiamento, entrepostos de produtos apícolas, implantação de apiários, tipificação de áreas apícolas, controle de qualidade dos produtos apícolas, pesquisas científicas para empresas na área de apicultura, processos de perícia por morte de abelhas e testes de Bioinseticidas em abelhas.





Profº. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Professor convidado

Mestre, Doutor e Pós doutor em Produção Animal, é membro da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, atuando como professor Associado Doutor no Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva. Atua como professor do curso de Pós-graduação em Zootecnia (Conceito CAPES 06) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Coordena o Grupo de Pesquisa CNPq NECTAR (Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional). Participa como membro do comitê científico nacional junto a Confederação Brasileira de Apicultura - CBA, na qualidade de presidente. Atua como consultor técnico junto à Câmara Setorial Nacional do Mel. Publicou mais de 100 artigos em periódicos especializados. Participou de diversos eventos no exterior e no Brasil. Recebeu prêmios e/ou homenagens. Atua na área de Zootecnia, com ênfase em Produção Animal e na área de Biologia Geral. Em suas atividades profissionais interagiu com 58 colaboradores em coautoria de trabalhos científicos. Gerado pelo Sistema Interlattes CV-Resumé





Profª. Me. Lisa Gomes Alvareli

Lisa Gomes Alvareli possui graduação em Ciências Biológicas (bacharelado) pela Universidade de Taubaté UNITAU (2013). Foi estagiária no Centro de Estudos Apícola pela Universidade de Taubaté - CEA-UNITAU, realizando inúmeros trabalhos científicos relacionados ao Pólen Apícola (2010-2013). Possui Mestrado em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial pela Escola de Engenharia de Lorena - Universidade de São Paulo - EEL-USP (2018). Fez parte do grupo de pesquisa BBioPRO - Laboratório de Biocatálise e Bioproductos, no Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena (EEL), da Universidade de São Paulo (USP), desenvolvendo estudo para produção de celulose nanocristalina por via enzimática (2015-2017). Foi Docente de apoio no Curso Superior de Tecnologia em Apicultura e Meliponicultura Experimental - Ensino à Distância - Universidade de Taubaté - EaD-UNITAU(2017-2018). Foi Analista de Qualidade na Empresa Novo Mel Industria e Comércio Exterior LTDA. Entreposto de beneficiamento de produto das abelhas e derivados (2018-2020). Foi Gerente de Pesquisa e Desenvolvimento e Responsável Técnica na Empresa Apis Brasil - Green Eucalypt Própolis LTDA. Entreposto de beneficiamento de produto das abelhas e derivados.(2020-2021). Atualmente é aluna do curso de especialização "Gestão da Qualidade, Higiene e Tecnologia de produtos de origem animal" na instituição IFOPE Educacional. Atualmente é consultora e prestadora de serviços para indústria de produto de origem animal.





Profª. Especialista Fabricia Soriani

Graduada em Farmácia Industrial na Universidade Estadual de Maringá – PR concluída em 1995, com habilitação para atuação em indústrias de alimentos, medicamentos e cosméticos.

Pós-graduação em Fitoterapia na IBEHE- SP concluída em 2001. Atuante como responsável técnica na empresa PRONATU Laboratório de Produtos Naturais Ltda, unidade de beneficiamento de produtos de abelhas, desde 1996 até a data atual. Apoio e assessoria técnica na ABEMEL - Associação Brasileira dos Exportadores de Mel, desde sua fundação em 2003. Membro da diretoria da entidade deste 2020. Membro da ABNT/CEE-87 - Comissão de Estudo Especial da Cadeia Apícola / ISO internacional, participando na elaboração e publicação de normas da cadeia apícola. Participante das Câmaras Setoriais de Produtos de Abelhas de Brasília e de São Paulo. Meliponicultora por hobby, formação e experiência em abelhas sem ferrão.





Profª. Dra. Patricia Rodrigues Orsi

Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Durante a licenciatura atuou como estagiária nas áreas de morfologia e fisiologia. Possui mestrado e doutorado em Farmacologia. Trabalhou na empresa Centroflora-Botucatu/SP (janeiro de 2014) como analista de assuntos regulatórios. Possui pós-doutorado (bolsista Fapesp), no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2014-2017), no projeto em desenvolvimento trabalha com regeneração de tecido ósseo, biofármaco e células tronco. Trabalhou como bióloga na área de Pesquisa e desenvolvimento da Empresa Kaivo em 2018 (Botucatu-SP). Tem experiência na áreas de Células tronco, regeneração de tecido ósseo, Biofármaco, Farmacologia de produtos naturais e toxinas animais.



Sumário

11 Capítulo 1



Apicultura: biologia, comportamento, aspectos morfológicos, comunicação

35 Capítulo 2



Boas práticas e recomendações técnicas no campo, voltadas para segurança do apicultor e qualidade do produto.

48 Capítulo 3



Tecnologia da produção e do Processamento do Mel

56 Capítulo 4



Vidrarias Utilizadas em Laboratório para Análise de Mel

63 Capítulo 5

Noções de Segurança e boas práticas Laboratoriais

Sumário

130 Capítulo 6



Metodologia para Análise Microbiológica do Mel

175 Capítulo 7



Análise Físico- Química de Mel Conforme IN 11/2000

204 Capítulo 8



Análise Melissopalinologica

212 Capítulo 9



Interpretação de Resultados Análises de mel

227 Capítulo 10

Legislação:
Identidade e Qualidade de Mel

Apicultura

biologia, comportamento,
aspectos morfológicos,
comunicação



Apicultura: biologia, comportamento, aspectos morfológicos, comunicação

Convidado - Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Existem diversas definições para a área da Apicultura. Uma definição que expressa bem o que realmente representa a atividades que diz: “ramo da indústria animal que trata da criação racional da abelha *melífera*, do aproveitamento de seus produtos (mel, pólen, própolis, geleia real, cera e veneno) e da polinização por ela realizada” (Silva, 1985)

Além dos produtos citados, as abelhas contribuem para a sobrevivência do homem no campo, representando importante fonte de renda devido ao baixo custo do investimento inicial e ao retorno rápido do capital investido. É uma atividade que coloca o homem diretamente em contato com a natureza, tornando-o protetor do ambiente e fornecendo qualidade de vida ao apicultor e sua família. Mas, com relação as abelhas, este inseto social possui sua própria história no planeta, estando presente mesmo antes do surgimento do homem e possuindo estreita ligação com as plantas e suas flores. As abelhas representam um grupo originado de vespas, cerca de 70 milhões de anos, durante o período do Cretáceo. Este novo grupo surgiu por ter uma nova situação adaptativa, com o pólen das Angiospermas para servir de alimento proteico para as larvas e o néctar como alimento para fornecer a energia. As abelhas do gênero *Apis* possuem sua origem na Índia e regiões adjacentes. Já as abelhas *melíferas*, acredita-se que tenham sua origem na África.

Com relação à classificação Zoológica das abelhas, esta é baseada no método desenvolvido pelo naturalista Linneu (1707-1778), o qual atribuiu um nome científico para todas as espécies que ele descreveu. Tal nome consiste de dois vocábulos em latim, sendo o primeiro nome representando o gênero ao qual o organismo é classificado e, o segundo, representa a espécie.

Classificação Sistemática do Gênero *Apis*

Phylum: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordem: Hymenoptera

Família: Apidae

Gênero: *Apis*

Espécie: *mellifera L.*

Com base em estudos do DNA nuclear e mitocondrial são encontradas pelo menos 10 espécies de abelhas pertencentes ao gênero *Apis*: Abelhas gigantes (*A. dorsata*, *A. laboriosa*, *A. binghami* e *A. nigrocincta*) que constroem ninhos em locais abertos, compostos por um único ou poucos favos. Abelhas anãs (*A. florea* e *A. andreniformis*) que também constroem ninhos em locais abertos, geralmente formados por um único favo.

O homem desenvolve a atividade apícola a milhares de anos. Entretanto, o ano de 1851 é considerado o marco inaugural da apicultura técnica ou racional, pois nesse ano, o pastor norte americano Lourenzo L. Langstroth divulgou o seu invento: a colmeia Langstroth, que adotava o "espaço-abelha": 6-9mm.



Espaço abelha (Grupo NECTAR) 

Histórico da Apicultura no Brasil

No Brasil, as abelhas *Apis mellifera* foram introduzidas, provavelmente em 1839, pelo Padre Antônio Carneiro Aureliano, que mandou vir colmeias de Portugal (Porto) para o Rio de Janeiro. Em 1845, imigrantes europeus trouxeram para o sul do Brasil uma raça de abelhas pretas alemãs (*Apis mellifera mellifera*). Entre 1870-1880 foram levadas para o Rio Grande do Sul colmeias de abelha italiana (*A. mellifera ligustica*).

Em 1956, foram introduzidas no Estado de São Paulo, região de Piracicaba, as abelhas africanas *Apis mellifera scutellata* (identificada *adansonii* até 1984). Após a introdução da abelha africana, esta cruzou na natureza com outras subespécies aqui existentes (*Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica*, etc.), ocasionando o desaparecimento destas subespécies.

Atualmente, encontramos no Brasil, uma abelha com características morfológicas e comportamentais mais próximas às africanas, denominadas de "as abelhas africanizadas". Abelhas africanizadas são muito migradoras e não morrem por falta de alimento no local, sendo, atualmente, encontradas em praticamente todo o continente americano e que demonstra sua alta capacidade de migração.

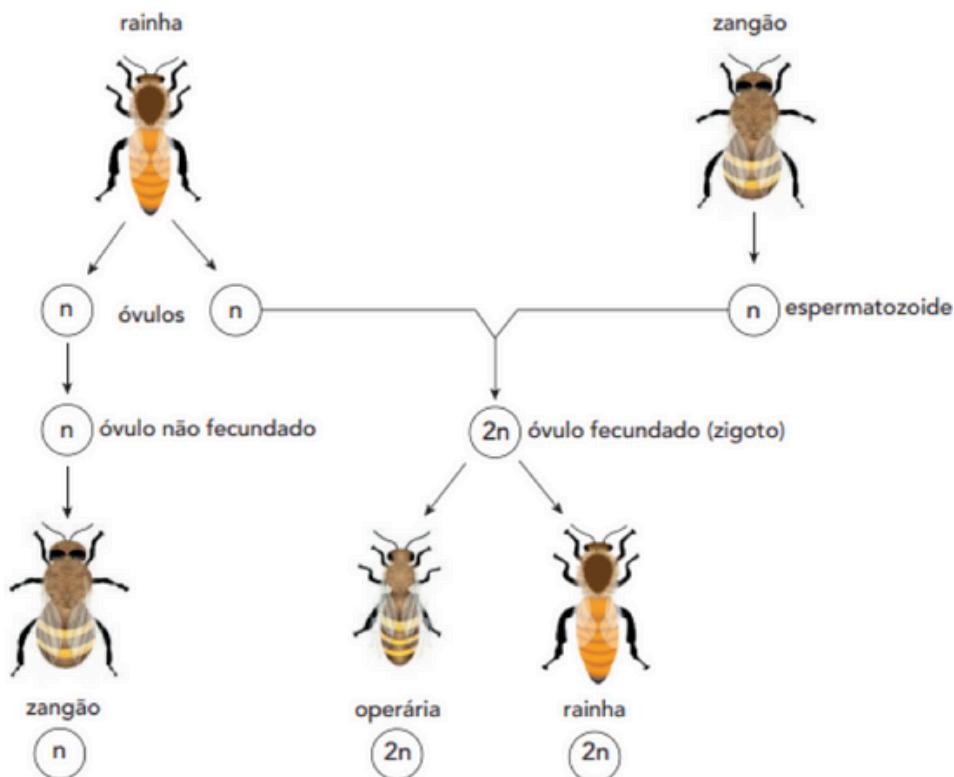


Vinda a abelhas do gênero *Apis* para o Brasil, em 1839



A vida social faz parte de uma minoria dos insetos e ocorre com grande variedade e complexidade. Os insetos que possuem estas características são denominados de eussociais.

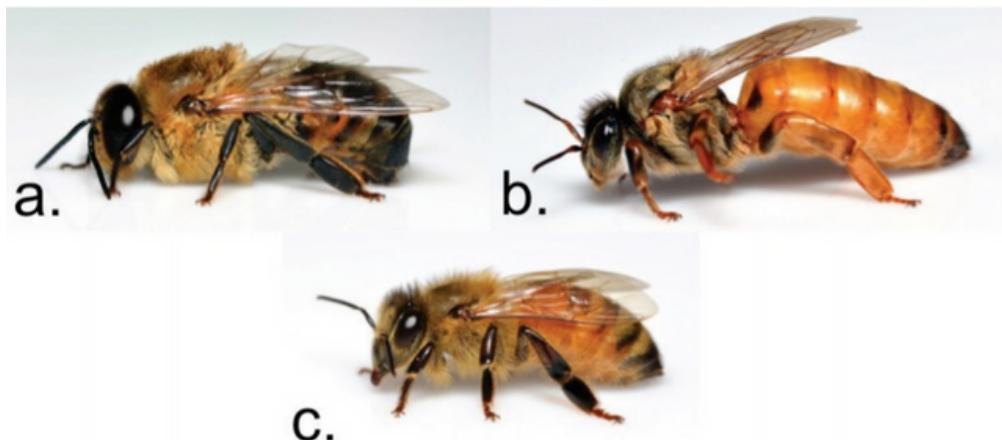
Nas abelhas *Apis mellifera* os machos (zangões) se desenvolvem de óvulos não fecundados enquanto as fêmeas (rainhas e operárias) se desenvolvem de ovos (óvulos fecundados por um espermatozóide). Desta forma, as abelhas são organismos haplo-diplóides e apresentam partenogênese arrenotoca (tipo de partenogênese que origina apenas indivíduos do sexo masculino). Os machos apresentam 16 cromossomos (haplóides) e as fêmeas 32 cromossomos (diplopoides).



Adaptado de brainly.com.br.

Diferenciação sexual em abelhas *Apis mellifera* (FONTE: <https://app.estuda.com/questoes/?id=8556183>)

A colmeia de *Apis mellifera* é dividida em castas, ou seja, diferentes grupos de indivíduos com funções específicas: rainha, operárias e zangões.



Indivíduos da colônia. Zangão (a), Rainha (b) e Operária (c) 
(Crédito: Mike Bentley, UF/IFAS)

O mecanismo básico de determinação das castas em *A. mellifera* é regulado pela quantidade e pela qualidade do alimento larval. Toda larva fêmea com menos de três dias de idade pode se desenvolver em operária ou rainha, dependendo da alimentação, fornecida pelas abelhas nutrizes. Entretanto, todos os indivíduos passam pelas mesmas fases do desenvolvimento larval, com diferenças no tempo necessário para o nascimento.

Postura do ovo ou óvulo → 3 dias → eclosão da larva, alimentação → 4 ecdises → células de cria operculadas pelas operárias → larva tece o Casulo → 1 ecdise → pré-pupa → pupa → desopercula → nascimento do adulto

A colônia pode ser constituída por 1 rainha (fêmea fecundada fertil), 0-400 zangões (geralmente 1% da população, quando o alimento é abundante) e de 2 mil a 80 mil operárias (fêmeas estéreis).



Presença da rainha ao centro da foto
(fêmea fértil). (FONTE: NECTAR)



Zangão (Fonte: Wikipédia)



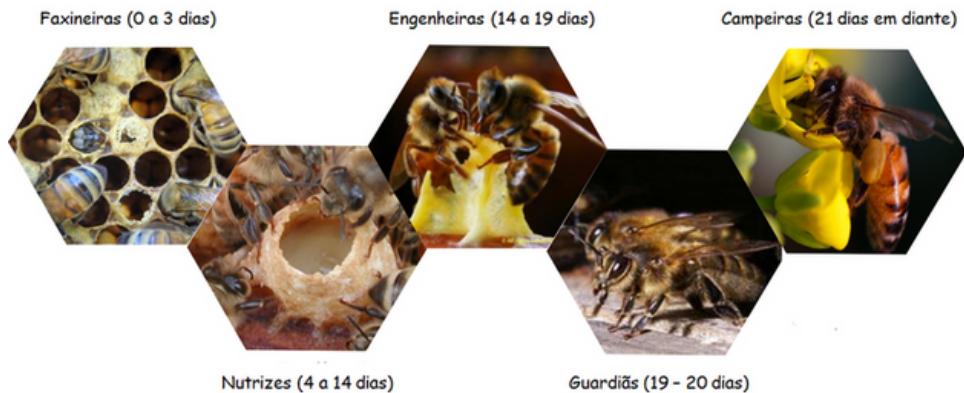
Operárias (Fonte: Wikipédia) 

A abelha rainha é a única fêmea dentro da colmeia com órgãos reprodutivos perfeitamente desenvolvidos. Como a colônia de *Apis* possui apenas uma rainha ovipositora, a primeira que emergir tenta destruir as outras quando ainda nas realeiras. Entretanto, quando duas nascem simultaneamente, se encontram e tentam matar uma à outra, até que por fim somente uma permaneça viva. A abelha rainha será alimentada durante toda sua vida adulta apenas com geleia real e possui uma longevidade média de três anos. Aproximadamente cinco dias após o nascimento, a rainha inicia os voos ao redor da colmeia, realizando em seguida seu voo nupcial. Acasala-se em pleno voo, com número variável de zangões e armazenamento dos espermatozoides em uma estrutura do seu aparato reprodutor denominada espermateca (reservatório de espermatozoides). Uma rainha africanizada deve pesar mais de 180 mg e, dependendo da florada há maior ou menor postura (2.000 ovos/dia). Desta forma, a principal função da rainha é a reprodução.

Por outro lado, a função do zangão é somente a reprodução, morrendo logo após a cópula. Não coleta alimento e atinge a maturidade sexual após o 12º dia. Vive em média 80 dias, caso não se acasale.

Já as abelhas operárias fazem todo o trabalho na colmeia, obedecendo a uma divisão de trabalho regulada pela idade fisiológica (desenvolvimento glandular) e pela necessidade da colônia. Operárias jovens trabalham dentro da colmeia realizando sua manutenção (limpeza, alimentação e construção) durante 2-3 semanas de vida e operárias mais velhas trabalham fora da colônia como campeiras.

As abelhas operárias vivem em médias 42 dias, podendo este período de tempo ser encurtado devido ao desgaste nas atividades de forrageamento, condições ambientais e contato com agrotóxicos.



Fases de trabalho da abelha operária (Fonte: adaptado de  <https://www.amigosdaterra.com.br/biologia/>)

A colônia de *Apis mellifera* é uma comunidade compacta e com membros altamente socializados e que não poderiam sobreviver sem a intercomunicação constante. As abelhas *Apis mellifera* L. são dotadas de um sistema de comunicação dos mais complexos e precisos entre os animais, sendo utilizados sinais químicos (feromônios e odores), mecânicos (danças) e sonoros (sons especiais). Em seguida, vamos entender as principais formas de comunicação das abelhas e algumas das atividades que elas desenvolvem para a manutenção da colônia.

Danças

O fato de que as abelhas dançam é conhecido há muito tempo, tendo sido referido na literatura desde Aristóteles. Todavia, o significado das danças foi sugerido pela primeira vez, em 1788, pelo reverendo Ernest Spitzner. Em 1920, a comunicação pelas abelhas por meio das danças foi confirmada por Karl von Frisch. As danças, para informação de fonte de alimento, podem ser classificadas em basicamente em dois tipos principais, relacionados com a distância da colônia a fonte de alimento. Se a fonte de alimento estiver muito perto da colmeia, até 100 metros, a operária campeira executa um movimento mais simples conhecido como “dança em círculo”. A dança consiste em 1 ou 2 inversões, podendo chegar até 20. As abelhas mais próximas são estimuladas pela dança, tocam com as antenas e tentam acompanhá-la.

A dançarina, a intervalos, interrompe a dança para oferecer a essas recrutas uma gota de néctar, para que estas memorizem o odor da fonte que devem procurar. O recrutamento é maior com a vivacidade, o vigor da dança e com sua duração.



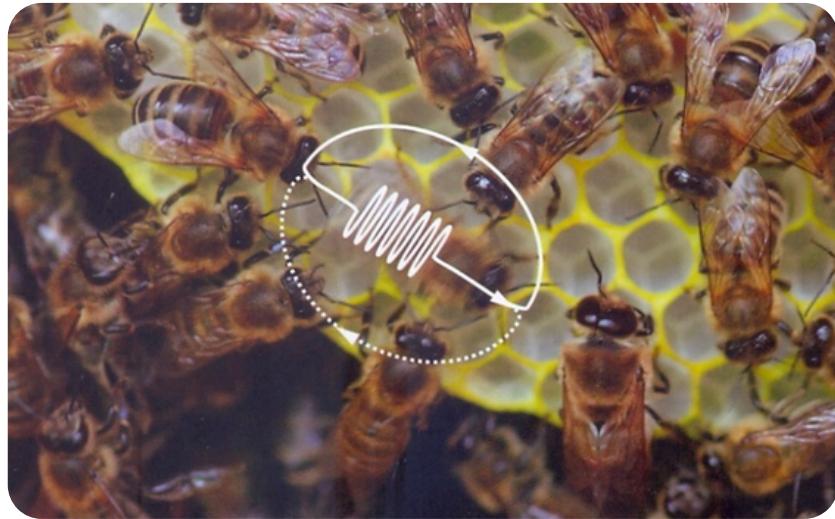
Dança circular (Fonte: Tautz, 2010). ☂

A dança realizada para a fonte de alimento distantes a mais de 100 metros da colmeia é a Requebrado ou Dança em Oito. Nessa dança, a abelha dançarina fornece informação sobre a direção e a distância da fonte.

Uma abelha orienta-se pela posição do sol no céu, isto é, pelo o ângulo formado entre sua própria rota de voo e uma linha horizontal da colmeia, na direção do sol. Para executar esta tipo de dança, na superfície vertical do favo, ela percorre uma pequena distância em linha reta, faz um semi círculo de volta ao começo, avança novamente em direção ao fim, e faz outro semicírculo em sentido contrário, repetindo o processo na sequência.

Quando a abelha executa a dança do requebrado, faz movimentos rítmicos com sacudidas do abdome, e a direção em que a dança é feita no favo vertical, em relação ao fio de prumo fornece um ângulo que corresponde exatamente ao ângulo formado entre o local da fonte de alimento (flor), a posição do sol no momento da dança e a localização da colmeia no terreno.

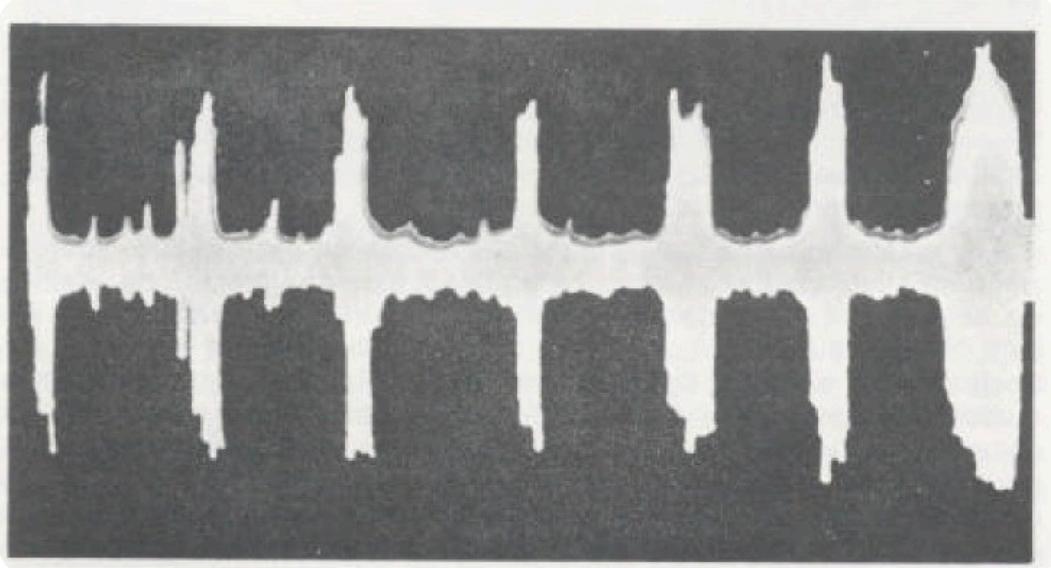
A medida que o sol se movimenta, a abelha realiza a correção do ângulo formado por meio de novas danças em outras direções, porém, exatamente de acordo com a alteração angular sofrida, devido ao movimento do Sol, e podem enxergar a posição deste mesmo em dias nublados, pelo fato de enxergarem na faixa da luz ultra-violeta.



Dança em requebrado (Fonte: Tautz, 2010). 

Sons

As abelhas produzem sons pela vibração das asas ou dos escleritos (placas duras) na base das asas ou de toda a superfície superior do corpo. Durante os movimentos de "requebrado" são criados sons de baixa freqüência de 250 ciclos por segundo. A abelha emite uma série de sons durante cada corrida em linha e a duração média de sons emitidos é diretamente proporcional à distância que a abelha tinha percorrido até a fonte de alimento.



Exemplo de sons emitidos pela *Apis mellifera* treinada a 200 metros da colmeia e registrados em oscilógrafo. Cada pico corresponde a uma dança completa, onde a abelha informa a distância do alimento (Fonte: Gonçalves, 1972).



Feromônios

É o principal meio de comunicação química dentro da colônia de *Apis mellifera*, sendo definidos como:

Exercendo influência no acasalamento, defesa, orientação, reconhecimento e integração das atividades da colônia; sendo responsável pela manutenção e pelo funcionamento de uma colônia, que apesar de ser constituída por milhares de indivíduos, opera como uma unidade coesa e eficiente.

Um grupo de substâncias biologicamente ativas excretadas para o exterior por um indivíduo e recebidas por um segundo indivíduo da mesma espécie no qual provocam uma reação específica, um dado comportamento ou processo de desenvolvimento.

Karlson & Lüscher (1959)



Na cabeça da rainha podem ser produzidos mais de 32 feromônios. Como exemplo, tem-se os feromônios ácido 9-oxo-2 decenóico (9-ODA) como a substância de rainha. Esse composto é produzido nas glândulas mandibulares e inibe a construção de realeiras, inibe o desenvolvimento ovariano em operárias e atrai os zangões no vôo de acasalamento.

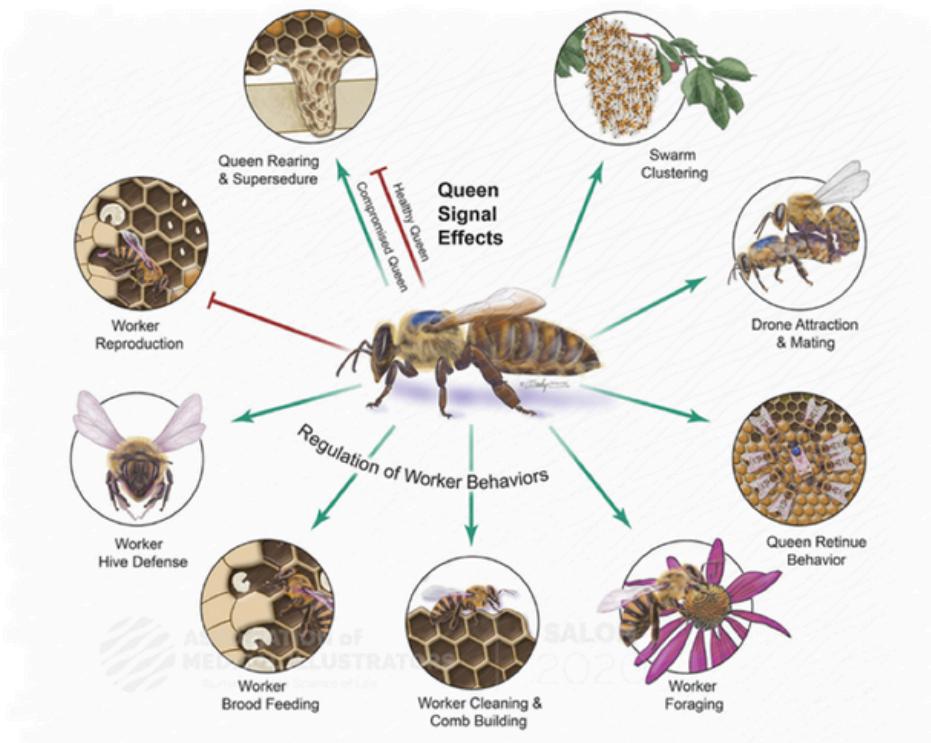
As glândulas mandibulares da rainha são fonte de outro feromônio: ácido 9-hidroxi-2 decenóico (9-HDA), que atua sinergicamente com o anterior para inibir a construção de realeiras pelas operárias.

- Ácido 9 oxo 2 decenóico
- Ácido 9 hidroxi 2 decenóico
- (S, E)-(+)-9-HDA
- Metilparabeno (HOB)
- 4-hidroxi-3-metoxi feniletanol (HVA)
- Oleato de metila
- Álcool coniferílico
- Álcool cetílico
- Ácido *a-linolênico*



**Feromônio da comitiva
rainha (QRP)**

Feromônio de Regulação de Comportamento emitidos pela rainha



Diversos efeitos dos feromônios liberados pela rainha

(Fonte: <https://meetingarchive.ami.org/2020/project/queen-honey-bee-pheromone-communication-and-effects-on-the-hive>)

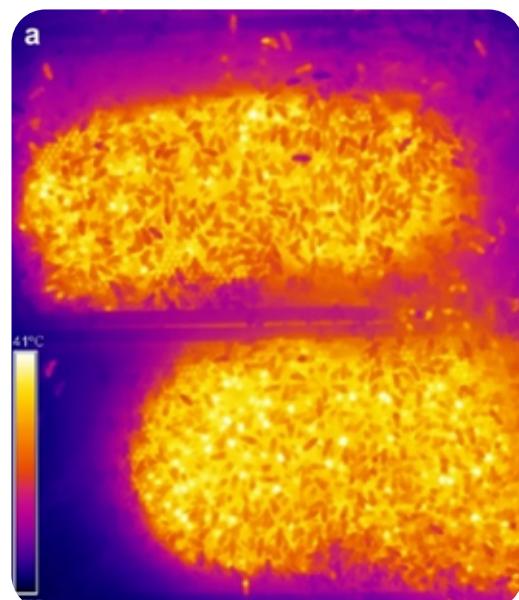
As operárias produzem pelas glândulas mandibulares o 2 heptanona, que é um feromônio de alarme, liberado quando estas mordem um possível invasor, alertando sobre sua presença para as demais abelhas. Este mecanismo defensivo é completado pela liberação do isopentilacetato (principal feromônio de alarme), produzido na Glândula de Veneno e liberado no momento da ferroada. As operárias possuem a glândula de Nassanoff ou de cheiro, que secreta geraniol, ácido nerólico, nerol, citral, entre outros, e esta mistura atua como um poderoso atrativo para as operárias e rainha . Para os zangões, suas glândulas mandibulares produzem feromônios que atuam na marcação dos locais de congregação de zangões. Com relação as atividades que a colônia desenvolve para sua sobrevivências, destacam-se os apresentados à seguir.

Controle de Temperatura Interna

As abelhas são atraídasumas pelas outras por meio da visão, vibração, calor e cheiro, formando um agrupamento dentro do ninho. Dentro deste microclima, elas constroem seus favos, cuidam da cria e estocam alimento, sendo capazes de regular a temperatura. As abelhas adultas e a cria produzem calor metabólico, sendo a temperatura na região da cria mantida entre 32° a 34°C. Com o aumento da temperatura, as abelhas se distanciam dos favos e algumas deixam o ninho e se agrupam fora, sendo comum, em dias ensolarados e quentes a presença de grande quantidade de abelhas no alvado ou logo abaixo deste. Com o aumento adicional da temperatura ambiente, as abelhas na entrado da colmeia viram-se para o interior, e abanando suas asas, produzem uma corrente de ar, que promove a saída do ar quente. As abelhas também esfriam a colônia evaporando água ou néctar diluído. Elas o fazem, espalhando diminutas gotas de água nas células promovendo a ventilação por abanamento e evaporação de água ocorre simultaneamente, retirando o calor. Por outro lado, com o começo do frio, as abelhas formam um agrupamento compacto, com as abelhas da periferia inertes e parcialmente esfriadas e aquelas do interior mais quentes e ativas. Há dois modos pelos quais as abelhas compensam um decréscimo na temperatura ambiental: por redução da perda de calor e por aumento da produção de calor.

A perda de calor pode ser diminuída pela contração do agrupamento, o que diminui sua superfície de esfriamento. Além disso, aumentam o consumo de alimento, aumentando o metabolismo e gerando calor, mantido pelo agrupamento.

- ◆ Zona de calor mantida pelo agrupamento das abelhas no interior do ninho. (Fonte: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00359-021-01464-8>)



Defesa da Colônia

O comportamento defensivo que as abelhas utilizam para a proteção da colônia é uma necessidade fundamental para a sua sobrevivência. A proteção é efetuada pelas abelhas guardiãs que ficam na entrada da colônia, pelo ferrão das abelhas operárias, principalmente as coletoras e guardiãs, e pelos feromônios de alarme que promovem respostas imediatas de defensividade da colônia.

O ferrão da operária é farpado, e quando ele é usado fica preso à pele da vítima, liberando feromônios de alarme (principal: isopentilacetato), levando a abelha à morte. As glândulas mandibulares produzem outro feromônio de alarme, o 2-heptanona. A defesa efetiva depende de um reconhecimento rápido do agente invasor. O principal meio de reconhecimento é o odor, embora outros fatores também possam estar envolvidos neste reconhecimento.



Ferrão com as farpas uma abelha operária. 
(Fonte: <https://primebees.com/2017/06/14/bee-biology-stinger>)

Coleta de Recursos

O tipo e a quantidade de alimento que deve ser coletado estão relacionados com a necessidade da colônia. A própolis é uma resina vegetal que as abelhas coletam na natureza, a modificam e utilizam na colmeia para vedar frestas, reduzir a entrada do alvado, higienizar os favos, manter unidas as partes móveis da colmeia e recobrir eventuais invasores mortos no interior da colmeia. Desta forma, quando necessário, as abelhas campeiras mais velhas, especializadas, realizam a coleta.



Coleta de própolis (Fonte: www.farmapi.com.br)



A água não é estocada nos favos, mas coletada quando necessário. É utilizada para a diluição dos estoques de mel para a alimentação das crias e para a redução da temperatura por meio de sua evaporação. A coleta de pólen é influenciada pelas necessidades da colônia, ou seja, necessidade de alimentação da cria. Embora a cria de todas as idades estimule a coleta de pólen, o estágio larval é mais efetivo. A quantidade de pólen coletada também é influenciada pelos estoques de pólen existentes no ninho.

O néctar é provavelmente coletado na ausência de uma necessidade especial de pólen, própolis ou água. A presença de cria e rainha estimula a coleta em geral, inclusive de néctar.

Bibliografia Consultada

ANDRÈS, I.M., MORENO, E.B., CASELLES, J.R. La apicultura Valenciana – Tradición y Aprovechamiento. Edita Generalitat Valenciana. 1993, 167p.
BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O.; DIB, A.P.S. Produção de pólen no Brasil. Editora Cabral. 2006. 100p.

BARRETO, L.M.R.C; PEÃO, G.F.R.; DIB, A.P.S. Higienização e Sanitização na produção apícola. Editora Cabral. 2006. 137p.

BERENBAUM, M.R., LIAO, L.H. Honey bees and environmental stress: toxicologic pathology of a superorganism. *Toxicol. Pathol.*, 2019.

BETTS, A .M. Practical Bee Anatomy. The Apis Club Benson, 1923. 88p.
BIGIO, G.; SCHÜRCH, R.; RATNIEKS, F.L.W. Hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae): effects of brood, food, and time of the year. *Journal of Economic Entomology*, v. 106, n. 6, p. 2280-2285, 2013.

BISCHOFF, H. Stammesgeschichte der Biene. In: Budel-Herold, Biene und Bienenzucht, pp.1-4, Ehrenwirth Verl., Munchen, 1960.

BLATT, J. and ROCES, F. Haemolymph sugar titers in foraging honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on metabolic rate and in vivo measurements of maximal rates of trehalose synthesis. *Journal of Experimental Biology*, v. 204, p. 2709–16, 2001.

BLATT, J. and ROCES, F. The control of the proventriculus in the honeybee (*Apis mellifera carnica* L.) I . A dynamic process influenced by food quality and quantity? *Journal of Insect Physiology* (in press) refers to: PII S0022-1910(02)00090-2, 2002.

BLUM, M.S. Alarm pheromones. *Ann. Ver. Entomol.*, v.14, p.57-80, 1969.

BLUM, M.S. and BRAND, J .N. Social insect pheromones: Their chemistry and function.

BOAVENTURA, M.C. Produção de Abelhas Rainhas pelo método de Enxertia. LK Editora e Comunicação. 2006. 140p.

BOCH, R. and SHEARER, D.A . Isopentyl acetate in stings of honeybees of different ages. *Journal of Apicultural Research*, v.5, p.65-70, 1966.

BOCH, R. and SHEARER, D.A Isopentyl acetate in stings of honeybees of different ages. *J. Apic. Res.*, v.5, p.65-70, 1966.

BOUCK, A.; VISION, T. The molecular ecologist's guide to expressed sequence tags. Mol. Ecol., v. 16, n.5, p. 907-924, mar. 2007.

BRAGA. A.S. Apicultura: o caminho para a cidadania. 1998, 270p.

BRANDÃO, A.L.S. & BOARETTO, M.A.C. Apicultura Atual – diversificação de produtos. Editora UESB, 1994. 150p.

BROWERS, E. V. M. Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. Journal of Apicultural Research, v. 21, n. 4, p. 193- 198, 1982.
BUTLER, C.G. The queen and the spirit of the hive. Proc. Royal Entomol. Soc. London, v.48, p.59-65,1973.

CALLOW, R.K. and JOHNSTON, N.C. The chemical constitution and synthesis of queen substances of honeybees. Bee World, v.41, p.152-3, 1960.

CALLOW, R.K.; CHAPMAN, J .R.; PATON, P.N. Pheromones of honeybee: chemical studies of the mandibular gland secretion of the queen. J. Apic. Res., v.3, p.77- 89, 1964.

CAMARGO, J.M.F. Manual de Apicultura. Editora Agronomica Ceres Lda., 1972. 252p.

CARANTÓN, O.A.M. Dinâmica reprodutiva e influência das áreas de congregação de zangões na africanização de *Apis mellifera* (APIDAE: APINI) no Brasil. 2006, 69 p. Tese (Mestrado em Genética) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

CARVALHO, C.A L.; BENTO, J.M.S.; MARCHI N, L.C. Feromônios de abelhas. Capítulo 10, p.83-92, 2001. In: Vilela, E.F. and Lucia, T.M.C. (org). Feromônios de Insetos. Editora Holos, 2001.

CHAUVIN, R. Traité de biologie de l'abeille, 1968. 2158p.

COSTA, P.S.C.; OLIVEIRA, J.S. Manual Prática de Criação de Abelhas. Aprenda Fácil Editora. 2005. 424p.

COSTA, R. A. C. and CRUZ-LANDIM, C. Occurrence and morphometry od hypopharyngeal glands in Scapt ot rigona postica Lat. J. Biosc., v.24, p.101- 6, 1999.

COUTO, RH.N. Manejo e produtos, FUNEP, 1996. 154p.

CRAI LSHEI M, K. Intestinal transport of sugars in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* v. 34, p. 839–45, 1988.

CRANE, E. O livro do mel. Ed. Nobel, 1983, 226p.

CRUZ-LANDI M, C. Evolution of the wax and scent glands in the Apidae (Hymenoptera, Apidae). *J. New York Entomol. Soc.*, v.71, p. 2-13, 1963.

CRUZ-LANDI M, C. Evolution of the wax and scent glands in the Apidae (Hymenoptera, Apidae). *Journal of New York Entomology Society*, v.71, p. 2- 13, 1963.

CRUZ-LANDI M, C. Histoquímica e ultra estrutura das glândulas salivares das abelhas (Hymenoptera, Apoidea). *Arquivos de Zoologia*, v. 17, p.113-66, 1968.CRUZ-LANDI M, C., HÖFLI NG, M.C.;

CRUZ-LANDI M, Glândulas exócrinas presentes nos adultos das abelhas sociais. Encontro brasileiro sobre biologia de abelhas e outros insetos. *Naturalia*, v.especial, p.79-84, 1992.

CRUZ-LANDIM, C. and MORAES, R.L.M.S. Ultrastructural localization of new exocrine glands in legs of social Apidae (Hymenoptera) workers. *J. Adv. Zool.*, v. 15, p.60-7, 1994.

CRUZ-LANDIM, C. and REGI NATO, R.D. Preliminar report on the presence of tegumentar glands in the thorax of Meliponinae bees (Hymenoptera, Apidae). *Rev. Bras. Biol.*, v.59, p. 167-72, 1999.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. *Bee World*, v. 77, n. 2, p. 67-70, 1996.

DOMINGOS, H. G. T.; GONÇALVES, L. S. Thermoregulation in bees with emphasis on *Apis mellifera*. *Acta Veterinaria Brasilica*, Rio Grande do Norte. Editora da Universidade Federal Rural do Semi-Arido - EdUFERSA. v.8, n.3, p.151-154, 2014.

DORNHAUS, A and CHITTKA, L. Why the honeybees dance? *Behav. Ecol. Sociobiol.* ., v.55, p. 395-40 1, 2004.

DOWSON, R.J. An introduction to the principles of neurophysiology. *Pesticide Science*, v.8, n.6, p. 651-660, 1977.

ESCH, H.; ZHANG, S.; SRI NAVASAN, M.; TAUTZ, J. Honeybees dances communicate distances measured by opt ic flow. *Nature*, v.411, p. 58 1-3, 2001.

FRANCO, A.C. and CRUZ-LANDI M, C. Ocorrência e morfologia de glândulas nas pernas de Centris e Epicharis (Hymenoptera, Anthophoridae). *Rev. Bras. Zool.*, v.2, p. 1-10, 1999.

FRANCOY, T.M. Variabilidade genético-morfológica em populações neotropicais de *Apis mellifera*. 2007.

FREE, J .B. Pheromones of social bees. Comstock, Ithaca, 1987. 218p.

FREE, J.B. A organização social das abelhas. Editora USP, 1980. 78p.

FRISCH, K. VON. The role of dance in recruiting bees to familiar sites. *Anim. Behav.*, v.16, p.531-3, 1968.

GARY, N.E. Chemical mating attractants in the queen honey bee. *Science*, v. 136, p.773- 4, 1962.

GONÇALVES, L.S. A study of orientation information given by one trained bee by dancing. *J. Apic. Res.*, v. 8, p.113-32, 1969.

GOULD, J .L. and GOULD, C.G. The honey bee. Scientific American Library. 1995. 239p. GOULD, J .L. The case for magnetic-field sensitivity in birds and bees. American.

GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.M. Introdução à genética. 6 ed. Tradução de P.A. Motta. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856 p., 1998.

GRÜTER, C.; LEADBEATER, E. Insights from insects about adaptive social information use. *Trends in ecology & evolution*, v. 29, n. 3, p. 177-184, 2014.

HUANG, Z.Y.; ROBINSON, G.E.; BORST, D.W. Physiological correlates of division of labor among similarly aged honey bees. *J. Comp. Physiol.*, v.174, p.731–39. 1994.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L., NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro, 2010.

IOIRICH, N. As abelhas, famacêuticas com asas. Ed. Moscovo, 1981. 217p. JEAN-PROST, P. Apiculture. Ed. J-B. Baillirre, 1979, 497p.

KEVAN, P.G. Texture sensitivity in the life of the honeybees, pp. 96-101. In: Neurobiology and behavior of honeybees (MENZEL R., MERCER A., Eds). Springer-Verlag, Berlin, Germany. 1987.

LAIDLAW JR, H.H. Criação contemporânea de rainhas. La Salle Editora, 1998. 216 p.

LENSKY, Y and CASSI ER, P. The alarm pheromones of queen and worker honey bees. Bee World, v.76, p.119-29, 1995.

LIMA, M.G. A Produção de própolis no Brasil. São Sebastião Editora e Gráfica. 2006. 120p.

LODESANI, M. Il miglioramento genetico della ape regina. Istituto Nazionale di Apicoltura – Bologna – Provincia di Siena. 2003. 437p.

LOPER, M.G., WOLF, W.W., TAYLOR, O.R. Honey bee drone flyways and congregation areas – Radar observations. J. Kansas Ent. Soc. V.65, p.223-30, 1992.

NOGUEIRA-NETO, P. Notas sobre a Apicultura Brasileira. In: CAMARGO, J.M.F. Manual de Apicultura. Capítulo 1, p.17-32, Ed. Agronômica Ceres, 1972.

PAGE JR, R.E.; PENG, C.Y.S. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. Exp. Gerontol., v. 36, n. 4, p. 695-711, 2001.

PAIVA, M.R. and MACEDO, J.N.P. Feromônios de Insetos. FUFPR, Curitiba, 1985. 84 p. PANKIW, T.; HUANG, Z.Y.; WESTON, M.L.; RIBISON, G.E. Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. Journal of Insect Physiology, v. 44, p. 685– 92, 1998.

PEREIRA, A.M.; CHAUD-NETTO, J. Africanized honeybees: biological characteristics, urban nesting behavior and accidents caused in Brazilian cities (Hymenoptera: Apidae). Sociobiology, v. 46, n. 3, p. 535-550, 2005.

RAVEN, P.H., EVERET, R.F., EICHHORN, S.E. Biologia Vegetal. Editora Guanabara Koogan. Sexta Edição. 2001, 906p.

RINDERER, T.E. and BEAMAN, L.D. Genetic control of honey bee dance language dialect. *Theor. Appl. Genet.*, v.91, p.727-32, 1995.

RUPPERT and BARNES. Zoologia dos Invertebrados. Ed. Roca, 1996.

RUTTNER, F. Le races d'abeilles. In: CHAUVIN, R. *Traité de Biologie de Labeille*.

RUTTNER, F. Systématique du genre Apis. In: CHAUVIN, R. *Traité de Biologie de Labeille*. Capítulo 1, p.2-26. Edit. Masson et Cie. 5v., 1968 (a).

SALLES, H. C. and GRACIOLI, L.F. Glândulas mandibulares. Cap4, p.71-89. In *Glândulas Exócrinas das Abelhas* (Ed. Cruz-Landim & Abdalla) Ed. FUNPEC, 2002.

SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE. Apicultura: uma oportunidade de negócio sustentável. Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas da Bahia – Sebrae Salvador, 2009.

SNODGRASS, R. E. Anatomy of the honey bee. Cornell University Press, London, 1978. 334p.

SPIVAK, M., MADER, E., VAUGHAN, M., JR., N.H.E. The plight of the bees. *Environmental Science & Technology*, v. 45, n. 1, p. 34–38, jan. 2011.

STABENTHEINER, A.; KOVAC, H.; BRODSCHNEIDER, R. Honeybee colony thermoregulation-regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PloS One*, Public Library of Science, v. 5, n. 1, p. e8967, 2010.

STORT, A.C. Genetic study of aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil.. I- Some tests to measure aggressiveness. *J. Apic. Res.*, v.13, p.33-8, 1974.

STORT, A.C. Estudo genético de caracteres morfológicos e suas relações com o comportamento de defesa de abelhas do gênero *Apis*. Tese de livre docência. UNESP, Rio Claro, 1979. 179p.

SUWANNAPONG, G., BENBOW, M., NIEH. J. Biology of Thai honey bees: natural history and threats, pp. 1-98. In: Bees: biology, threats and colonies (FLORIO R. M., Ed.). Nova Science Publishers, New York, USA. 2011.

TADEI, R., DOMINGUES, C.E.C., MALAQUIAS, J.B., CAMILO, E.V., MALASPINA, O., SILVA-ZACARIN, E.C.M. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. *Scientific Reports*, v. 9, e3277, 2019.

TAKENAKA, T.; MIWA, S.; ECHIGO; T. Changes of protein content and enzyme activity in hypopharyngel glands during lifespan of honeybees workers (*Apis mellifera* L.). *Bulletin of the Faculty of Agriculture*. Tanagawa University, n.30, p. 1-8, 1990.

VASCONCELLOS, A.C. Abelhas: A matemática dos alvéolos. Mensagem Doce, v.59, 2000.

WIESE, H. Manual de Apicultura. Livraria e Editora Agropecuária Ltda, 1995. 292p.

WINSTON, M.L. The biology of the honey bee. Cambridge: Harvard University Press, 1991.

Boas práticas e recomendações técnicas no campo

Voltadas para segurança do apicultor e qualidade do produto



Boas práticas e recomendações técnicas no campo, voltadas para segurança do apicultor e qualidade do produto.

Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Neste capítulo, vamos aprender sobre as Boas Práticas na atividade apícola, visando um produto de qualidade ao consumidor final. Quando se pensa em Boas Práticas, uma definição seria:

Boas práticas é uma expressão derivada do inglês best practice, a qual denomina técnicas identificadas como as melhores para realizar determinada tarefa. Fonte: Wikipédia

Assim, este conceito passa por vários fatores essenciais, desde a Avaliação de Riscos (AR) para a segurança no trabalho do apicultor até a forma adequada de colheita do mel para o transporte à Unidade de Processamento. Afinal, o que se deseja é uma matéria prima qualificada, neste caso, o mel.

Assim, a atividade da apicultura passar por vários processos e pode ser considerada uma atividade com diversos riscos. O primeiro ponto a ser discutido é a segurança de trabalho, com a finalidade de prevenção de riscos, visando a saúde do apicultor.

Assim, o apicultor deve avaliar os riscos que sua atividade oferece, de acordo com suas realidades e condições de trabalho (que podem variar) e, assim, avaliar os fatores de perigo que podem promover um dano à sua saúde.

Os objetivo de avaliar riscos na atividade são:

- Possibilidade de eliminação dos perigos;
- Medidas de prevenção ou de proteção que devem ser adotadas para controlar os riscos;
- Para isso, algumas etapas devem ser consideradas pelo apicultor.

ETAPA 1

O apicultor deve procurar identificar todos os possíveis perigos associados a uma situação e potenciais consequências.

O apicultor deve considerar cada aspecto do local de trabalho sejam eles recursos humanos, utensílios de trabalho, ambiente, produtos químicos, organização e processos de trabalho, dentre outros que achar necessário.

Os perigos identificados devem ser listados para evitar omissões decorrentes

ETAPA 2

O Apicultor deve procurar estimar os riscos sempre avaliando e os priorizando de acordo com suas atividades. Para isso, os riscos avaliados dependem de fatores como:

- Probabilidade do perigo acontecer
- Gravidade do impacto, caso ocorra
- Frequência e duração da exposição ao perigo
- População (número de pessoas expostas)

ETAPA 3

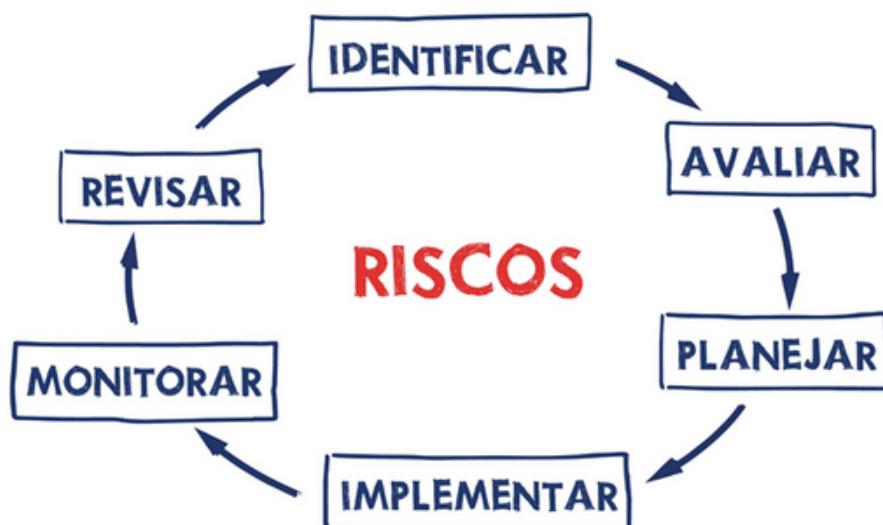
Nesta etapa o apicultor deve determinar as medidas de prevenção e proteção, de acordo com sua realidade, procurando reduzir ou eliminar possíveis riscos que possam provocar lesão ou acidentes, como capacitação técnica, monitoramento do comportamento nas atividades de rotina e uso adequado dos equipamentos de proteção individual, essencial para o bom manejo dos apiários.

Os principais riscos que o apicultor pode estar exposto são:

- Os riscos profissionais de natureza biológica, com destaque para as toxinas presentes no veneno das abelhas. Este risco pode passar desde uma reação local (com dor, vermelhidão, inchaço no local) até quadros mais severos como edema e reações sistêmicas (choque anafilático de início imediato e com potencial de morte). Por isso, o apicultor deve estar atento aos desconfortos das ferroadas durante o manejo dos apiários e, caso sejam mais severos, procurar tratamento ou medidas que minimizem os riscos.
- Os riscos de natureza física relacionam-se essencialmente com a propagação da energia nas suas diversas formas. Na atividade, destaca-se, principalmente, a temperatura (stress térmico) e umidade (ambiente muito húmido/seco). O apicultor deve estabelecer seu limite físico e capacidade de trabalho, para não extenuar seu organismo em condições de elevada temperatura e baixa umidade do ar. Estes pontos podem promover desmaios e oferecer sérios riscos durante os manejos.

- Os riscos de natureza química são perigosos e devem ser observados constantemente, principalmente nas atividades de envernizar o material e o material de combustão do fumegador, os quais podem promover intoxicações.
- Os fatores de risco profissional relativos à ergonomia são posturas ou posições corporais (extremas); aplicação de força (inadequada); repetitividade; ritmo de trabalho (intenso); monotonia; modelo organizacional de produção (horário, pausas, trabalho em linha). Estes pontos são fundamentais para a saúde do apicultor e podem promover graves lesões.
- Os riscos mecânicos encontram-se essencialmente relacionados com quedas em altura ou mesmo nível, choque, esmagamento, movimento em falso, entre outros. Por isso, o apicultor deve prever seus movimentos durante o manejo, observando muito bem os possíveis riscos do local onde seu apiário se encontra, bem como no transporte de material ou apiários.

Assim, o setor apícola apresenta múltiplas atividades até a obtenção de uma matéria prima qualificada, sendo extremamente importante para o apicultor a avaliação dos riscos que a atividade oferece.



Mapa de avaliação de riscos (Fonte: <https://www.verdeghaia.com.br/gerenciamento-de-riscos>)

Vamos, na sequência exemplificar os principais fatores de riscos associados à atividade.

Escolha do local para instalação do apiário

Apiário pode ser definido como um local onde o apicultor instala suas colmeias povoadas com o objetivo de produção. Para a escolha deste local, alguns pontos são essenciais:

- O local possuir bom pasto apícola, ou seja, recursos alimentares (néctar e pólen) que permitam a manutenção, desenvolvimento da colônia e produção.
- O apicultor, uma vez escolhido o local, deve se preocupar em preparar o terreno por meio de nivelamento, roçagem manual ou outras medidas que sejam necessárias.
- O apicultor deve sempre procurar manter a limpeza do apiário, evitando o acúmulo de mato sob as colmeias que podem abrigar animais peçonhentos e promover acidentes.
- O local deve ser o mais plano possível para evitar quedas, lesões musculares ou mesmo capotamento de veículos. Caso não seja possível, o apicultor deve traçar uma estratégia de trabalho para minimizar qualquer risco.
- O local deve apresentar fonte de água limpa e corrente para as abelhas, garantindo a qualidade da matéria prima (mel).
- O local deve estar distante (pelo menos 500 metros com barreiras) de movimentação de pessoas e animais. Deve ser lembrando que as abelhas africanizadas são conhecidas pelo seu alto comportamento defensivos e riscos de acidentes por múltiplas ferroadas. Neste caso, o apicultor deve evitar riscos à sua equipe e a terceiros.
- O local deve possuir sombra moderada, auxiliando no conforto térmico da colônia, essencial para boa produtividade.
- O local deve possuir uma barreira natural contra vento, principalmente em locais com histórico de vento forte. Este ponto é importante para as atividades de forrageamento das abelhas.
- O apicultor deve estar atento à inimigos naturais, como formigas, tatu e outros animais silvestres que podem “atacar” o apiário em busca de alimento. Caso isso ocorra, o apicultor deve procurar soluções adequadas para manter o equilíbrio natural.

- O apicultor deve estar atento aos riscos de uso de agrotóxicos em áreas vizinhas, que podem promover mortalidade imediata ou interferir nas atividades da colônia, afetando diretamente a produção e qualidade da matéria prima. Além disso, o apicultor deve estar atento a fábricas alimentícias, granjas, pocilgas, lixões, dentre outros, nas proximidades do apiário, que podem levar à contaminações do mel, desqualificando completamente sua comercialização.



Colmeias em cavaletes individuais. Observa-se controle de mato e sombra moderada (FONTE: NECTAR).

Além destes fatores, outros devem ser destacados:

- Manejo técnico adequado;
- Uso de Equipamentos de Segurança em boa conservação;
- Evitar horas excessivas de trabalho que possam levar à fadiga;
- Não realizar manobras com o transporte sem visibilidade;
- Manter sempre os equipamentos de trabalho conservados e adequados ao uso;
- Não exceder limites de velocidade com o transporte;
- Acondicionar a carga à ser transportada de forma adequada no veículo;
- Sempre se hidratar durante a atividade;
- Não entrar em contato com a parte quente do Fumegador;
- Prestar atenção aos detalhes estabelecidos que podem oferecer riscos.

A vestimenta do apicultor é outro ponto extremamente importante. Esta deve proteger o corpo todo do apicultor, possuir tamanho adequado (deve ser folgada), de cores claras, com luvas e botas resistentes. Deve-se lembrar que a vestimenta deve ser higienizada sempre que após e antes do uso, reduzindo riscos de transmitir doenças e contaminações no mel.

Embora com manchas devido ao manejo, ela deve ser higienizada semanalmente para realização dos trabalhos de campo.

O fumegador é um equipamento essencial ao manejo das colmeias, pois a fumaça reduz a defensividade as abelhas, tornando o trabalho do apicultor mais tranquilo e evitando alta mortalidade de abelhas. Para isso, o fumegador deve estar sempre em bom estado de conservação e o apicultor deve utilizar um material de combustão adequado (maravalha de madeira não tratada, casca de café, dentre outros). Lembrando que fumaça inadequada pode dificultar o trabalho, além de riscos de intoxicação das abelhas e do apicultor.



Fumegador em bom estado de conservação e maravalha de madeira não tratada (FONTE: NECTAR).

Procedimentos seguros no uso do fumegador:

- Transportar em caixa apropriada
- Acender e apagar em local seguro
- Manter o Fumegador sempre próximo durante o manejo
- Pegar o Fumegador de forma correta (não pegar pela tampa do tambor, pois este pode cair e derrubar a maravalha acesa – risco de incêndio)

Quanto ao manejo técnico das colmeias, visando a produção de mel de qualidade, alguns pontos devem ser observados pelo apicultor:

- Realizar o manejo em dias sem muito frio, sem chuvas e ventos. As condições climáticas são importantes, pois podem interferir diretamente no comportamento e comunicação das colônias, além de dificultar o manejo para o apicultor.
- Observar sempre a necessidade de trocas de quadros contendo cera velha no ninho, pois estes podem ser rejeitados para a postura, reduzindo a população da colônia e, consequentemente, a produtividade da mesma.



Quadro com cera velha (FONTE: NECTAR). 

- Avaliar a qualidade da rainha em termos de sua postura. Rainhas com idade avançada reduzem a postura, reduzindo a população da colônia e a produtividade da mesma.



Padrão de postura de uma rainha “nova” (FONTE: NECTAR). 

- Avaliar sempre a disponibilidade de recursos alimentares estocados no interior do ninho. Este ponto é importante para o apicultor traçar estratégicas de alimentação artificial (proteica ou energética) para manter as colônias em épocas de escassez ou para estimular seu crescimento no manejo pré-florada. Entretanto, caso o apicultor faça a alimentação
- Artificial energética pré-florada, com o objetivo de desenvolver sua colônia, este deve remover a fonte energética (xarope de açúcar, glucose de milho, garapa da cana-de-açúcar, ou outra fonte) cerca de sete dias antes de adicionar as melgueiras, pois pode ocorrer contaminação do mel (originado do néctar das flores), correndo o risco da produção ser rejeitada e desqualificada para comercialização.
- O apicultor deve estar atento a possíveis pragas e doenças no seu apiário e tomar medidas necessárias. Deve-se lembrar que as abelhas africanizadas possuem alto comportamento higiênico e medidas de manejo e melhoramento genético são eficientes, desde que realizadas de forma correta. O apicultor deve notificar o Órgão de fiscalização de seu Estado para isso. O apicultor deve evitar o uso de produtos químicos para controle, pois estes geralmente deixar resíduos que contaminam o mel e desqualificam a matéria prima.

O apicultor deve sempre procurar fornecer boa nutrição às suas colônias, pois se enfraquecidas pode abandonar o ninho e mesmo favorecer o aparecimento de pragas, como a traça da cera.

Quanto a colheita do mel, o apicultor deve tomar algumas providências.

Não trabalhar sozinho

- Apiários em locais isolados e muitas vezes de difícil acesso
- Riscos de acidentes
- Animais peçonhentos
- Quedas
- Ferroadas
- Esforço físico

Realizar manejo cuidadoso nas colônias

- Manejo com calma
- Sem movimentos bruscos
- Aproximação pela lateral da colmeia

Seleção dos quadros

- Coletar o quadro com mel operculado (80-90%)
- Nunca colocar peças da colmeias, principalmente, melgueira, quadros tela excluidora no chão



Quadro contendo favo totalmente (100%) operculado (FONTE:  NECTAR).

O apicultor deve evitar coletar quadros contendo favos com a presença de muito mel não operculado (mel verde), pois isso pode interferir na umidade final da matéria prima.



Quadro contendo favo com mel operculado (maduro) e não operculado (verde) (FONTE: NECTAR).

O apicultor NÃO deve coletar em nenhuma hipótese, quadros contendo favo com cria (pelo não uso de tela excludora de rainhas entre o ninho e a melgueira). Crias misturadas ao mel são fortes pontos de contaminação do produto.



Quadro contendo favo com a presença de postura (FONTE: NECTAR).

Com relação ao uso do fumegador, na colheita do mel, o apicultor deve ficar muito atento ao manejo correto deste. O excesso de fumaça sobre a melgueira pode fazer com que o mel absorva o odor e fique com um sabor desagradável para consumo. O apicultor deve estar atento também a qualidade da fumaça, pois esta pode “jogar” fuligem e ser um ponto de contaminação da produção. Outro ponto que o apicultor deve observar é não colocar os quadros ou as melgueiras com os quadros diretamente no chão. Esta atitude pode fazer com que ocorra contaminação da produção, com a entrada de mato e poeira, além de outros contaminantes do ambiente. Além disso, o apicultor deve evitar ao máximo deixar a produção colhida exposta no apiário; este fato pode ocasionar “pilhagem” pelas abelhas de outras colônias e promover alta mortalidade, além de dificultar extremamente o trabalho.



Colheita dos quadros contendo favo de mel e acondicionamento em melgueiras sobre cavalete (FONTE: NECTAR).

Uma vez colhida a produção de mel, o meio de transporte desta até a Unidade de Beneficiamento é tão importante quanto as demais precauções. Assim, o meio de transporte deve ser adequado (dimensionado com a necessidade de transporte da produção), higienizado para este fim e com a correnteira coberta com lona plástica (utilizada apenas para esta finalidade), evitando o contato diretamente com o piso da carroceria.

Após o acondicionamento correto da carga, esta deve ser coberta com a lona, evitando assim que durante o transporte, possa ocorrer contaminação com poeira ou outros contaminantes, no caso de compartimentos abertos. Uma vez preparada a carga, o transporte deve ser imediato, sem interrupções ou retardos que possam expor a matéria prima às condições ambientais inadequadas. Desta forma, sempre que se deseja uma matéria prima qualificada para a Indústria e segurança alimentar, não se deve esquecer que o começo é no comportamento e profissionalização do apicultor.

- Planejar a segurança e avaliar riscos;
- Traçar estratégias para redução ou eliminação de riscos;
- Aprimorar conhecimentos técnicos;
- Realizar manejo adequados com equipamentos adequados;
- Realizar a colheita da produção com planejamento;
- Realizar o transporte preservando a qualidade do produto.

Não haverá um bom produto, se o mesmo for fabricado com matéria-prima desqualificada.

Bibliografia Consultada

EPAGRI. Manejo integrado na apicultura. 2018. 16p.

MATOS, E.J.A.; SANTOS, H.C.; SILVA, E.M.S.; CORREIA, R.C. Boas Práticas do manejo apícola. Universidade Federal do Vale do São Francisco. 2014. 20p.

PINTO, W.S.; SOUZA, L.F.A. Boas práticas na colheita e beneficiamento do mel de abelhas Apis. Edufra. 2018. 34p.

PIRES, S.; MARTINS, V.; IGREJAS, G.; COELHO, J.P.; MACHADO, A.L.; PEREIRA, A.P.; NUNES, S. Beekeeper Safety. IPB – Instituto Politécnico de Bragança, 2022. 262p.

SEBRAE. Manual de Segurança e Qualidade para a Apicultura. 2009. 88p.

Tecnologia da produção e do processamento de mel



Tecnologia da produção e do Processamento do Mel

Lídia Maria Ruv Carelli Barreto

Avaliando-se as rotinas do apicultor , é de fundamental importancia que os diversos ciclos produtivos, se repitam de maneira virtuosa a cada período. A idéia de inserir um curto capitulo no contexto de produção, é tentar passar uma rotina desejada para todos os produtores brasileiros, se ainda não apresentam os protocolos abaixo, estabeleça como meta a ser atingida e, para os produtores que já alcançaram as tais metas, nossos parabéns. Continue assim, sendo exemplo e cada vez mais um orgulho para profissionalização da atividade no país.

Como qualquer empresa bem administrada existe alguns controle que o produtor deve construir sendo eles:

Avaliação das unidades de produção

Sejam quantas unidades apícolas forem, os registros facilitam em calculos de rendimentos produtivos, sanitários, vocação biológica dos enxames, durabilidade dos materiais e equipamentos e principalmente nos registros das boas práticas de produção e do processamento.

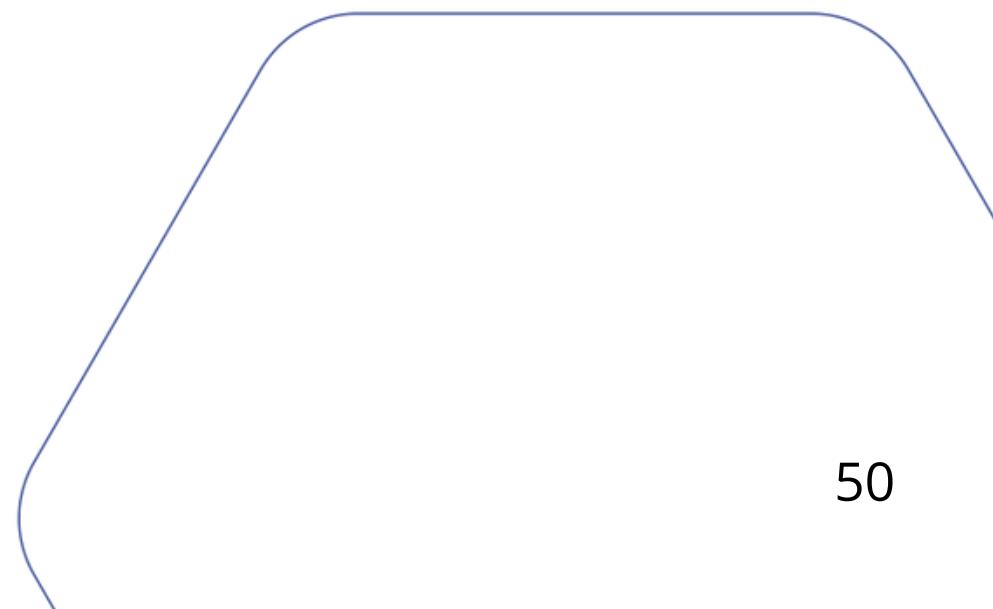
Checklist Geral:

Itens de atenção	Apiário 1	Apiário 2	Apiário 3	Quando executar a ação
Numero de colmeias por apiário?				
Condições Ergométricas dos cavaletes				
Condições físicas das colmeias?				
Situação dos enxames?				
Troca anual de rainhas?				
Troca anual de 6-8 quadro cera no ninho?				
Alimentação				
Manutenção das peças formadora da colméia				
Telhados				
Capina Manual de mato - mensal				

Ações ao longo do ano

Cronograma de Atividades Suporte para o Apiário:

Itens de atenção	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Aramação de Quadros												
Incrustação de cera												
Extração de cera												
Limpeza de quadros e outros												
Limpeza de colmeias												
Preparo de alimento												
Manutenção de ferramentas												
Organização do deposito de materiais												
Impermeabilização das colmeias												
Manutenção material de campo												
Lavagem dos EPI'S												
Limpeza do Fumegador												
Permuta de cera bruta por alveolada												
Higienização alimentadores												
Numeração das colmeias												
Preparo de Melgueiras												



Cronograma de Atividades no Apiário:

Itens de atenção	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Implantação de um apiário de apoio/quarentena												
Implant. apiário produção												
Transferências dos enxames para apiário												
Implantação registro geral (RG) dos Enxames												
Revisão dos Enxames												
Substituição / introdução de cera alveolada												
Correção de enxames contendo cortiços												
Remoção excesso quadros de alimento dos ninhos												
Divisão de Famílias												
União de Famílias												
Controle de Zanganeiras												
Alimentação Energética												
Alimentação Proteica												
Desenvolvimento dos Enxames -frequencia												
Equalização dos Enxames												
Substituição de rainha												
Controle do mato												
Redução do Alvado												
Redução Favos vazios												
Abertura de Alvado												
Levantamento Sanitário												
Comportamento Higiênico%												
Controle de traça												
Numeração das colméias												
Nivelamento dos cavaletes												
Instalação de Tela excludora												
Instalação de Melgueira												
Manejo Pré-Florada												
Manejo Florada												
Manejo Pós Florada												
Captura de enxames (eventual)												

Gerenciamento das Colônias

O controle dos enxames é feito a partir do preenchimento da Planilha Zootécnica, este registro é essencial, pois permitirá analisar as condições dos enxames caso a caso e planejar melhorias individuais e coletivas para o apiário, bem como selecionar colmeias mais produtivas para a próxima safra. Outra questão são as possibilidades de se prever, manutenção das colmeias cavaletes e telhados, as necessidades de renovação ou complementação de quadros com cera alveolada, desempenho da rainha, aspectos sanitários de cada enxame. Tais anotações serão estratégicas para o planejamento da próxima visita ao apiário bem como futuros aportes financeiros nas próximas etapas de manejo.

Planilha Zootécnica.

Data / /

NUM. Número da colmeia, QTT número total de quadros no ninho, QVE número de quadros velhos ou deformados (cortiço), QL número de quadros de lâminas ou cera alveolada , QVZ número de quadros vazios, QAL número de quadros contendo somente alimento (mel /pólen), Qcr número de quadros de crias POST condições da postura da rainha, MELG Presença/ Ausência de melgueira, se presente, número e condições dos quadros, contendo mel e vazios, OBS observações das necessidades imediatas/oportunas dos enxames.

Princípios básicos sobre o que se está produzindo:

Definição de Mel:

Segundo O regulamento técnico de identidade e qualidade do mel N°11/2000-MAPA: Entende-se por mel, o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia.

Acontece que da “flor ao consumidor” esse produto passa por um longo caminho dessa maneira se faz necessarias algumas reflexões:

Do campo à Unidade de extração de mel

- A localização dos apiários podem valorizar, seu produto, sendo saudavel, organico, com um raio de seguraça distante de fabricas e outros possiveis contaminantes (3km);
- Terrenos de instalação dos apiários com alta incidência de poeira (alteração nos indices de minerais e sólidos insolúveis em água: máximo 0,1 g/100 g. acima do preconizado pela legislação e dejetos animal (contaminhações microbiologicas);
- Excesso na aplicação de fumaça ou diretamente nos favos de mel adicionando sabor e aroma de fumaça ao produto;
- Poeiras e fuligem contribuie com deposito de residuos de origem mineral, tornando o produto inconforme pelo excesso de sujeira-detectado nas analises de sólidos insoluveis residuo limitado ao máximo 0,1 g/100 g. e excedendo os limites de minerais máximo nos indices 0,6 g/100 g.;
- Roupa “EPI’S”, formões, sujos, odor não conforme;
- Recipiente de transporte dos favos contaminados;
- Veiculos e lonas, com mal cheiro;
- Velocidade do veiculo de transporte; lombadas
- Horário da colheita e duração do transporte, desoperculação e centrifugação;
- Tempo para desoperculação, e período de chuva, lembrando que os operculos, porosos como são, trocam umidade com o ambiente, portanto quanto mais demora, mais umidade o mel poderá absorver, comprometendo os limites de umidade preconizados pela legislação (até 20%);

- Destacando-se tambem que os equipamentos envolvidos no processamento do mel devem necessariamente estar limpos e higienizados corretamente , para não adicionar umidade, sujidades, contaminantes, físico, químicos e biológicos ao produto em manipulação;
- O binomio tempo temperatura também deve ser levado em conta , desde o horário de colheita do mel, transporte, de processamento e principalmente do armazenamento, evitando as famosas Reações de Maillard, ou seja, o acumulo do hidroxidometilfurfural, conhecido por HMF, com limites de até no máximo de 60 mg/kg permitidos pela legislação brasileira.

Após o período de produção , segue-se o período de colheita do mel e para que tudo saia corretamente sugerimos outros registros como segue:

Protocolo para o Setor de Centrifugação de Mel

- Lavagem de teto, paredes,janelas e bancadas
- Lavagem dos equipamentos que o mel manterá contato instantaneo (mesa desoperculadora, centrifuga, peneiras ou duradouro decantadores e baldes
- Lavagem por ultimo o chão e os paletes

**Produtos a serem utilizados: detergente neutro , cloro (1 parte de cloro para 9 de água), alcool 70%, este processo deve ser feito com uma semana de antecedencia para que ao iniciar as operações , todos o ambiente, equipamentos e instrumental estejam secos.*

Preparo para Colheita de Mel

- Elaborar uma lista com todos os itens necessários para levar na colheita
- Limpeza do veiculo que irá transportar as melgueiras
- Limpeza da lona que servirá para empacotar as melgueiras para o transporte
- Higienização de formão, macaão, luvas, botas,
- Use burrificador com alcool para eventual higienização de mãos e formões
- No fumegador evite material com odor desagradável ou com cheiro forte, use, se possivel, folhas de eucalipto, cidreira, hortelã e outros vegetais com aroma agradavel

Protocolo Durante a Colheita de Mel

- Escolha se possivel, horários com temperaturas amenas e agradável, nunca em período de chuva ou com sol extremo
- Uso de fumaça indireta, nas laterais da melgueira, nunca internamente
- Nunca direcionar a fumaça para os favos com mel
- Ao tossir devie sempre dos favos com mel

- Escolher os favos com no mínimo 80% de operculação
- Ao depositar a melgueira ou o sobreninho no veículo use uma tampa na base da primeira melgueira e outra no final do empilhamento das melgueiras
- O deslocamento para o local de beneficiamento não deve prever paradas, com velocidade compatível a evitar formação de poeira, quebra de favo em possíveis pancadas nas estradas sem manutenção
- Utilize uma planilha simplificada para registros de quantas melgueiras foram retiradas de cada colmeia, tendo em vista o ranqueamento de suas colmeias mais produtivas e futuras matrizess

Protocolo Durante o Processamento do Mel

- Descarregar as melgueiras na recepção de sua unidade de processamento
- Internamente tenha uma equipe para realizar todas as ações
- manusear as melgueiras, desopercular e centrifugar quadros, peneirar, tranfereir mel para os decantadores etc.
- O mel deverá ser decantado se possível por 48hs e a seguir poderá ser depositado em tambores , baldes ou fracionados
- Ao concluir o processamento que poderá se realizar sequencialmente por 1-2 semanas. higienize novamente, teto (exceto se o mel estiver presente no decantador na mesma sala), paredes mesa desoperculadora, centrifuga, garfos, pisos e paletes com cloro diluido em agua (9;1), detergente e alcool 70%.

Bibliografia Consultada

BARRETO, L. M. R. C. Tecnologia da produção e do processamento apícola / Taubaté: UNITAU, 2014.86p.: il.

BARRETO, L.M.R.C; PEÃO, G.F.R.; DIB, A.P.S. Higienização e Sanitização na produção apícola. Editora Cabral. 2006. 137p.

COUTO,R.H.N;COUTO,L.A.Apicultura: Manejo e produtos. 2 . ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002.191p.

ECKSCHIMIDT,T.;MORITA,S.S.; BUSO,G. Mel rastreado transformando o setor apícola1.ed.Livraria Varaela,2012. 99p.

Conhecendo os materiais

Vidrarias, equipamentos para instalação de um laboratório de análises de mel.



Vidrarias Utilizadas em Laboratório para Análise de Mel

Lidia Maria Ruv Carelli Barreto

1. Balões Volumétricos

Conhecidos como balões aferidores, são frascos de fundo chato, piriforme, com colo longo e estreito.

Um traço de referência em torno do colo indicando o volume encerrado pelo balão a uma certa temperatura. Exemplo: 25°C. Deve possuir boca esmerilhada e rolhas intercambiáveis (vidro ou plástico).

2. Pipetas

2.1 - Pipetas volumétricas ou de transferência

Constituída por um corpo cilíndrico, e centralmente um bulbo de proteção. Na extremidade superior está gravado um traço de calibração (succção) enquanto o inferior tem uma ponta fina estirada.

Utilização:

- Usar pipetador ou pera de borracha.
- Lavar a pipeta com um pouco de líquido a ser transferido.
- Pipetar o líquido até cerca de 1 a 2cm acima do traço de calibração.
- Remover líquido aderente externamente a pipeta.
- Escorrer o líquido verticalmente a até o menisco removendo ainda gotas aderentes externamente ao vidro.
- Transferir o líquido com a ponta da pipeta encostada à parte do frasco até o encontro total da mesma. Não remover por sopro o líquido remanescente.

2.2 - Pipetas graduada ou de medida

Não são indicadas para trabalhos de maior exatidão. Usadas para descarga de volumes variáveis. São constituídas por um tubo de vidro reto, estreito, sem bulbo mediano. Pipetas que descarregam um volume conhecido desde um traço de graduação até a ponta, ou seja, a zero, o final do líquido que fica na ponta deve ser expelido, estas pipetas são identificadas por um anel branco, próximo ao topo da pipeta.

3.Bureta

São tubos cilíndricos, terminado na parte inferior por uma torneira e uma ponta de descarga. Muito comum seu uso em titulações.

Modo operacional

- Lave a superfície da bureta (superfície interna) com 10ml de solução a ser usada, inclinado e girando a bureta.
- Descarregar o líquido pela torneira (repetir o processo).
- Presa verticalmente no suporte, coloque um funil para encher a bureta; sempre um nível pouco acima da divisão zero.
- Remover o funil e descarregar o líquido pela torneira até o ponto mais baixo do menisco na marca zero. Verificar se a parte da bureta não contém bolha de ar.
- Iniciar os trabalhos e leituras.
- Qualquer gota suspensa na ponta da bureta depois da descarga do líquido será removida encostando a parte interna do frasco receptor à ponta.
- Aumente a descarga do líquido; o frasco receptor deve ser suavemente agitado pelo movimento rotativo da mão direita; para uma completa mistura entre o líquido adicionado e o conteúdo inicial do frasco.

4.Provetas

São frascos cilíndricos e graduados, a exatidão não é muito grande e por isso não podem ser empregadas em trabalhos que exigem moderado grau de exatidão. São úteis quando se quer uma medição apenas aproximada.

5.Béquer (Becher, Beker – plural bequeres)

Aplicação variada

Vantagens:

- Comodidade na transferência de líquidos.
- Oferece conformação adequada para passar um bastão de agitação.
- Oferece passagem de vapor d'água quando estiver coberto por um vidro de relógio. Nunca deve ser usado para medição de volume exato.

6.Frasco Erlenmeyer

Aplicação variada, conveniente para titulações, filtrações, frações intermediárias. Nunca deve ser usado para medição de volume exato.

7.Funis

Utilizados na análise quantitativa; são essenciais na filtragem. Auxilia no transvaze de líquidos para outros frascos.

8.Desseccador

Usado na secagem de sólidos que se decompõe, com a ação do calor graças a presença de substância higroscópica no interior do recipiente (silica).

9.Cadinho

Dispositivo usado para fundir substâncias e misturas – altas temperaturas.

10.Cápsula de Porcelana

Para evaporação e secagens, podem ser levadas ao fogo sobre tela de amianto ou em estufas.

11.Vidro de Relógio

- Tampar copo Béquer
- Evaporar líquidos
- Reações em pequena escala

12.Bico de Bunsen

Producem chama uniforme

13.Almofariz com Pistilo

Triturar sólidos em pequena escala

14.Tela de Amianto

Colocada sobre um tripé, difunde o calor uniformemente ao objeto que estiver sobre ela.

15.Frascos Lavadores ou Pissetas

Normalmente contêm líquidos usados na preparação de soluções (água destilada), limpezas (Éter). Podem ser de sopro ou de pressão.

Pranchas dos Itens Labororiais



Itens de laboratorio para analise de mel (FONTE).



Itens de laboratorio para analise de mel (FONTE).

Lavagem de Vidrarias

O desempenho da prática laboratorial depende da máxima limpeza dos utensílios usados. A limpeza deve ser sempre feita após utilização da vidraria evitando limpeza momentos antes de se realizar as análises. Após a limpeza guardar toda vidraria em local adequado, livre de poeiras ou qualquer coisa que comprometa a limpeza feita. Conceito de limpeza varia conforme o trabalho a ser desenvolvido. Porém em todos os casos, a vidraria deve estar fisicamente limpa, na maioria dos casos deve estar quimicamente limpa, e em muitos casos deve estar bacteriologicamente limpa e esterilizada.

Verificação da limpeza de um frasco de vidro

Enchê-lo com água destilada, dispensar a água. O resíduo da água que permanecer no frasco deverá formar uma película contínua. Se ocorrer formação de gotículas o frasco está sujo. Se a lavagem completa não foi possível logo após a utilização, colocá-la de molho em água para evitar ressecamento de resíduos.

Vidrarias Novas

São levemente alcalinas, portanto devem ser colocadas de molho por algumas horas em solução ácida (sol. Ac. Clorídrico 1%) antes de serem lavados. Se a vidraria ficar embaçada ou contiver material orgânico coagulado, use solução sulfocrômica ou dicromato de sódio.

Preparo de sulfocrômica

- 20gr sal pia ou comercial (mais barato) - Água destilada suficiente para transformar o sal em pasta.
- 300ml de ácido sulfurico – adicionado lentamente à pasta transferir a solução para um frasco (de vidro) com tampa. Para limpeza, utiliza-se a solução sobressalente clara até que a mesma fique uma coloração esverdeada.

Reagente desengordurante

100gr de hidróxido de potássio - para 1 litro 50ml de água, após resfriamento completa-se o volume com álcool metílico. Ao lavar a vidraria pode-se usar sabão ou pó de limpeza (com ou sem abrasivo). Detergentes de uso doméstico, podem ser empregados na limpeza na maioria das vezes. A água, preferencialmente, deve estar quente (45-50°C). Para alguns tipos de análises, uma limpeza específica é requerida. Exemplo: determinação de minerais (fósforo) – alguns fornecedores oferecem detergentes isentos de minerais.

Cuidado!

Os abrasivos usados na limpeza não devem riscar o vidro pois os mesmos tornam-se mais propensos à quebra durante o uso. Qualquer marca na superfície uniforme do vidro é um ponto de quebra em potencial, especialmente se ele é aquecido.

Todo vidro deve ser esfregado em todas as partes por uma escova. Isto significa que um jogo completo de escovas deve estar sempre à mão. Não permitir que ácidos entrem em contato com o recipiente recém lavado antes de enxaguá-lo muito bem e se certificar de que o sabão foi totalmente removido. Se isto ocorrer uma camada graxa poderá se formar.

Enxague de Vidraria

Deixar o vidro em água corrente por um determinado período. A seguir, encher parcialmente os frascos com água, agitar bem e esvaziar, por pelo menos seis vezes. Pipetas e buretas a melhor maneira é utilizando recipientes de água corrente próprios. O último enxágüe deve ser feito em água destilada.

Bibliografia Consultada

BARRETO, L. M. R. C. Técnica e instrumental científico / Taubaté: UNITAU, 2010. 20p.: il.

Noções de segurança e boas práticas laboratoriais



Noções de Segurança e boas práticas Laboratoriais

Patrícia Rodrigues Orsi

1. Noções de segurança

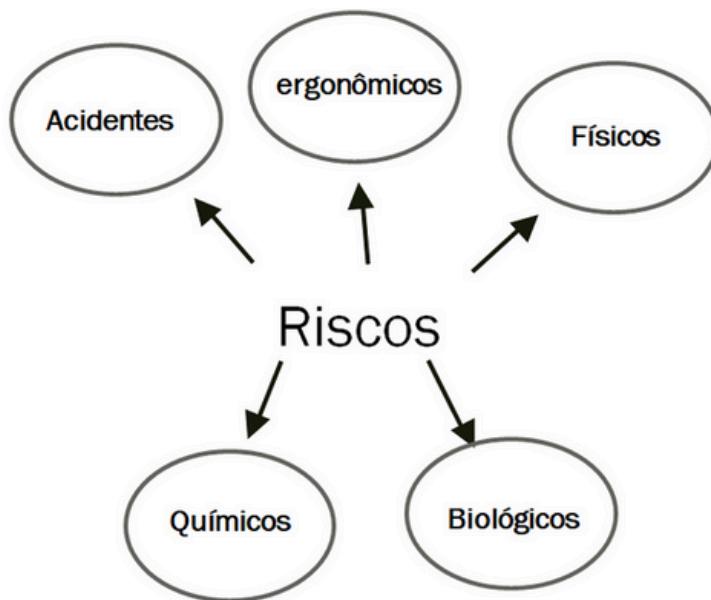
A segurança das atividades dentro dos laboratórios tem como principal objetivo minimizar riscos de acidentes, sendo assim, os usuários devem fazer uso de regras e segui-las do início ao fim de suas atividades (<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2015/06/Aula-01-seguran%c3%a7a-de-laborat%c3%b3rio-docx.pdf>).

Duas são as causas principais que podem levar a acidentes dentro do laboratório. O ato inseguro e a condição insegura. O ato inseguro é o não cumprimento de normas de segurança durante o trabalho, como, por exemplo, fumar no laboratório (especialmente onde haja material inflamável), levantar peso excessivo, não usar o equipamento de proteção individual (EPI), trabalhar com trajes inadequados, cabelos soltos, sandálias ou ainda brincar ou correr no laboratório. A condição insegura é uma deficiência ou irregularidade técnica existente no local de trabalho como, por exemplo, iluminação deficiente, ventilação excessiva ou deficiente, armazenamento incorreto de reagentes químicos, excesso de ruído, instalação elétrica defeituosa, material de trabalho inadequado, falta de ordem e limpeza (https://www.pgp.ufv.br/wp-content/uploads/2012/12/Manual_de_Seguranca_do_LGqA-1.pdf).

Sendo assim, os acidentes em laboratórios são causados principalmente por imperícia, negligência e imprudência de seus usuários. Dentre muitos erros a falta de conhecimento de quais reagentes podem ou não ser misturados, somado ao armazenamento incorreto, é um fator que aumenta muito a chance de haver um acidente em um laboratório (AZZI, 2013).

1.1-Riscos

Os riscos são divididos em **5 categorias**: acidentes, ergonômicos, físicos, químicos e biológicos (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).



As 5 categorias de riscos que podem ocorrer em laboratórios.

Fonte: (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

1.1.2 - Tipos de Riscos

A - Riscos de acidentes:

qualquer fator que coloque o profissional em situação de perigo e possa afetar a sua integridade. Caracteriza-se por toda ação não programada, estranha ao andamento normal do trabalho (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

EXEMPLOS: Usar equipamentos sem proteção, equipamentos de vidro, equipamentos e instrumentos perfurocortantes, armazenamento inadequado, cilindros de gases, animais peçonhentos entre outros (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

Segue abaixo acidentes que ocorreram em diferentes laboratórios.

O acidente ocorreu na Universidade Federal de Minas gerais após a reação química de reagentes incompatíveis o qual ocasionou fogo e muita fumaça no laboratório. A entrevista na íntegra está no link <https://g1.globo.com/mg/minas-gerais/noticia/2021/12/09/predio-do-departamento-de-quimica-da-ufla-e-isolado-apos-explosao-e-incendio-em-bh.ghtml>

O acidente ocorreu na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) após manuseio inadequado de reagentes químicos. A entrevista na íntegra está no link <https://g1.globo.com/rj/rio-de-janeiro/noticia/2018/08/15/laboratorio-da-coppeufrj-registra-explosao.ghtml>.

Os dois acidentes foram ocasionados por armazenamento inadequado de produtos químicos em geladeiras de uso doméstico presente em laboratório. Os acidentes não são recentes (na UFMG, ocorreu em 2010 e na UFJF ocorreu em 2016), mas a matéria serve de alerta, visto que no Brasil é comum os laboratórios de Universidades utilizarem geladeiras domésticas para fins de armazenagem de produtos químicos (<https://www.segurancadotrabalho.ufv.br/o-uso-de-refrigeradores-para-armazenamento-de-produtos-quimicos-em-laboratorio/>).



Reação química de reagentes incompatíveis ocasiona fogo e fumaça em laboratório da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).



Explosão em um laboratório da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) após manuseio inadequado de reagentes químicos.



Os dois acidentes foram ocasionados por armazenamento inadequado de produtos químicos em geladeiras.

Apesar de comum, é incorreto o uso de refrigeradores domésticos em laboratórios para armazenamento de solventes e demais produtos químicos. Esses refrigeradores não dispõem de sistemas elétricos à prova de explosão, não possuem boa estabilidade, e seus compartimentos não são devidamente resistente para suportar as embalagens de produtos químicos. O ideal é o uso de refrigeradores com segurança intrínseca apropriados para o armazenamento de produtos químicos (<https://www.segurancadotrabalho.ufv.br/o-uso-de-refrigeradores-para-armazenamento-de-produtos-quimicos-em-laboratorio/>).

B. Riscos ergonômicos:

A palavra Ergonômicos deriva dos termos gregos, ergo que significa trabalho e nomos, que significa regras. Pode ser qualquer fator que possa interferir nas características psicofisiológicas do profissional causando desconforto ou afetando a sua saúde (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

Exemplos: Movimentos repetitivos, postura inadequada, levantamento e transporte de peso excessivo, monotonia, mobiliário mal projetado, ambiente de trabalho desconfortável (ex.: muito seco, muito frio, muito quente, pouco iluminado, barulhento), problemas de relações interpessoais no trabalho (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).



Postura inadequada (Fonte: <https://www.conceitozen.com.br/riscos-ergonomicos-no-ambiente-de-trabalho.html>).



Postura correta (Fonte: Manual de Biossegurança. Laboratório central de Saúde pública do Espírito Santo,2017).



Levantamento de peso excessivo (Fonte  <https://segurancadotrabalhoacz.com.br/tags/ergonomia-2/>).

As medidas de prevenção devem incluir duas ou mais das seguintes alternativas: a) pausas para propiciar a recuperação psicofisiológica dos trabalhadores, que devem ser computadas como tempo de trabalho efetivo; b) alternância de atividades com outras tarefas que permitam variar as posturas, os grupos musculares utilizados ou o ritmo de trabalho; c) alteração da forma de execução ou organização da tarefa; e d) outras medidas técnicas aplicáveis, recomendadas na avaliação ergonômica preliminar (NR17, 1978).

C. Riscos físicos:

qualquer forma de energia a que os profissionais possam estar expostos (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

EXEMPLOS: ruídos, vibrações, pressão, radiações ionizantes (Raio-X, Iodo 125, Carbono 14) e não ionizantes (luz ultravioleta, luz infravermelha, laser, micro-ondas), temperatura extrema (calor ou frio) (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

C.1) Temperaturas extremas (Calor e Frio)

As principais doenças do calor, que surgem da insuficiência das defesas em controlar o aumento da temperatura em que o organismo humano está exposto são classificadas em quatro categorias: exaustão do calor, desidratação, cãibra do calor, choque térmico (BREVIGLIERO et al.,2011). O trabalhador pode se prevenir do calor (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>):

- A instalação de equipamentos que geram calor deve ser feita em local ventilado e longe de material inflamável, volátil e de equipamentos termossensíveis. Exemplo dos equipamentos: Estufas, muflas, banhos de água, bico de gás, lâmpada infravermelha, manta aquecedora, agitadores magnéticos com aquecimento e autoclaves.
- Ao operar equipamentos geradores de calor, o operador deve se proteger com luvas adequadas (resistentes ou revestidas com material isolante) e avental.
- O manuseio de destiladores com substâncias voláteis ou perigosas dever ser feito dentro da capela de segurança química e exaustão e deve-se utilizar máscaras com filtros adequados para substâncias voláteis.
- Um equipamento bastante comum no laboratório é a chapa de aquecimento e a manta aquecedora. Por ser portátil, e os usuários os deslocarem com facilidade, os acidentes de queimaduras nas mãos são frequentes. Após o uso colocar um aviso para as outras pessoas saberem que ainda está quente. No aviso escreva a data e a hora em que foram desligadas.
- Identificar a localização do chuveiro e dos extintores.
- Não usar material facilmente inflamável nas proximidades da chama (atenção ao álcool).
- Evitar exposição aos vapores da autoclave quando da sua abertura. Podem provocar queimaduras.

Em contrapartida com o calor, o frio extremo também podem causar Lesões como:

1- Hipotermia: todo o corpo esfria até uma temperatura potencialmente perigosa. Atinge principalmente as pessoas muito idosas ou muito jovens expostas ao ar frio (ventos) ou imersão em água fria. Os sintomas são graduais e sutis, ocorrendo movimentos lentos e desordenados, confusão mental, alucinações, perda da consciência e morte por parada cardíaca e respiratória (<https://ehsseguranca.com.br/riscos-fisicos/>).



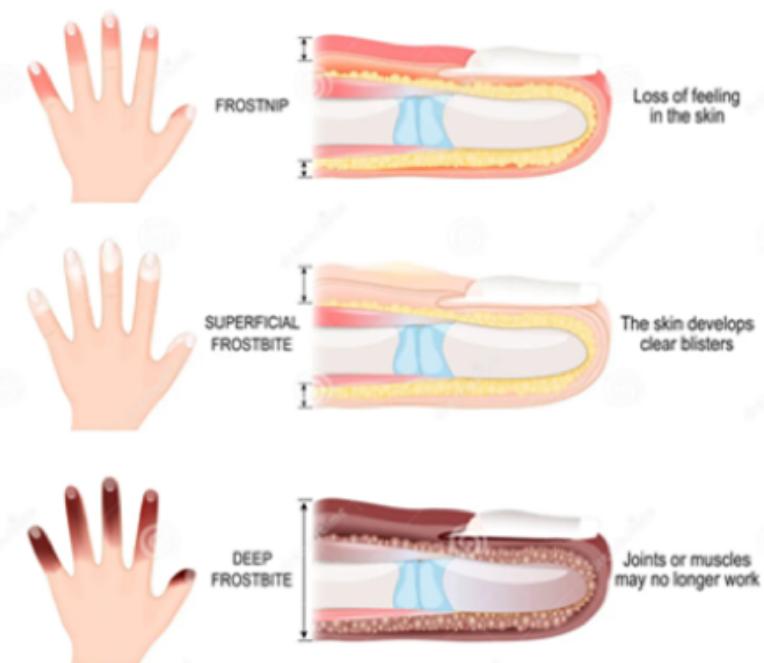
Riscos de hipotermia (Fonte:  https://www.tribunauniao.com.br/noticias/67965/hipotermia_o_que_e_causas_e_sintomas).

2 - Geladura (congelamento parcial): partes da pele congelam, sofrem lesões superficiais mas não são lesadas de modo permanente. As áreas congeladas da pele ficam brancas e firmes e, em seguida, edemaciadas (inchadas) e dolorosas. Posteriormente, a pele pode descamar, como ocorre nos casos de queimadura solar (<https://ehsseguranca.com.br/riscos-fisicos/>).



Riscos de geladura (<https://estudantedemedicina.com.br/medicina-legal/resumo-de-medicina-legal-energias-de-ordem-fisica-temperatura-eletricidade-e-pressao-explosoes>).

3 - Congelamento: alguns tecidos do corpo são realmente destruídos. As mãos e pés expostos são as partes mais vulneráveis. A lesão causada pelo congelamento é consequência da diminuição do fluxo sanguíneo e da formação de cristais de gelo nos tecidos. No congelamento, a pele fica hiperemizada (vermelha), edemaciada (inchada) e dolorosa e, em seguida, preta. As células nas áreas congeladas morrem. Dependendo da extensão do congelamento, o tecido afetado pode recuperar-se ou pode gangrenar (<https://ehsseguranca.com.br/riscos-fisicos/>).



Riscos de congelamento (Fonte: <https://pt.dreamstime.com/est%C3%A1gios-de-queimadura-gelos-dedos-um-congelador-com-perda-sensa%C3%A7%C3%A3o-na-pele-uma-picada-frio-profunda-das-articula%C3%A7%C3%BDes-e-image260612426>).

Quando os experimentos forem realizados dentro de câmaras frias, o operador sempre deverá utilizar equipamentos de proteção adequada (luvas e aventais térmicos). A atenção também deve ser redobrada com os frascos que contêm nitrogênio líquido e gelo seco, pois os acidentes são bastante graves. Com Ultra-frezzers (-70°C) é imprescindível a utilização de luvas e cabelos presos. Ao manusear nitrogênio líquido e Gelo-seco deve-se realizar o transporte em recipientes adequados para evitar queimaduras. (<https://ehsseguranca.com.br/riscos-fisicos/>).

C.2) Ruídos

Define-se ruído, como sendo um som sem interesse ou desagradável para o auditor. O ruído (som) pode ser mais ou menos intenso, composto por uma só tonalidade ou composto por várias e a sua propagação varia ao meio em que o receptor se encontra (https://www.ccdra.gov.pt/docs/ambiente/Doc_ruido.pdf).

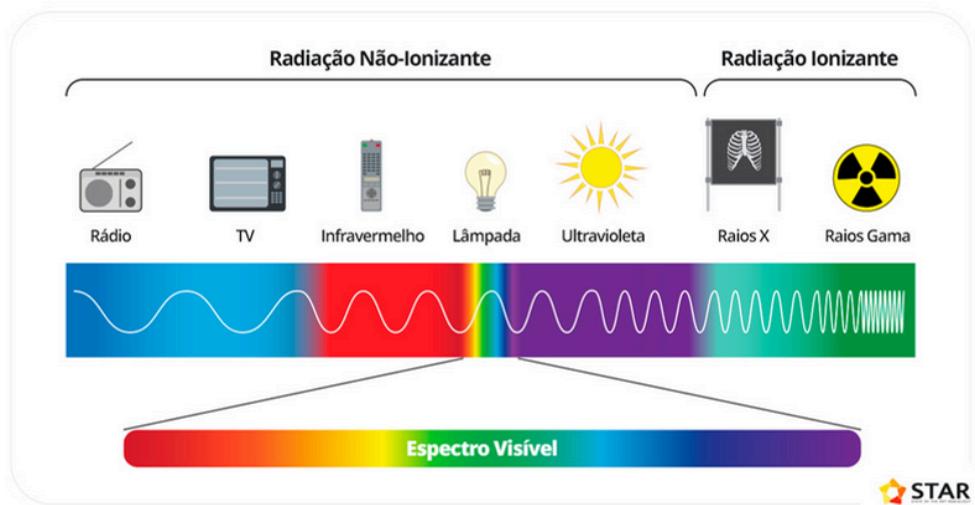
Os equipamentos que emitem ruídos de maiores intensidades são: centrífugas, ultracentrífugas, ultrassom, autoclave, congelador ultrafrio, bombas de autovácuo, determinados condicionadores de ar, capela de fluxo laminar e capela química (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>).

O uso de protetores auriculares nos locais onde são instalados muitos equipamentos com emissão de ruídos pode ser uma alternativa para aliviar esse som (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>).



Tipos de protetores auriculares (Fonte: <https://conecta.fg.com.br/protetor-auricular-tipos-e-diferencias/>).

C.3) Radiação ionizante e não ionizante



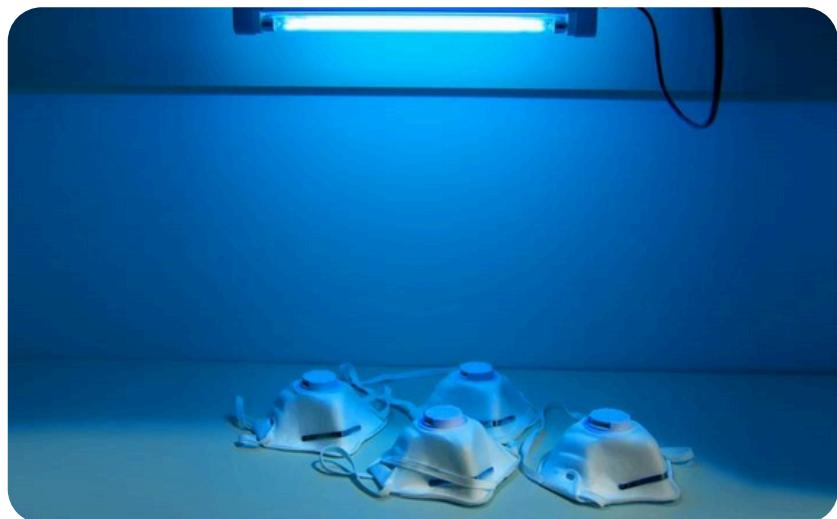
Radiação não ionizante e ionizante (Fonte <https://star.med.br/o-que-e-radiacao/>)

Dividida em duas modalidades, radiação ionizante e não ionizante também é um risco físico (<https://kadeshepi.com.br/riscos-fisicos-como-prevenir/>). A radiação ionizante, como seu nome indica, é capaz de ionizar os átomos do corpo do trabalhador. A ionização é o processo por meio do qual um átomo recebe uma carga positiva ou negativa, ou seja, perde ou ganha um elétron, e quando ocorre em tecidos vivos é capaz de alterar o funcionamento das células. Por meio deste processo de ionização, este tipo de radiação causa câncer aos trabalhadores que forem expostos diretamente a ela (<https://kadeshepi.com.br/riscos-fisicos-como-prevenir/>).

As principais fontes de radiação ionizante são aparelhos que usam materiais radioativos em seu funcionamento, como máquinas de Raio-X, e os próprios materiais radioativos, que podem ser encontrados em usinas nucleares e laboratórios (<https://kadeshepi.com.br/riscos-fisicos-como-prevenir/>). As Radiações não ionizantes refere-se às radiações como luz natural, infravermelho e ultravioleta (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>). A radiação infravermelha, apesar de ser utilizada como meio terapêutico, a exposição excessiva pode causar danos (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>). A radiação ultravioleta é extremamente danosa para a retina dos olhos. Neste caso recomenda-se o uso de óculos de proteção UV e protetor de face. O UV assim como várias formas de radiação não são visíveis, por isso deve-se ter cuidado ao manipular instrumentos que emitem essas radiações (<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos>).



Balança determinadora de umidade com fonte de calor
infravermelho. Fonte: <https://blog.forlabexpress.com.br/balanca-determinadora-de-umidade/>



Luz ultravioleta sendo usada na descontaminação em laboratório.
Fonte: <https://globaluv.com.br/luz-uv-c-eficiencia-e-seguranca/>

D. Riscos químicos:

a exposição a agentes ou substâncias químicas que possam penetrar no organismo através da pele (absorção cutânea), serem inalados ou ingeridos.

Exposição a agentes ou substâncias químicas que possam penetrar no organismo

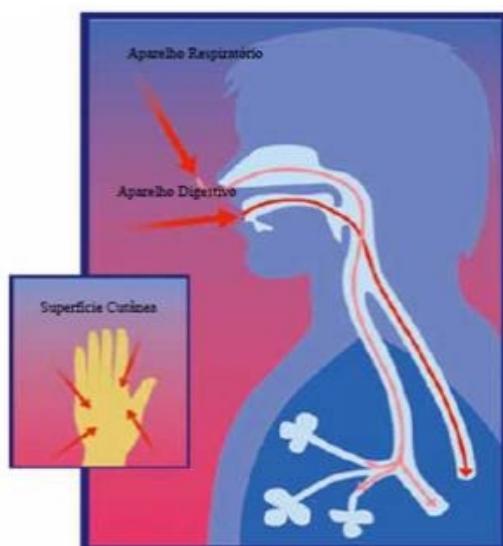


Exposição a agentes ou substâncias químicas através da inalação, absorção cutânea ou ingestão.

Consideram-se agentes de risco químico as substâncias, compostos ou produtos que possam penetrar no organismo do trabalhador principalmente pela via respiratória, nas formas de poeiras, fumos gases, neblinas, nevoas ou vapores, ou pela natureza da atividade, de exposição, possam ter contato ou ser absorvido pelo organismo através da pele ou por ingestão

(<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosquimicos>).

A penetração dos agentes químicos no organismo depende de sua forma de utilização (<https://www.marilia.unesp.br/#!/cipa/mapa-de-risco/04---riscos-quimicos>).



Exposição a agentes ou substâncias químicas através da inalação, absorção cutânea ou ingestão. Fonte: <https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosquimicos>

O contato com substâncias químicas pode provocar queimaduras como visto nas figuras 17 e 18:



Queimadura por hidróxido de sódio concentrado (Fonte: <https://mundoeducacao.uol.com.br/quimica/hidroxido-sodio.htm>). 



Queimadura oral por acidente com ácido (Fonte: Silva et al.,  2021).

Para avaliar o potencial tóxico das substâncias químicas, alguns fatores devem ser levados em consideração (<https://www.marilia.unesp.br/#!/cipa/mapa-de-risco/04---riscos-quimicos/>):

- Concentração: quanto maior a concentração, mais rapidamente seus efeitos nocivos manifestar-se-ão no organismo;
- Índice respiratório: representa a quantidade de ar inalado pelo trabalhador durante a jornada de trabalho;
- Sensibilidade individual: o nível de resistência varia de indivíduo para indivíduo;
- Toxicidade: é o potencial tóxico da substância no organismo;
- Tempo de exposição: é o tempo que o organismo fica exposto ao contaminante.

Medidas de controle devem ser colocadas em prática para evitar ou minimizar os riscos de acidentes com substâncias químicas como:

Medidas de proteção coletiva

Ventilação e exaustão do ponto de operação, substituição do produto químico utilizado por outro menos tóxico, redução do tempo de exposição e conscientização dos riscos no ambiente

(<https://www.marilia.unesp.br/#!/cipa/mapa-de-risco/04---riscos-quimicos/>).

Medidas de proteção individual

Fornecimento de Equipamento de proteção individual (EPI) como máscara de proteção respiratória para poeira, para gases e fumos; luvas de borracha ou neoprene para trabalhos com produtos químicos (<https://www.marilia.unesp.br/#!/cipa/mapa-de-risco/04---riscos-quimicos/>).

Em caso de acidentes com produtos químicos deve-se realizar os seguintes procedimentos:

Acidentes com exposição da pele (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020):

1. Lavar com água corrente todas as áreas do corpo afetadas por 15 a 20 minutos;
2. Siga as orientações contidas na Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) para verificar o procedimento de limpeza e neutralização do reagente em questão;
3. Encaminhar o acidentado ao hospital em caso de dano à pele ou se as orientações da FISPQ recomendar.

Acidentes com exposição dos olhos (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020):

1. Lavar os olhos durante 15 a 20 minutos em água corrente mantendo-os abertos durante a lavagem;
2. Procurar atendimento médico de emergência em caso de exposição dos olhos a materiais perigosos.

Acidentes por ingestão de produtos químicos (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020):

1. Bochechar com água, sem ingerir, se a contaminação for apenas bucal;
- 2.Se os lábios ou a boca estiverem queimados, resfrie-os com água fria;
- 3.Providenciar assistência médica imediata, levando junto o recipiente original do produto e a Ficha de Informação da Segurança de Produtos Químicos (FISPQ);

Para prevenir os riscos devido à natureza química dos produtos, devemos conhecer a lista de substâncias químicas incompatíveis de uso corrente em laboratórios a fim de observar cuidados na estocagem, manipulação e descarte.

Na tabela a seguir verifica-se a incompatibilidade química de algumas substâncias (DA SILVA, 2019).

Incompatibilidade química de algumas substâncias.

SUBSTÂNCIA	INCOMPATÍVEL COM
ÁCIDO ACÉTICO	Etileno glicol, compostos hidroxilados, óxido de cromo IV, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido acético, peróxidos, permanganatos, anilina, líquidos e gases combustíveis.
ÁLCOOL AMÍLICO, ETÍLICO E METÍLICO	Ácido clorídrico, ácido fluorídrico, ácido fosfórico.
CLORO	Acetona, acetileno, amônia, benzeno, butadieno, butano e outros gases de petróleo, hidrogênio, metais em pó, carboneto de sódio, terebintina.

Em relação ao armazenamento de produtos químicos deve-se seguir regras para evitar acidentes, como as descritas a seguir (DA SILVA, 2019):

- Produtos químicos não devem ser estocados por ordem alfabética e sim por grupos quimicamente compatíveis.
- Ácidos devem ser estocados em armários exclusivos para ácidos.
- Ácido perclórico, ácido nítrico e ácido fluorídrico devem ser separados de todas outras substâncias.
- Metais reativos devem ser estocados em armário para inflamáveis.
- Químicos carcinogênicos e altamente tóxicos devem ser estocados em armários isolados e ventilados.
- Inflamáveis inorgânicos e orgânicos devem ser armazenados separadamente em armários para inflamáveis.
- Agentes oxidantes não devem ser estocados na mesma área que combustíveis, tais como inflamáveis, substâncias orgânicas, agentes desidratantes ou agentes redutores. Os oxidantes são compostos químicos que durante uma reação química fornece oxigênio, um dos elementos necessários à formação do fogo.
- Ácidos e bases distribuídos conforme a “força relativa”, mais fortes embaixo, mais fracos em cima.
- Os reagentes incompatíveis com água devem ser colocados em estantes ou armários situados longe da tubulação de água.

A ficha de informações de segurança de produtos químicos (FISPQ) fornece informações sobre vários aspectos de produtos químicos (substâncias ou misturas) quanto à proteção, à segurança, à saúde e ao meio ambiente. A FISPQ fornece, para esses aspectos, conhecimentos básicos sobre os produtos químicos, recomendações sobre medidas de proteção e ações em situação de emergência (NORMA BRASILEIRA. ABNT NBR 14725-4, 2009). A FISPQ é um meio de o fornecedor transferir informações essenciais sobre os perigos de um produto químico (incluindo informações sobre o transporte, manuseio, armazenagem e ações de emergência) ao usuário deste, possibilitando a ele tomar as medidas necessárias relativas à segurança, saúde e meio ambiente. A FISPQ também pode ser usada para transferir essas informações para trabalhadores, empregadores, profissionais da saúde e segurança, pessoal de emergência, agências governamentais, assim como membros da comunidade, instituições, serviços e outras partes envolvidas com o produto químico (NORMA BRASILEIRA. ABNT NBR 14725-4, 2009).

Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ		 Atuação Responsável
PRODUTO: ÁLCOOL ETÍLICO	Date: 15/10/2009 N° FISPQ: CP0027_P	Página 1 de 10 Anula e substitui versão: todas anteriores
1 - Identificação do Produto e da Empresa		
Nome do produto: ÁLCOOL ETÍLICO HIDRATADO INDUSTRIAL. Fornecedor Nome: Braskem UNIB-RS Endereço: BR 386 - Rodovia Tabajá/Canoas - km 419 96853-000 Triunfo (RS), Brasil Fone: ++ 55 51 3457 6155 / 3457 1211 Fax: ++ 55 51 3457 6950 Contato de emergência: Fone(s): ++ 55 51 3457 6388		
2 - Composição e Informação sobre os Ingredientes		
>>>SUBSTÂNCIA Nome químico comum: Álcool Etílico Sinônimos: Etanol Alcool hidratado (90.0 a 94.20 % vol) Registro CAS: 64-17-5 Ingredientes que apresentam perigo: Etanol Classificação: Este produto é classificado como altamente inflamável e tóxico segundo os critérios da CEE (Comunidade Econômica Européia).		
3 - Identificação de Perigos		
PRINCIPAIS PERIGOS Efeitos nocivos à saúde Toxicidade aguda: Tóxico por inalação, contato com a pele e ingestão. Efeitos locais: Irritante para a pele e os olhos. Efeitos crônicos: Não Carcinogênico segundo os critérios da ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) A ingestão e inalação dos vapores pode causar dor de cabeça, náuseas, tontura, sonolência e confusão podendo causar lesões gastricas, renais e bilares. Outros dados: Depressor do sistema nervoso central. Efeitos sobre o Meio Ambiente: Nível de risco alto para sistemas aquáticos. Perigos físicos e químicos Inflamável e explosão: Líquido altamente inflamável. Pode acumular carga elétrica por fluxo ou agitação. Os vapores são mais pesados do que o ar e podem propagar-se por longas distâncias até fontes de ignição e inflamação. O líquido flutua na água e pode deslocar-se por grandes distâncias e espalhar o fogo. Perigos específicos: Este produto é classificado como altamente inflamável e tóxico segundo os critérios da CEE (Comunidade Econômica Européia)		
4 - Medidas de Primeiros Socorros		
Inalação: Remover a vítima para local arejado. Se a vítima não estiver		

FISPQ do álcool etílico é possível verificar algumas informações, como identificação do produto e da empresa, composição e informação sobre os ingredientes, identificação de perigos, medidas de primeiro socorros.

Em todos os laboratórios, principalmente de pesquisa, as FISPQ's dos respectivos produtos químicos devem estar à disposição de todos os usuários e são essenciais para evitar acidentes nos laboratórios (DA SILVA, 2019).

Uma FISPQ deve conter obrigatoriamente 16 seções, as quais títulos, numeração e sequência não podem ser alterados, são elas (DA SILVA, 2019):

- 1 - Identificação do produto e da empresa
- 2 - Identificação de perigos
- 3 - Composição e informações sobre os ingredientes
- 4 - Medidas de primeiros-socorros
- 5 - Medidas de combate a incêndio
- 6 - Medidas de controle para derramamento ou vazamento
- 7 - Manuseio e armazenamento
- 8 - Controle de exposição e proteção individual
- 09 - Propriedades físicas e químicas
- 10 - Estabilidade e reatividade
- 11 - Informações toxicológicas
- 12 - Informações ecológicas
- 13 - Considerações sobre tratamento e disposição
- 14 - Informações sobre transporte
- 15 – Regulamentações
- 16 - Outras informações

Rótulo de um Produto Químico

O rótulo nos frascos de produtos químicos traz informações de utilidade básica e essencial para oferecer mais segurança e consequentemente diminuir o risco de acidentes para quem manuseia de alguma forma o produto, seja na armazenagem, no manejo, transporte e descarte (<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2015/06/Aula-01-seguran%c3%a7a-de-laborat%c3%b3rio-docx.pdf>).

É importante salientar que as informações do rótulo são apenas básicas e primordiais, um detalhamento maior do conteúdo na embalagem é conseguido através da FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) (<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2015/06/Aula-01-seguran%c3%a7a-de-laborat%c3%b3rio-docx.pdf>).

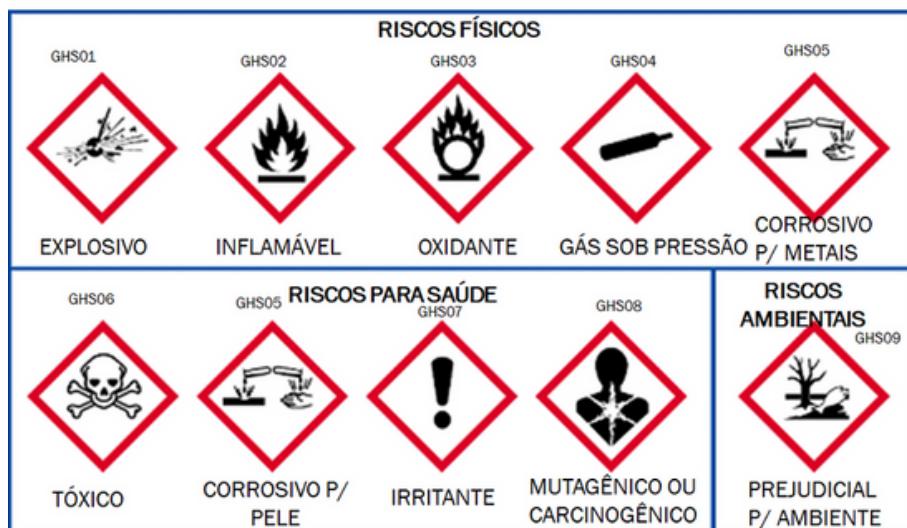


Rótulo do álcool metílico mostrando algumas informações como, primeiros socorros, símbolo de periculosidade, fórmula molecular, massa molecular e nome (https://www2.ufjf.br/quimica/wp-content/uploads/sites/357/2022/09/Apostila QUI161_2022_2.pdf).

Classificação dos Produtos Químicos

Pictogramas é um símbolo que representa um objeto ou conceito por meio de desenhos figurativos. As substâncias químicas podem ser agrupadas, portanto, segundo suas características de periculosidade e para organizar e facilitar a comunicação da informação de perigo em rótulos e FISPQ's (Fichas de Informação de Segurança para Produtos Químicos) (DA SILVA, 2019).

A classificação destas substâncias ou os símbolos de periculosidade são uma forma clara e rápida de identificar o perigo que elas representam (<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2015/06/Aula-01-seguran%c3%a7a-de-laborat%c3%b3rio-docx.pdf>).



Pictogramas de substâncias. Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos, referido pela sigla GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals) – Nações Unidas ST/SG/AC.2017

- **EXPLOSIVO:** Pode explodir em contato com uma chama, faísca, eletricidade estática, exposição ao calor ou ao ser sujeito a choque ou fricção. As temperatura de detonação são muito variáveis. Ex: nitroglicerina (117 °C); isocianato de mercúrio (180 °C); trinitrotolueno (470 °C).
- **INFLAMÁVEL:** Pode incendiar em contato com uma chama, faísca, eletricidade estática ou por exposição ao calor. Exemplos: Éter Etílico, Ácido Acético, Benzeno.
- **OXIDANTE:** O efeito oxidante pode provocar ou agravar um incêndio. Exemplo: peróxido de hidrogênio (H₂O₂).
- **GÁS SOB PRESSÃO:** Embalagem sob pressão que pode explodir se for exposta ao calor.
- **CORROSIVO P/ METAIS:** Ataca ou destrói os metais. Pode provocar queimaduras na pele ou nos olhos em caso de contato ou projeção.
- **TÓXICO:** Pode provocar náuseas, vômitos, dores de cabeça, perda de consciência ou outros danos, incluindo a morte.
- **IRRITANTE:** Pode provocar alergias, eczema, irritação dos olhos, garganta, nariz ou pele. A exposição a doses elevadas pode originar sonolência ou até envenenamento.
- **MUTAGÊNICO OU CARCINOGENÔICO:** Por ser tóxico, pode induzir malformações em fetos, alterar o funcionamento de certos órgãos ou provocar insuficiência respiratória.
- **PREJUDICIAL P/ AMBIENTE:** Tóxico para os organismos aquáticos (peixes, algas ou crustáceos)

Segurança para Administrar Soluções Químicas (Laboratório de Química - QUI 126, 2018):

- Cerca de 80 % das soluções químicas concentradas são nocivas aos organismos vivos, principalmente se ministradas por via oral.
- Não transporte soluções em recipientes de boca larga, se tiver que efetuá-lo por certa distância, triplique sua atenção durante o percurso e solicite a um colega que o acompanhe.
- Não leve à boca qualquer reagente químico, nem mesmo o mais diluído.
- Certifique-se da concentração e da data de preparação de uma solução antes de usá-la.
- Não pipete, aspirando com a boca, líquidos cáusticos, venenosos ou corantes, use pêra de segurança.
- Não use o mesmo equipamento volumétrico para medir simultaneamente soluções diferentes. É necessário lavar antes para que uma solução não contamine a outra.
- Volumes de soluções padronizadas, tiradas dos recipientes de origem e não utilizadas, devem ser descartados e não retornados ao recipiente de origem.

Manuseio e cuidados com frasco de reagentes (Laboratório de Química - QUI 126, 2018):

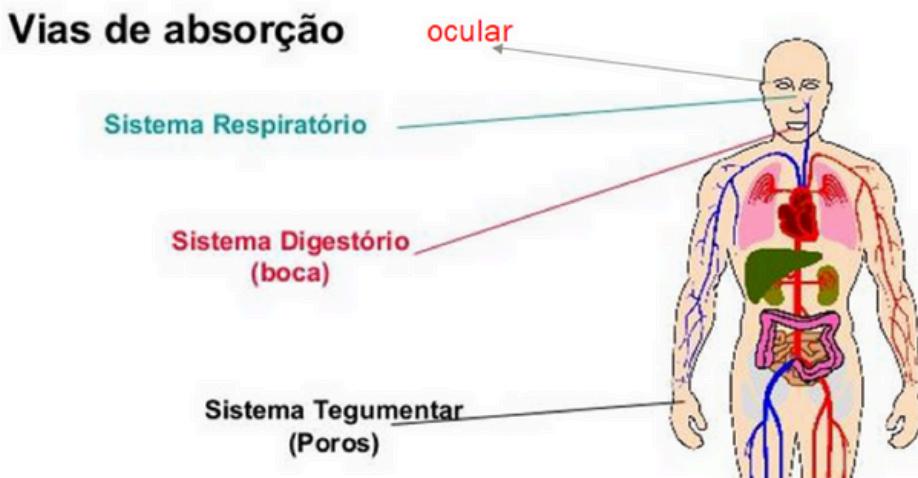
- Leia cuidadosamente o rótulo do frasco antes de utilizá-lo.
- Muito cuidado com as tampas dos frascos, não permita que ela seja contaminada ou contamine-se. Se necessário use o auxílio de vidros de relógio, placas de Petri, etc. para evitar que isso aconteça (para colocar a tampa em cima).
- Ao acondicionar um reagente, certifique-se antes da compatibilidade com o frasco, por exemplo, substâncias sensíveis à luz, não podem ser acondicionadas em embalagens translúcidas (envolver com papel alumínio pode solucionar).
- Não cheire diretamente frascos de nenhum produto químico.
- Os cuidados com o descarte de frascos vazios de reagentes não devem ser menores que os cuidados com o descarte de soluções que eles dão origem.
- Cuidados com aparelhagem, equipamentos e vidrarias laboratoriais: antes de iniciar a montagem, inspecione a aparelhagem, certifique-se de que ela esteja completa, intacta e em condições de uso.
- Não utilize material de vidro trincado, quebrado ou com arestas cortantes.

E. Riscos biológicos:

São considerados riscos biológicos bactérias, fungos, parasitas e vírus; amostras biológicas provenientes de animais e de seres humanos (sangue, urina, secreções, peças cirúrgicas, biópsias, entre outras). Incluem-se também como riscos biológicos os Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) (DO NASCIMENTO, 2019).

As principais vias envolvidas num processo de contaminação biológica são a via cutânea (com ou sem lesões - por acidente com agulhas e vidraria, na experimentação animal - arranhões e mordidas), a via respiratória (aerossóis), via oral, via ocular (Figura 22) (BORBA et al., 2009;

https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab_virtual/riscos_biologicos.html#:~:text=As%20principais%20vias%20envolvidas%20num,conjuntiva%20e%20a%20via%20oral



Vias de introdução de agentes biológicos no organismo (Salazar, 2017).

Classificação de Risco Biológico:

A classificação de risco de um determinado agente biológico baseia-se em diversos critérios que orientam a avaliação de risco e está, principalmente orientada pelo potencial de risco que oferece ao indivíduo, à comunidade e ao meio ambiente. Cada País adota uma classificação, onde os agentes biológicos exóticos sofrem um controle rigoroso das autoridades de saúde pública

(<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classificacao-de-risco.htm>).

Até 1995, o Brasil utilizava as classificações existentes mundialmente, tais como a do Center for Disease Control (CDC), National Institute of Health (NIH), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Comunidade Européia, dentre muitas. Todas as classificações utilizam os mesmos critérios para a avaliação de risco dos agentes biológicos, porém existem alguns critérios variáveis de acordo com a realidade epidemiológica local, o que pode levar a confusões.
<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classificacao-de-risco.htm>.

No Brasil, em 1995, com a formação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, em cumprimento da Lei nº 8.974 e do decreto nº 1.752, do Ministério de Ciência e Tecnologia, surgem uma série de instruções normativas, para o gerenciamento e normatização do trabalho com engenharia genética e a liberação no ambiente de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) em todo o território brasileiro. Dentre elas está a Instrução Normativa nº 7, de julho de 1997, que estabelece normas para o trabalho em contenção com organismos geneticamente modificados. Esta instrução agrupa os microrganismos em classes de 1 a 4, sendo a classe 1 a de menor risco e a classe 4 a de maior risco. E em 2002, o Ministério da Saúde, constitui a Comissão de Biossegurança em Saúde - CBS, pela Portaria nº 343, MS, 19.02.02.
<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classificacao-de-risco.htm>.

A CBS com base na Instrução Normativa nº7, apresenta normas de Biossegurança laboratorial para manipulação de agentes patogênicos, e a classificação dos agentes biológicos.atualizada
<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classificacao-de-risco.htm>.

Conforme este documento, os agentes biológicos humanos e animais são divididos em 4 classes, de acordo com critérios de patogenicidade, alteração genética ou recombinação gênica; estabilidade; virulência; modo de transmissão; endemicidade; consequências epidemiológicas; disponibilidade de medidas profiláticas e de tratamento eficaz.
<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classificacao-de-risco.htm>.

Os agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas são distribuídos em classes de risco assim definidas (CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS, 2017):

Classe de risco 1

Inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos sadios (CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS, 2017). Exemplos: *Lactobacillus spp.* e *Bacillus subtilis*.

Classe de risco 2

O risco individual é moderado e para a comunidade é baixo. São agentes biológicos que podem provocar infecções, porém, dispõe-se de medidas terapêuticas e profiláticas eficientes, sendo o risco de propagação limitado. Exemplos: Vírus da rubéola e *Schistosoma mansoni* (CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS, 2017).

Classe de risco 3

Inclui os agentes biológicos que possuem capacidade de transmissão por via respiratória e que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou de prevenção. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. Exemplo: *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS, 2017), vírus da Covid-19.

Classe de risco 4

O risco individual e para a comunidade é elevado. Inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida. Até o momento não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente os vírus. Exemplo: Vírus Ebola (CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS, 2017).

Na tabela 2 está a representação resumida das características das classes de risco (1 a 4) dos agentes biológicos em relação ao risco individual, coletivo e das condições terapêuticas (BINSFELD, P. C. et al., 2010).

Representação das características das classes de risco (1 a 4) dos agentes biológicos em relação ao risco individual, coletivo e das condições terapêuticas (Fonte: BINSFELD, et al., 2010).

Classe de Risco	Risco individual	Risco à coletividade	Profilaxia ou Terapia eficaz
1	Baixo	Baixo	Existe
2	Moderado	Baixo	Existe
3	Elevado	Moderado	Usualmente existe
4	Alto	Alto	Ainda não existe

Existem quatro níveis de contenção física para manipulação de agentes biológicos: Nível-1, Nível-2, Nível-3 e Nível-4. O nível de biossegurança de um experimento será determinado segundo os agentes biológicos envolvidos no experimento. Quanto maior a classe de risco maior será o nível de contenção (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015; <https://www.unifalmg.edu.br/riscosambientais/niveisbiosseguranca>)

Nível 1 – Microorganismos de classe de risco I podem ser manipulados em laboratórios de ensino básico com a utilização de EPIs.

Nível 2 – Microorganismos de classe de risco II podem ser manipulados em laboratórios clínicos ou hospitalares com finalidade de diagnóstico e requer, além dos EPIs necessários, cabine de segurança biológica.

Nível 3 – Microorganismos de classe de risco III ou grandes volumes e concentrações de microorganismo de classe de risco II. Além do requerido no nível de risco 2, é necessário um controle rígido quanto à inspeção e manutenção das instalações e equipamentos e treinamento específico para manipulação desses microorganismos.

Nível 4 – Microorganismos de classe de risco IV. É uma unidade funcional independente de outras áreas e requer, além de todas as contenções necessárias nos outros níveis, procedimentos especiais de segurança.

Os Riscos de natureza biológicos, químicos ou físicos também podem causar danos à saúde do consumidor por meio de uma lesão ou enfermidade, de forma imediata ou tardia, tanto por uma única ingestão como por ingestão reiterada. Sendo assim, as Boas práticas também são aplicadas no campo da alimentação, onde a produção de alimentos seguros para a saúde do consumidor pressupõe o controle (redução a um nível aceitável) ou a eliminação de todos os riscos que, potencialmente, possam estar presentes no alimento, como por exemplo o mel (PORTARIA n. 5 de 1992).

Riscos Biológicos na Produção de Mel

Os riscos biológicos na produção de mel se relacionam aos trabalhos no campo, durante o manejo das colmeias pelo contato direto dos favos com o solo, pois os microrganismos presentes no solo, assim como os advindos da utilização de adubos orgânicos não devidamente tratados podem contaminá-los por bactérias patogênicas (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli* patogênicas, *Clostridium botulinum* etc.), parasitos (*Entamoeba spp.*, *Taenia spp.* etc.) e vírus (hepatite etc.). Outros microrganismos presentes no solo são os fungos e leveduras que podem fermentar o mel caso haja aumento de umidade. Também é fonte de contaminação, o contato com superfícies sujas, como as de utensílios utilizados na colheita, veículos de transporte, equipamentos e nas máquinas de envase. A falta de higiene dos manipuladores nas diferentes etapas de produção do mel, nas casas de mel e no entreposto pode acarretar contaminação (MANUAL DE SEGURANÇA E QUALIDADE PARA APICULTURA,2009).

Riscos Químicos da Produção do Mel

Os principais riscos químicos na produção do mel estão relacionados ao tratamento das abelhas com fármacos, como os antibióticos e acaricidas, que podem ser usados para o manejo sanitário das colmeias. Outra forma de contaminação por resíduos químicos é através da utilização de produtos na higienização dos utensílios e equipamentos nas casas do mel e no entreposto. A contaminação por defensivos agrícolas também pode ocorrer quando colmeias são expostas a agrotóxicos (MANUAL DE SEGURANÇA E QUALIDADE PARA APICULTURA,2009).

Riscos Físicos na Produção do Mel

Os contaminantes físicos na produção do mel estão relacionados a sujidades (areia, partes do corpo das abelhas, fragmentos da vegetação, farpas de madeira etc.) que vêm do campo e/ou são provenientes da má higienização dos equipamentos e utensílios utilizados no processamento na casa do mel e no entreposto (MANUAL DE SEGURANÇA E QUALIDADE PARA APICULTURA, 2009).

Mapa de Risco

O Mapa de risco é uma representação gráfica de um conjunto de fatores presentes nos locais de trabalho capazes de acarretar prejuízos à saúde dos servidores, causando acidentes e doenças do trabalho. É utilizado para facilitar a visualização dos riscos existentes no local (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS, 2015).

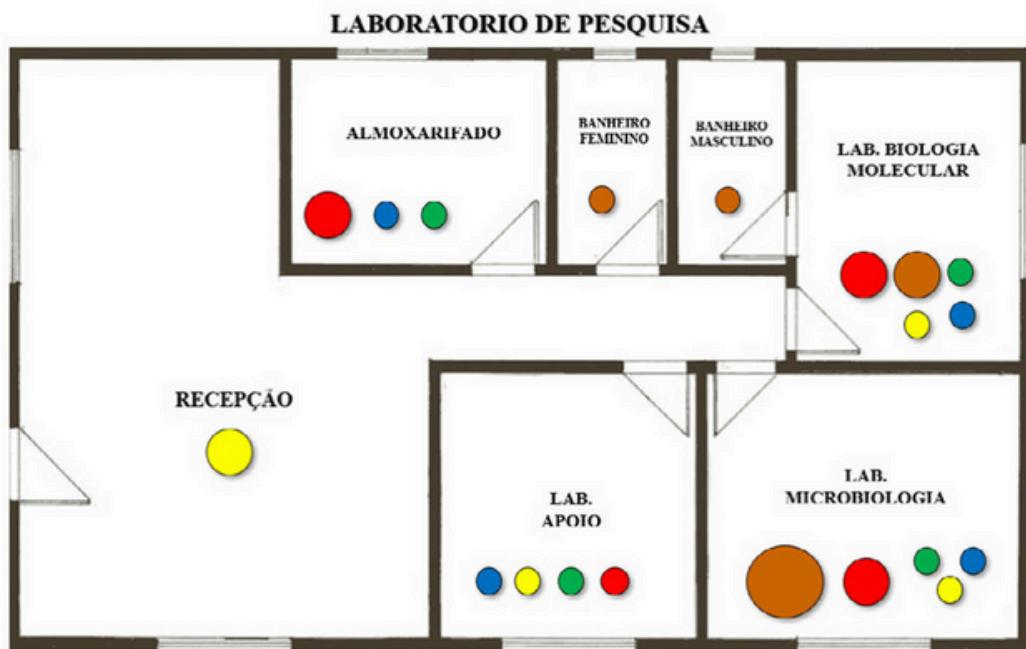
Ele é utilizado como forma de prevenção de acidentes e orientação dos riscos existentes, além de facilitar a interpretação utilizando linguagem visual com o mínimo de informação técnica (PINTO et al.,2013). O mapa de risco deve ser afixado em um local de fácil visualização, contendo informações relativas aos riscos oriundos de diversos elementos do processo de trabalho, como reagentes, equipamentos e procedimentos. Sua elaboração é feita por um profissional capacitado como, por exemplo, um técnico em segurança do trabalho ou ainda um profissional qualificado responsável pelo local avaliado. Ele é moldado, inicialmente, observando os riscos que o profissional está sujeito durante o exercício de suas atividades laborais, atividades estas que podem afetar o bem estar físico e psíquico do indivíduo (PINTO et al.,2013).

No Brasil, através da portaria n. 5 de 17/8/1992 do Departamento Nacional de Segurança e Saúde do Trabalhador (DNSST), do ministério do Trabalho e Emprego (MTE) tornou-se obrigatória a elaboração do mapeamento de riscos. Sendo a obrigatoriedade da elaboração de Mapas de Riscos Ambientais nas Empresas cujo grau de risco e número de empregados demandem a constituição de Comissão Interna de Prevenção de Acidentes - CIPA (PORTARIA n. 5 de 1992).

Os riscos serão simbolizados por círculos de três tamanhos: pequeno com diâmetro de 2,5 cm, médio, com diâmetro de 5 cm e grande, com diâmetro de 10 cm, conforme sua gravidade, em cores, conforme o tipo de risco, estes círculos serão representados em planta baixa ou esboço do local de trabalho analisado (PORTARIA n. 5 de 1992).

Intensidade Pequena	Intensidade Média	Intensidade Grande	Tipos de Riscos
			 FÍSICOS QUÍMICOS BIOLÓGICOS ERGONÔMICOS ACIDENTES

Riscos simbolizados por círculos de três tamanhos: pequeno, médio e grande (Fonte: <https://segurancadotrabalhonwn.com/como-definir-o-tamanho-dos-circulos-mapa-de-risco/>).



Planta baixa ou esboço do local de trabalho em laboratório de pesquisa (https://www.ib.unicamp.br/comissoes/cipa_mapa).

Sendo assim, a classificação dos riscos constitui uma parte essencial do processo de mapeamento de riscos. A distribuição ocorre entre cinco grupos característicos os riscos físicos, químicos, biológicos, ergonômicos e de acidentes para a elaboração do mapa de riscos (SILVA et al., 2018). A tabela 3 exemplifica alguns dos principais agentes em cada classe de risco.

Classificação dos principais riscos ocupacionais em grupos, de acordo com a sua natureza e a padronização das cores correspondentes (Fonte: Anexo IV, da Portaria nº 25 de 29.12.1994).

GRUPO I: VERDE	GRUPO II: VERMELHO	GRUPO III: MARROM	GRUPO IV: AMARELO	GRUPO V: Azul
Riscos Físicos	Riscos Químicos	Riscos Biológicos	Riscos Ergonômicos	Riscos de Acidentes
Ruidos	Poeiras	Vírus	Esforço físico intenso	Arranjo físico inadequado
Vibrações	Fumos	Bactérias	Levantamento e transporte manual de peso	Máquinas e equipamentos sem proteção
Radiações ionizantes	Neblinas	Protozoários	Exigência de postura inadequada	Ferramentas inadequadas ou defeituosas
Radiações não-ionizantes	Neblinas	Fungos	Controle rígido de produtividade	Iluminação inadequada
Frio	Gases	Parasitas	Imposição de ritmos excessivos	Eletrociide
Calor	Vapores	Bacilos	Trabalhos em turnos diurno e noturno	Probabilidade de incêndio ou exposão
Pressões anormais	Substâncias, compostos ou produtos químicos em geral	-	Jornada de trabalho prolongada	Armazenamento inadequado
Umidade	-	-	Monotonia e repetitividade	Animais peçonhosos
-	-	-	Outras situações causadoras de estresse físico e/ou psíquico	Outras situações de risco que poderão contribuir para a ocorrência de acidentes

Devido à importância relacionada ao bem estar do trabalhador a legislação criou normas regulamentares visando a saúde deste. As Normas regulamentares (NR) estão descritas abaixo:

. Norma Regulamentadora - NR5

Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA): Tem por objetivo a prevenção de acidentes e doenças decorrentes do trabalho, de modo que torne compatível permanentemente o trabalho com a prevenção da vida e a promoção da saúde do trabalhador (NR 05, 1978).

. Norma Regulamentadora - NR6

Equipamento de Proteção Individual: É considerado como todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho (NR 06, 1978).

. Norma Regulamentadora – NR 17

Ergonomia: Essa norma visa estabelecer parâmetros que permitam a adaptação das condições de trabalho às características psicofisiológicas dos trabalhadores, para proporcionar o máximo conforto, segurança e desempenho eficiente (NR 17, 1978).

. Norma Regulamentadora – NR20

Líquidos Combustíveis Inflamáveis: Possui como objetivo estabelecer critérios para armazenamento, entre outros, dos líquidos combustíveis e inflamáveis (NR 20, 1978).

. Norma Regulamentadora – NR23

Proteção Contra Incêndio: Trata de normas que as empresas deverão seguir para o bem coletivo, uma delas é caracterizada como saídas suficientes para a rápida retirada do pessoal em serviço (NR 23, 1978).

. Norma Regulamentadora – NR26

Sinalização de Segurança: O objetivo é fixar as cores que devem ser usadas nos locais de trabalho para prevenção de acidentes, identificando os equipamentos de segurança, delimitando áreas, identificando as canalizações empregadas nas indústrias para condução de líquidos e gases e advertindo contra riscos (NR 26, 1978).

Boas Práticas de Laboratório - BPL

As Boas Práticas de Laboratório (BPL) são um conjunto de ações com o objetivo de proporcionar a diminuição dos riscos do ambiente laboratorial. Estas medidas são constituídas por atividades organizacionais do ambiente de trabalho e por procedimentos básicos como a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e Equipamentos de Proteção Coletivos (EPCs), limpeza e higienização do ambiente laboratorial entre outras (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS, 2015).

- A legislação implementou a Norma regulamentadora (NR-32) que tem como finalidade estabelecer as diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral (NR 32, 2005).

As Recomendações BPL Disponível na NR-32 são (NR 32, 2005):

- Utilize os equipamentos de proteção individual (EPIs) indicados para o trabalho em laboratório.
- Higienização e limpeza adequada do ambiente;
- O laboratório deve dispor de um manual de Biossegurança;
- Os produtos químicos tóxicos devem estar devidamente identificados e armazenados.
- Verifique atentamente os rótulos dos reagentes antes de sua utilização.

- Equipamentos de risco devem ser dispostos em área segura (ex. autoclave, contêiner de nitrogênio etc.);
- Para sua segurança, procure conhecer os perigos oferecidos pelos produtos químicos utilizados no seu laboratório;
- O laboratório deve manter uma pasta com as Fichas de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) em local visível e de fácil acesso;
- Evitar transportar materiais químicos ou biológicos de um lugar para outro no laboratório;
- Utilizar armários próprios para guardar objetos pessoais;
- O ambiente laboratorial deve ser bem iluminado;
- A sinalização de emergência deve estar presente nos laboratórios;
- O laboratório deve possuir caixa de primeiros socorros e pessoal treinado para utilizá-los;
- Os extintores devem estar dentro do prazo de validade e com pressão dentro dos limites de normalidade;
- Identificar as tomadas quanto à voltagem;
- O laboratório deve fornecer quantidades suficientes de EPI e EPC;
- Usar corretamente os equipamentos;
- Manter protocolo de rotina acessível em caso de acidentes;
- Utilizar jaleco apenas dentro do laboratório;
- Use calça comprida.
- Use sapatos fechados para proteger os pés de respingos e quedas de objetos. Não é permitido o uso de chinelos, sandálias e sapatos de salto alto.
- Caso tenha cabelos compridos, use-os sempre presos.
- Manter as unhas curtas e limpas;
- Evite usar braceletes, pulseiras e correntes.
- Conheça a localização dos lava-olhos, chuveiros de emergência, extintores de incêndio e saídas de emergência.
- O ideal é não usar lentes de contato no laboratório mas, caso seja necessário, não manipulá-las e utilizar óculos de proteção;
- Não coma, não beba nada e não fume no laboratório.
- Evitar levar as mãos à boca, nariz, cabelo, olhos e ouvidos no laboratório;
- Lavar as mãos antes e após os experimentos;
- Sempre usar luvas ao manipular materiais potencialmente infectantes;
- Não manipular objetos de uso coletivo como, por exemplo, maçanetas e telefone, enquanto estiver usando luvas;
- Nunca pipetar com a boca, usar pipetadores automáticos, manuais ou peras de borracha;
- Saber onde ficam os EPCs e como utilizá-los;
- Utilize a capela de exaustão sempre que for trabalhar com líquidos ou reações que liberam gases tóxicos.

- Não jogue reagentes ou soluções na pia nem no lixo comum.
- Se algum ácido ou outro produto químico for derramado, lave local com bastante água.
- Observe a limpeza dos materiais antes de utilizá-los.
- Não gaste reagentes e soluções inutilmente, utilize somente o necessário para o experimento.
- Utilizar cabine de segurança biológica sempre que manipular materiais que precisem de proteção contra contaminação;
- Não atender celular quando estiver dentro do laboratório;
- Manter a organização na bancada;
- Evitar trabalhar sozinho no laboratório.

Construção (Projeto do Laboratório)

A Norma Regulamentadora – NR 8 estabelece requisitos que devem ser atendidos nas edificações para garantir segurança e conforto aos trabalhadores. As medidas de prevenção estabelecidas nesta Norma se aplicam às edificações onde se desenvolvam atividades laborais (NR 08, 1978).

Os locais de trabalho devem ter a altura do piso ao teto, pé-direito, de acordo com o código de obras local ou posturas municipais, atendido o previsto em normas técnicas oficiais e as condições de segurança, conforto e salubridade, estabelecidas em Normas Regulamentadoras (NR 08, 1978).

Pisos

O piso deve ser impermeável, antiderrapante, resistente mecânica e quimicamente e, além disso, não deve apresentar saliências nem depressões que possam prejudicar a circulação de pessoas ou a movimentação de materiais (NR 08, 1978).

Paredes

As paredes devem ser claras, foscas e impermeáveis, revestidas com material que permita o desenvolvimento das atividades em condições seguras, sendo resistentes ao fogo e substâncias químicas, além de oferecer facilidade de limpeza (NR 08, 1978).

Teto

O teto deve atender às necessidades do laboratório quanto à passagem de tubulações, luminárias, grelhas, isolamento térmico e acústico, estática (DE OLIVEIRA, 2018).

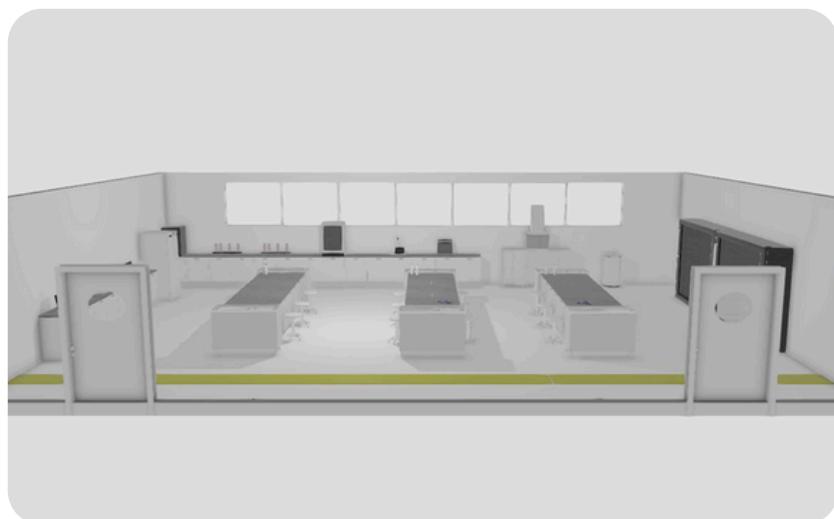
Portas

Considerando a NR-23, do MTE, que regulamenta sobre proteção contra incêndios, os locais de trabalho deverão dispor de saídas em número suficiente, de modo que aqueles que se encontrarem nesses locais possam abandoná-los com rapidez e segurança em caso de emergência. A largura mínima das aberturas de saídas deverá ser de 1,20m e com sentido de abertura da porta para a parte externa do local de trabalho (NR-23,1978).

Janelas

Orienta-se que sejam localizadas acima de bancadas e equipamentos, numa altura aproximada de 1,20m do nível do piso e que a área de ventilação/iluminação seja proporcional à área do recinto. Porém, sob nenhuma hipótese deverão ser instaladas cortinas de material combustível. As janelas devem ser dotadas de dispositivos de abertura, sempre que necessário (DE OLIVEIRA, 2018).

Segue as especificações das normas regulamentadoras de construção.



Projeto de laboratório (Fonte:  https://www.mooble.com.br/projeto/projeto-laboratorio-de-analises-clinicas_13j7yYtk).

Lavagem das mãos

O ato de lavar as mãos com água e sabão por meio de técnica adequada tem por objetivo a remoção mecânica e química da sujidade e a maioria da flora transitória da pele. Portanto, as mãos deverão ser lavadas (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015):

1. Ao iniciar o turno de trabalho.
2. Sempre depois de ir ao banheiro.
3. Antes e após o uso de luvas.
4. Antes de beber e comer.
5. Após a manipulação de material biológico e químico.
6. Ao final das atividades, antes de deixar o laboratório.

Regras básicas:

1. Antes de lavar as mãos, retirar anéis e pulseiras.
2. Quando houver lesões nas mãos e antebraços, protegê-las com pequenos curativos antes de calçar luvas.

O uso de luvas de proteção para manipulação de materiais biológicos e químicos não substitui a lavagem correta das mãos. A sequência recomendada para a lavagem das mãos está apresentada abaixo.



Sequência recomendada para a lavagem das mãos (Figura 10.1) retirada GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS. HOSPITAL DAS CLÍNICAS – FMUSP. Laboratórios de Investigação Médica – LIMs).

Equipamento de Proteção Individual - EPI

Equipamento de proteção individual é todo dispositivo de uso individual destinado a proteger a saúde e a integridade física do trabalhador do contato de agentes biológicos, físicos, químicos, calor ou frio excessivo entre outros riscos presentes no ambiente de trabalho. Deve ser usado apenas para a finalidade a qual se destina (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).

1-Jaleco:

Um modelo de jaleco de algodão branco utilizado em práticas laboratoriais. Eles devem ter comprimento abaixo dos joelhos; mangas longas e sistema de fechamento nos punhos por elástico ou sanfona; fechamento até a altura do pescoço; fechamento frontal, com botões (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020). Fornece uma barreira de proteção e reduz a possibilidade de contaminação por microrganismos. Previne a contaminação das roupas e protege a pele da exposição de sangue e fluídos. Recomenda-se o uso constante no ambiente laboratorial e a descontaminação antes da lavagem (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015).



Jaleco de algodão (Fonte:  <https://jessicamayra18.wordpress.com/2014/05/19/jaleco/>).

2-Luvas:

Devem ser utilizadas para manipulação de materiais potencialmente infectantes, produtos químicos ou em condições de temperaturas extremas, de acordo com as classificações indicadas a seguir. (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS,2015):

- 1. Látex:** para procedimentos em geral, para proteção contra agentes biológicos, ácidos e bases diluídos, exceto para solventes orgânicos.
- 2. Cloreto de vinila (PVC) e látex nitrílico:** para produtos químicos, principalmente ácidos, cáusticos e solventes.
- 3. Fibra de vidro com polietileno reversível:** para proteção contra materiais cortantes.
- 4. Fio de kevlar tricotado:** para manuseio de materiais em temperaturas até 250°C.
- 5. Térmicas de nylon:** para manuseio de materiais em temperaturas ultrabaixas (Ex. Nitrogênio líquido -195°C).
- 6. Borracha:** para serviços gerais de limpeza e descontaminação.



Classificação de luvas em 6 diferentes modelos e usadas de acordo com o material que será manipulado (Fonte: GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS- HOSPITAL DAS CLÍNICAS – FMUSP, 2015).

Existe técnica para calçar e remover as luvas evitando a disseminação de microrganismos.

Calçar luvas:



- Remova jóias e outros artefactos das mãos e pulsos

- Cuidadosamente, calce a luva ajustando-a até ao pulso

Remover luvas:



- Comece a retirar na zona do pulso

- Puxe lentamente até remover cada uma das luvas

- Coloque-as no lixo

- Lave as mãos

Técnica para calçar e remover as luvas (Figura retirada GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS. HOSPITAL DAS CLÍNICAS – FMUSP. Laboratórios de Investigação Médica – LIMs).

3-Máscara:

Protege ou minimiza a inalação de gases, poeira, névoas voláteis e material biológico. A escolha do modelo deve estar de acordo com a atividade a ser realizada. (GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS, 2015, MANUAL DE BIOSSEGURANÇA, 2017).

4-Touca ou gorro:

A utilização de touca/gorro está indicada para a proteção dos cabelos e cabeça em procedimentos que podem gerar aerossóis ou evitar contaminação pelo cabelo em um ambiente estéril. Deve ser de material descartável (Ex.: TNT) e removido após o uso. O seu descarte deve ser realizado como resíduo infectante (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

5-Óculos de proteção e protetor facial:

5.1) Protetor facial

A utilização de protetores ou as máscaras faciais (face shield) é importante para proteção da face contra riscos de impactos (partículas sólidas, quentes ou frias), produtos químicos (poeiras, líquidos e vapores) e radiações (raios infravermelho e ultravioleta) . Oferecem uma proteção adicional à face do operador sem necessitar do uso de óculos de segurança. Esses EPI podem ser disponíveis em plástico, na forma de propionatos, acetatos e policarbonatos simples ou revestidos com metais para a absorção de radiações infravermelhas (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

5.2) Óculos de proteção

Os óculos de proteção ou de segurança oferecem proteção contra respingos de agentes corrosivos, irritações e outras lesões oculares decorrentes da ação de produtos químicos, radiações e partículas sólidas. Os óculos devem ser de boa qualidade para proporcionar visão transparente, sem distorções e opacidade . Para trabalhos que envolvam a luz UV, é necessária, além dos óculos de segurança, a proteção de toda a face com protetores faciais (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

6-Calçados fechados e para os pés

A utilização de calçados fechados protege os pés e pernas do trabalhador de impactos, perfurações, queimaduras, choques, substâncias químicas, calor e frio, material biológico, perigos elétricos e impactos de objetos pesados. A Norma Regulamentadora n.º 32 do Ministério do Trabalho e Emprego, que dispõe sobre a segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde, estabelece que o empregador deve vedar o uso de calçados abertos pelo trabalhador. O calçado fechado deve ser compatível com o tipo de atividade desenvolvida e é recomendável o uso de calçados com solado antiderrapante. Os propés são sapatilhas esterilizadas que constituem barreiras contra micro-organismos que podem ser levados pela sola do sapato é muito utilizados em ambientes estéreis (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

Equipamentos de Proteção Coletiva - EPC

Os Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC) são sistemas ou dispositivos que buscam a proteção da saúde e integridade física do conjunto de usuários de ambientes que apresentam riscos. Os equipamentos de proteção coletiva devem ser devidamente utilizados quando se fizerem necessários, de acordo com as recomendações dos respectivos POPs (Procedimento operacional padrão), e/ou recomendações do fabricante (MANUAL DE SEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS,2020).

1-Extintores de incêndio:

A prevenção e o combate a um incêndio são medidas que garantem a preservação da vida e diminuição dos danos materiais no local de trabalho. Todo laboratório/instituição deve ter um plano de emergência para combate ao fogo e instruções para evacuação de emergência do local que seja de conhecimento de todos. As medidas imediatas que devem ser tomadas consistem no uso de extintores adequados , lembrando sempre da possibilidade de evacuar o prédio. Os equipamentos de segurança requerem verificações regulares para assegurar que estejam em locais apropriados, bem sinalizados e funcionem adequadamente. Incêndios de pequenas proporções, na maioria das vezes, podem ser combatidos por pessoas que trabalham no próprio local (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

A seguir estão as classes de incêndios, bem como a identificação dos tipos de extintores e sua correta utilização.

Classes de Incêndios (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020):

- . **Classe A:** São materiais de fácil combustão, queimam tanto na superfície como em profundidade deixando resíduos. Ex.; papel, madeira.
- . **Classe B:** Os líquidos inflamáveis que queimam na superfície. Exemplos: álcool, gasolina, querosene.
- . **Classe C:** Equipamentos elétricos e eletrônicos energizados. Exemplos: computadores, televisores, motores.
- . **Classe D:** Materiais que requerem agentes extintores específicos. Exemplos: pó de zinco, sódio, magnésio.



Identificação dos tipos de extintores de incêndio e a utilização correta para o material combustível (Fonte: Manual de Biossegurança, UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E PATOLOGIA,2020).

As principais fontes causadoras de incêndios nos laboratórios são as seguintes (AZZI,2013):

- Equipamentos mal conservados, mal operados ou conectados em rede elétrica errada;
- Sobrecarga da rede elétrica por conectar vários aparelhos numa mesma tomada ou aparelho de alto consumo de energia, onde a fiação não suporta a amperagem;
- Operação indevida com líquidos inflamáveis;
- Vazamentos de gases inflamáveis dos cilindros de gás ou nas tubulações;
- Estocagem de líquidos inflamáveis e voláteis em refrigeradores de uso doméstico, que no sistema elétrico de partida, produzem faíscas.

2-Lava olhos:

O lava olhos é um dispositivo essencial para minimizar ou eliminar acidentes com substâncias nocivas que envolvam a face e os olhos. Deve ser de fácil acionamento e seu acesso deve estar livre. O acionamento pode ser realizado mecanicamente com a mão ou o pé. É utilizada uma pressão média de água no dispositivo para auxiliar a retirada da substância do tecido ocular. Pode ser acoplado a um chuveiro de emergência ou ser do tipo frasco de lavagem ocular (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).



3 modelos de lava olhos, sendo o terceiro acoplado ao chuveiro de emergência (Fonte: Manual de Biossegurança, UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E PATOLOGIA,2020).

Em casos de acidentes com exposição dos olhos a produtos químicos:

- Lavar os olhos durante 15 a 20 minutos em água corrente. Manter os olhos abertos enquanto se efetua a lavagem;
- Sempre procurar atendimento médico no hospital no caso de exposição dos olhos a materiais perigosos.

https://santateresa.ifes.edu.br/images/stories/Pesquisa_P%C3%B3s_gradua%C3%A7%C3%A3o_Extens%C3%A3o/coordenadoria_laboratorios/procedimentos_de_emergencia_laboratorios.pdf

3-Chuveiro de emergência:

Os chuveiros de emergência fornecem uma ducha de água que é imprescindível na eliminação de substâncias químicas corrosivas ou inflamáveis de todo o corpo da pessoa atingida (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020). É instalado em local de fácil acesso e deve estar a pelo menos numa distância de 25 m do local de trabalho, sendo acionado por alavancas de mão (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015). O chuveiro deve passar por manutenções periódicas para garantir a sua utilização em qualquer momento.



Chuveiro de emergência acoplado a lava olhos (https://www.sistemasdeincendio.com.br/chuveiro-e-lava-olhos).

4-Capelas de Segurança Química ou de Exaustão de Gases

A capela é indispensável em laboratório que realizam a manipulação de substâncias químicas que liberam vapores e gases tóxicos, irritantes, corrosivos etc. Deve ser construída com material interno resistente aos produtos que irão ser manipulados e projetada de maneira a conduzir os vapores para parte externa da instalação através de um sistema de exaustão. Além disso, deve possuir janelas em número e tamanho adequado para os usuários e ao tipo de operação.



Cabine de exaustão de gases (Fonte: https://www.dsylab.com.br/equipamentos/capelas/capela-pequena-ate-14ms-de-exaustao-de-gases-quimicos).

As capelas deverão ser verificadas antes de cada utilização, assegurando-se de que a exaustão está funcionando apropriadamente. As janelas corrediças das capelas de exaustão deverão permanecer sempre fechadas. Os aparelhos, equipamentos e reagentes deverão ser dispostos a pelo menos 15 cm de distância da janela da capela. Este procedimento reduz a turbulência durante o manuseio e evita a perda de contaminantes para o laboratório (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).

As capelas não devem ser utilizadas como local de estoque de reagentes, por isso frascos com reagentes químicos e frascos para descarte de solventes deverão estar presentes no interior da capela somente enquanto estiverem em uso. Adicionalmente, a armazenagem de reagentes nas capelas pode oferecer riscos às reações e manipulações realizadas no seu interior, podendo levar a reações inesperadas e sem controle ((MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).

Como áreas de trabalho, as capelas de exaustão deverão ser mantidas livres e limpas, antes e após seus usos. Esse equipamento não deve ser utilizado para a manipulação de qualquer organismo biológico, especialmente infecciosos (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).

5- Cabines de Segurança Biológica:

As Cabines de Segurança Biológica (CSB) são o principal EPC utilizado para proteger contra agentes infecciosos originados de vários procedimentos microbiológicos, para limitar a exposição do trabalhador no laboratório e do ambiente, e ainda, para proteger o experimento de contaminações originadas do ar (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020).

A CSB são providas de filtros de alta eficiência, o high efficiency particulate air (HEPA), o qual remove as partículas de ar, onde o ar que entra na cabine é filtrado para proteger as amostras e o ar que sai é filtrado para proteger o ambiente e os operadores. O filtro HEPA tem a capacidade para filtrar partículas com eficiência igual ou maior que 99,9%, criando um ambiente estéril e removendo a contaminação gerada no ambiente (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2020; MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2017).

As CSB são classificadas segundo os sistemas de filtração, sendo mais ou menos complexos de acordo com o tipo de microrganismo ou produto que vai ser manipulado em cada cabine. São essencialmente classificadas em três tipos (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015):

Cabine de Segurança Biológica Classe I – Oferecem proteção ao usuário e ao ambiente aspirando o ar de um filtro HEPA antes de ser exaurido para fora da cabine. É a forma mais simples de cabine. É recomendada para trabalho com agente de risco biológico baixo e moderado (nível 1 e 2), o que pode incluir alguns vírus patogênicos de baixo risco (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).

Cabines de Segurança Biológica Classe II – São as mais comuns em laboratórios de pesquisa e diagnóstico clínico. Oferecem proteção ao usuário, ao produto (experimentos, culturas e ao ambiente, filtrando o ar de entrada e de saída através de filtros HEPA). São constituídas por um sistema de fluxo laminar unidirecional, projetado para criar uma área de trabalho isenta de contaminação externa, onde se manipula com segurança os materiais biológicos ou estéreis que não podem sofrer contaminação do meio ambiente. Estas cabines podem garantir também que o material manipulado (ou experimento) não vá contaminar o operador e o meio ambiente. Em virtude do fluxo laminar de ar unidirecional, são também conhecidas como cabines de fluxo laminar. O fluxo laminar faz com que o experimento seja varrido por uma corrente de ar limpo, garantindo seu grau de limpeza. Como consequência, todos os contaminantes produzidos na área de trabalho são retirados em uma direção determinada pelo sentido do fluxo de ar. Por isto, as cabines são instaladas, preferencialmente, em locais exclusivos e protegidos ou, então, o mais afastado possível da porta de entrada do laboratório para evitar interferência no fluxo de ar. Os movimentos dentro das cabines devem ser lentos, para que este fluxo não se rompa, comprometendo a barreira de contenção. Usados para agentes do nível 1,2 e 3 (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).

Cabine de Segurança Biológica Classe III - É uma cabine de contenção máxima, totalmente fechada, com ventilação própria, construída em aço inox, à prova de escape de ar, que opera com pressão negativa. O trabalho é efetuado com luvas de borracha acopladas à cabine. Fornecem o mais alto nível de proteção e são usadas para trabalhar com agentes de nível 4. Incluindo vírus perigosos e letais (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015).



Cabine de segurança biológica classe II (A)  (<https://www.analiticaweb.com.br/p.php?tit=cabine-de-seguranca-biologica&Bid=p46c0639b4f9b5>) e classe III (B) (<https://www.medicalexpo.com/pt/prod/lamsystems/product-106773-947425.html>).

Visando as BPL deve-se seguir algumas normas para que ocorra o uso Adequado da CSB, conforme listado abaixo (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO,2015):

- Durante o uso da CSB, as portas do laboratório deverão ser mantidas fechadas, evitando-se a circulação de pessoas.
- Realizar a descontaminação das superfícies internas da cabine com gaze (ou papel absorvente que não libere fragmentos) embebida em álcool etílico ou isopropílico à 70%, sempre de cima para baixo e de trás para frente.
- A CSB deverá ser ligada pelo menos 5 minutos antes do início das atividades e permanecer ligada por 5 minutos após o término do seu uso, a fim de dar tempo para que o ar contaminado seja filtrado de dentro da cabine.
- Recomenda-se ligar a lâmpada ultravioleta cerca de 20 minutos antes de usar a cabine, depois da descontaminação das superfícies. A luz ultravioleta deverá ser desligada quando a cabine estiver sendo ocupada no intuito de proteger olhos e pele e evitar prejuízos à saúde.
- O material a ser colocado dentro da cabine deverá ser descontaminado com álcool a 70%. Recomenda-se o uso de frasco borrifador ou piseta.

- Antes de iniciar o trabalho, deverá ser ajustada a altura do banco, fazendo com que a face do operador posicione-se acima da abertura frontal. O rosto do operador deverá ficar protegido pelo vidro frontal.
- Os materiais deverão ser organizados de modo que os itens limpos e os contaminados não se misturem.
- Ao término do trabalho, a cabine deverá ser limpa com gaze (ou papel) embebida em álcool etílico ou isopropílico à 70%, e mantida ligada por 20 a 30 minutos adicionais.
- Todas as atividades deverão ser realizadas com o operador devidamente protegido com EPI.

Recomendações de utilização e operação segura de equipamentos e acessórios de laboratório

1-Manta de Aquecimento

A Manta de aquecimento (figura 35) é um equipamento de laboratório cuja função é aquecer de maneira controlada as substâncias de determinada análise. O uso da manta aquecedora é recomendado em manipulações com solventes e outros produtos inflamáveis (RIBEIRO, et al., 2010). Para uma operação segura seguir os passos abaixo (RIBEIRO, et al., 2010):

- Não deixe chapas/mantas aquecedoras ligadas sem o aviso “LIGADA”.
- Use SEMPRE chapas ou mantas de aquecimento, para evaporação ou refluxo, dentro da capela.
- Não ligue chapas ou mantas de aquecimento que tenham resíduos aderidos sobre a sua superfície.



Manta de aquecimento (Fonte:  <https://www.directindustry.com/pt/prod/electrothermal/product-71504-605954.html>).

2- Mufla

A Mufla é usada em laboratórios e em aplicações industriais, especialmente onde são necessárias altas temperaturas (1200°C ou mais) e um ambiente controlado (<https://www.splabor.com.br/blog/forno-mufla-2/o-que-e-um-forno-mufla-para-que-serve-um-forno-mufla/>). Suas funções incluem:

Calcinação: Processo que envolve o aquecimento de materiais a altas temperaturas para provocar decomposição térmica ou uma reação química. É comumente usada em processos químicos e na preparação de amostras para análises.

Secagem de amostras: Pode remover a umidade da amostra de forma eficiente e rápida.

Pesquisa e Desenvolvimento: Usados nessas pesquisas para experimentos que requerem condições de altas temperaturas controladas, ajudando na descoberta de novos materiais e processos.

A mufla pode ser utilizada para aquecer amostra de própolis a 600°C para realização de teor de cinzas. A determinação do “teor de cinzas” é particularmente importante para amostra de própolis comercializada em pó, pois esta análise pode indicar uma possível adulteração do material pela adição de impurezas, como terra, por exemplo, ou mesmo de resíduo de própolis já extraída (WOISKY, 1996).

Segue recomendações de segurança para o uso de muflas (PREVENÇÃO DE ACIDENTES EM LABORATÓRIO,2015):

- Não evapore líquidos nem queime óleos na mufla.
- Empregue, para calcinação, somente cadinhos ou cápsulas de materiais resistentes a altas temperaturas.
- Não abra a porta da mufla de modo súbito, quando estiver aquecida.
- Cuidado ao retirar materiais da mufla em alta temperatura, isto pode causar choque térmico.
- Não coloque a mufla em operação, ou a desligue, quando o pirômetro não estiver indicando a temperatura e também quando a temperatura ultrapassar a ajustada.
- Não remova ou introduza cadinhos ou cápsulas sem utilizar pinças adequadas.



Mufla (Fonte: <https://www.prolab.com.br/blog/equipamentos-aplicacoes/saiba-o-que-e-e-como-funciona-um-forno-mufla/>). 

3-Bico de Bunsen

O Bico de Bunsen recebe esse nome devido ao químico alemão William Bunsen que inventou esse aparelho. É usado para a esterilização de pequenos objetos, no polimento de peças de vidro e no aquecimento de substâncias químicas e de soluções (<https://www.manualdaquimica.com/curiosidades-quimica/bico-de-bunsen.htm>).

Esse instrumento funciona baseado na reação de combustão entre um gás combustível e o ar atmosférico. Válvulas no equipamento controlam o fluxo de ar, alterando a extensão em que ocorre a reação e, consequentemente, gerando chamas com diferentes intensidades de calor . A temperatura alcançada varia de acordo com a região da chama a que o material está exposto (<https://www.manualdaquimica.com/curiosidades-quimica/bico-de-bunsen.htm>).

É importante ressaltar que a chama apresenta diferentes zonas, e tal fato é importante para que o processo de Flambagem seja executado adequadamente, já que certas zonas da chama devem ser evitadas. As zonas da chama são: Zona Neutra (é uma zona fria e, portanto, não deve ser utilizada para Flambagem), Zona Redutora e Zona Oxidante (são zonas onde já ocorre a combustão e, portanto, já podem ser usadas para a Flambagem) (MENDES & KESSLE.2003).

Bicos de Bunsen deverão estar localizados em ambientes com ventilação adequada, evitando privação de oxigênio e evitando a geração de uma atmosfera inflamável quando, por exemplo, pipetam-se solventes inflamáveis ou gases. Seguem recomendações de segurança na utilização do bico de Bunsen no laboratório (PREVENÇÃO DE ACIDENTES EM LABORATÓRIO,2015):

- Utilizar substâncias inflamáveis em suas proximidades é extremamente proibido;
- Iinspecionar as mangueiras antes da utilização atentando-se às condições da mangueira, se está danificada, dobrada ou apresenta qualquer anomalia;
- Manter sempre regulada a mistura gás/ar, assim evitando grandes labaredas;
- Manter distância de segurança de 30 cm ou mais do bico;
- Não aproximar a face do bico em chamas ou logo após seu uso.

4-Centrífuga

A centrífuga para laboratório é um equipamento utilizado para a separação de fluidos, gás ou líquido, com base na densidade. A separação ocorre ao girar um tubo ou frasco contendo material em alta velocidade (<https://www.prolab.com.br/produtos/equipamentos-para-laboratorio/centrifugas-para-laboratorio/>).

O bom funcionamento mecânico das centrífugas é requisito prévio de segurança biológica para a sua utilização. Estes equipamentos são operados de acordo com as instruções do fabricante. As centrífugas são colocadas em bancadas cuja altura permita que funcionários possam visualizar o seu interior, com objetivo de que possam dispor corretamente os materiais a serem centrifugados. Os tubos devem ter pesos correspondentes para que os porta-tubos fiquem bem equilibrados (COSTA & DUTRA,2013).



Centrífuga

(Fonte: <https://loja.driller.com.br/todos-produtos/centrifuga-clinica-cs-touch>).

5-Autoclave

É o método de esterilização por calor úmido mais eficiente e rápido. As autoclaves são equipamentos que realizam o processo de esterilização utilizando vapor saturado sob pressão. São indicadas para a esterilização de materiais termoresistentes como, meios, instrumentos e materiais de laboratório (MANUAL DE BIOSSEGURANÇA,2017). Através de um método físico, utilizando uma combinação de alta pressão e temperatura é possível eliminar microrganismos e esporos

(<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2017/03/como-usar-autoclave-no-laboratorio.html>):

Deve-se seguir recomendações para utilizar a autoclave de forma segura, como descrito a seguir (PREVENÇÃO DE ACIDENTES EM LABORATÓRIO, 2015,

<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2017/03/como-usar-autoclave-no-laboratorio.html>:

- A autoclave deverá ser utilizada somente por pessoas devidamente treinadas e com equipamentos de proteção específicos, como óculos e luvas térmicas;
- Só abrir o equipamento após o esvaziamento total do vapor quente, de preferência pelo menos 30 minutos após o término da autoclavagem;
- Prever manutenção regular do equipamento;
- Pode autoclarar: Meios líquidos, líquidos não inflamáveis, soluções aquosas e resíduos biológicos líquidos, frascos de cultura de células, Instrumentos cirúrgicos, vidraria de laboratório, ponteiras, meios de cultura, polipropileno, aço inoxidável, luvas;
- Líquidos devem preencher até 2/3 da capacidade total do recipiente e a tampa deve permanecer frouxa, nunca totalmente fechada;
- O que NÃO pode autoclarar: Materiais inflamáveis, reativos, corrosivos, tóxicos ou radioativos. Hipoclorito também nunca deve ser autoclavado, nem líquidos em recipientes selados. Ácidos, bases e solventes orgânicos;

Para autoclarar é necessário utilizar jaleco, óculos de proteção, sapatos fechados e luvas resistentes ao calor para remover os materiais, especialmente vidraria quente. O material a ser autoclavado, como por exemplo, placas de Petri, caixas de pipetas, tubos, elermeyer, becker deve ser embalados em papel craft (cor marrom) antes de ir para autoclave (<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2017/03/como-usar-autoclave-no-laboratorio.html>).



Autoclave (Fonte: <https://www.marcamedica.com.br/autoclave-vertical-300l-primatec/>). 

6-Estufa ou Forno de Pauster:

A estufa é o método de esterilização por calor seco. É o procedimento por inativação com altas temperaturas. É indicado para esterilizar vidrarias, instrumentos de corte ou de ponta, os quais podem oxidar na presença do vapor da autoclave, e materiais impermeáveis como ceras, extratos de plantas e óleos (MENDES & KESSLER,2003). Para o processo de esterilização ser eficiente é necessário (MENDES & KESSLER,2003):

- Aquecer a estufa até a temperatura desejada antes da colocação do material.
- Os materiais devem estar rigorosamente limpos e adequadamente embalados.
- A colocação do material deve permitir a circulação do ar, portanto a estufa não pode estar abarrotada de material. Deve ser mantida uma distância de 2 cm entre as caixas.
- O tempo de esterilização: 170°C durante 90 minutos ou 160°C por 120 minutos.
- O procedimento de limpeza da estufa deve seguir os seguintes passos (FIGUEIREDO et al.,2012):

- 1) Desligar a estufa;
- 2) Deixar esfriar;
- 3) Limpar todo interior, inclusive as prateleiras, com hipoclorito de sódio a 2 %, aguardar de 2 a 5 minutos;

- 4) Passar uma gaze ligeiramente umedecida em água; limpar todo interior, inclusive as prateleiras, com álcool a 70 %; deixar secar;
- 5) Ligar a estufa e deixar fechada até que atinja a sua temperatura pré-determinada;
- 6) Somente pode ser usada após atingir a temperatura ideal.



Estufa ou Forno de Pauster (Fonte:  <https://www.vitchlab.com.br/equipamentos/estufa-esterilizacao/estufas-de-cultura-bacteriologica-digital-interior-em-aco-inox-vitchlab>).

7-Banho Maria

O banho maria é um equipamento de laboratório utilizado para aquecer substâncias líquidas e semi-sólidas contidos em recipientes apropriados até a temperatura de ebulição da água. É recomendado sua utilização para substâncias que não podem ser expostas todos os dias ao fogo e que precisam ser aquecidas lenta e uniformemente (<https://www.laborglas.com.br/banho-maria-laboratorio>).

O nível da água no banho-maria deve sempre ser verificado, pois as resistências de aquecimento devem estar sempre totalmente submersas (<https://www.laborglas.com.br/banho-maria-laboratorio>).



Banho maria (Fonte: <https://cap-lab.com.br/produto/banho-maria-digital/>). 

8-Geladeira e freezer

Todos os materiais guardados dentro de Geladeira e freezer devem ser bem identificados, materiais sem identificação ou antigos são descontaminados e descartados (COSTA & DUTRA,2013). Substâncias inflamáveis não devem ser guardadas dentro de refrigeradores ou freezers. Para fazer a limpeza interna e externa utilizar água e sabão, secando após. Friccionar as superfícies internas com álcool a 70% durante 2 minutos. Para limpar as borrachas das portas usa-se bicarbonato de sódio (1 colher de sopa para cada litro de água morna) (COSTA & DUTRA,2013).

Manuseio da Vidraria de Laboratório (Manual de Biossegurança, 2017)

- Utilizar apenas vidros de borossilicato , resistentes ao calor, para aquecimentos ou reações que liberam calor.
- Nunca fechar hermeticamente o frasco de vidro ao aquecê-lo. Vidros contendo substâncias inflamáveis devem ser aquecidos em banho-maria, nunca em mantas ou em chama. Utilizar sempre luvas com poder de isolamento térmico adequado.
- Descartar material de vidro de forma adequada. Quando quebrados descartar como material perfurante em caixas de papelão resistente.
- Materiais de vidro com paredes grossas, tais como: jarras, cubas, garrafões, dessecadores, não devem ser aquecidos em chama direta, placa aquecedora ou outras fontes de calor similares.
- Nunca levar um frasco de vidro à chama direta. Recomenda-se manta aquecedora.
- Vidros contendo substâncias inflamáveis devem ser aquecidos em banho-maria, nunca em mantas ou em chama.

Descontaminação em Laboratórios

Os materiais utilizados e os locais do laboratórios onde são executados os procedimentos podem veicular agentes infecciosos se não forem descontaminados após cada uso. Assim, a limpeza, desinfecção ou esterilização dos materiais e do ambiente de trabalho são ações preventivas de Boas práticas laboratoriais (COSTA & DUTRA,2013). A descontaminação consiste na utilização de processos que eliminam total ou parcialmente microrganismos. O objetivo da descontaminação é tornar qualquer material seguro para o descarte final ou para a reutilização (COSTA & DUTRA,2013).

a) Limpeza

É o conjunto de ações que visa à remoção de sujeiras e detritos. As operações de limpeza compreendem o uso da água e sabão, escovação, fricção ou esfregaçāo e o uso de pano úmido (COSTA & DUTRA,2013).

b) Desinfecção

Consiste na destruição, remoção ou redução dos microrganismos. Visa eliminar a potencialidade infecciosa do objeto, superfície ou local. Esse processo não deve ser confundido com a esterilização, pois pode reduzir ou inibir o crescimento bacteriano (FIGUEIREDO et al.,2012).

A desinfecção pode ser realizada utilizando álcool (álcoois etílico e isopropílico), compostos biclorados (hipoclorito), formaldeído, peróxido de hidrogênio, compostos iodados, glutaraldeídos, radiação UV e pasteurização (FIGUEIREDO et al.,2012).

b.1) Álcool

Os álcoois mais empregados em desinfecção são o etanol ou álcool etílico e o isopropanol ou álcool isopropílico. Entretanto, o álcool etílico tem maior atividade germicida, menor custo e menor toxicidade que o isopropílico (COSTA & DUTRA,2013). Suas propriedades são atribuídas ao fato de causarem desnaturação das proteínas quando na presença de água. Observa-se também ação bacteriostática pela inibição da produção de metabólitos essenciais para a divisão celular rápida (FIGUEIREDO et al.,2012). O álcool 70% possui concentração ótima para o efeito bactericida, porque a desnaturação das proteínas do microrganismo faz-se mais eficientemente na presença da água, pois esta facilita a entrada do álcool para dentro da bactéria e também retarda a volatilização do álcool, permitindo maior tempo de contato (<https://revistaanalytica.com.br/por-que-o-alcool-70-e-mais-eficaz-como-bactericida-do-que-o-alcool-absoluto/#:~:text=O%20%C3%A1lcool%2070%25%20possui%20concentr,a%C3%A7%C3%A3o,permitindo%20maior%20tempo%20de%20contato>)

Não funciona na esterilização, pois não apresentarem atividade contra esporos bacterianos (FIGUEIREDO et al.,2012).

b.2) Hipoclorito

Geralmente usam-se os hipocloritos, de sódio ou cálcio, apresentando estes amplo espectro de atividade antimicrobiana, com baixo custo e ação rápida (FIGUEIREDO et al.,2012). Acredita-se que estes produtos agem por inibição de algumas reações enzimáticas-chave dentro das células, por desnaturação de proteína e por inativação do ácido nucléico (FIGUEIREDO et al.,2012). É muito ativo para bactérias na forma vegetativa, gram-positivas e negativas, micobactérias, esporos bacterianos, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos (COSTA & DUTRA,2013).

b.3) Pasteurização

A proposta da pasteurização é destruir os microorganismos patogênicos, sem, no entanto, eliminar os esporos bacterianos (FIGUEIREDO et al.,2012). É uma alternativa para a desinfecção, porém menos eficiente que a desinfecção por agentes químicos.

C) Esterilização

Esterilização é a eliminação ou destruição completa de todas as formas de vida microbiana (FIGUEIREDO et al.,2012). Alguns microrganismos produzem esporos, que são formas de resistência, podendo permanecer inativos por longos períodos e depois voltar ao estágio inicial de infectividade. Portanto as técnicas de esterilização devem destruir tanto a célula bacteriana, como os esporos (MENDES & KESSLER,2003). A esterilização pode ser realizada por técnicas como, esterilização por vapor, óxido de etileno, esterilização por calor seco, radiação ionizante, químicos líquidos, filtração e ondas curtas (FIGUEIREDO et al.,2012).

C.1) Esterilização por calor seco (Estufa ou forno de Pasteur)

O calor seco leva a desnaturação e oxidação das proteínas, que resultam na morte dos microrganismos (MENDES & KESSLER,2003).A utilização do calor seco leva mais tempo que o calor úmido, mas como existem materiais que não podem ser esterilizados no calor úmido, o calor seco é o preferido. É indicado para esterilizar vidrarias, instrumentos de corte ou de ponta (MENDES & KESSLER,2003).

C.2) Esterilização pelo Calor Úmido (autoclave)

A penetração do vapor no material garante maior nível de destruição dos microrganismos, e por este motivo é mais rápido (MENDES & KESSLER,2003).

Manejo dos Resíduos Laboratoriais

A Lei nº 12.305/10, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, sustenta a prevenção e a redução na geração de resíduos, bem como sua destinação ambientalmente adequada, além de decidir que as instituições elaborem seus Planos de Gerenciamento de Resíduos (LEI Nº 12.305, DE 2 DE AGOSTO DE 2010).

A implementação de um Plano de Gerenciamento de Resíduos Laboratoriais (PGRL) em Instituições de Ensino e Pesquisa no Brasil é de suma importância, especialmente por conciliar atividades educacionais com a conscientização ambiental e senso crítico (DO RIO VERDE, 2020). A Resolução Anvisa Nº 306/2004, que se constitui em um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, tem o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar-lhes um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando a proteção dos trabalhadores, a preservação da saúde pública e do meio ambiente (RDC/ANVISA nº 306,2004). O acondicionamento, a identificação, o armazenamento temporário e a destinação final serão tratadas de acordo com a classificação dos resíduos constantes na Resolução Avisa nº 306/2004 e a norma ABNT NBR-7500. Os resíduos, em geral, podem ser classificados nos seguintes grupos como visto na tabela 4.

GRUPO	CARACTERÍSTICA
A	Biológico
B	Químico
C	Radioativo
D	Semelhante aos domiciliares e recicláveis
E	Perfurantes, cortantes e abrasivos

Classificação dos resíduos em 5 grupos. 

Grupo A: Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção. Os resíduos contendo agentes biológicos, em geral, devem ser submetidos a processos para redução ou eliminação da carga microbiana, em equipamentos compatíveis aos níveis de Inativação Microbiana descritos na Resolução Avisa nº 306/2004.

Devem ser identificados pelo símbolo de substância infectante constante na ABNT NBR 7500. Exemplos de segregação, manejo e destinação final de resíduos biológicos podem ser vistos na tabela 5 (DO RIO VERDE, 2020).

Grupo B: Resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade. Resíduos químicos que não apresentam risco à saúde ou ao meio ambiente não necessitam de tratamento, podendo ser submetidos a processo de reutilização, recuperação ou reciclagem. Alguns resíduos em estado líquido podem ser lançados na rede coletora de esgoto ou em corpo receptor, desde que atendam às diretrizes estabelecidas pelos órgãos ambientais, gestores de recursos hídricos e de saneamento competentes. Os produtos químicos em condições viáveis de serem reciclados ou tratados devem ser armazenados em separado de outras misturas (misturas químicas complexas inviabilizam a reciclagem). Os resíduos que não podem ser submetidos a esses processos, devem ser segregados, rotulados. Exemplos de segregação e manejo de resíduos químicos podem ser vistos na tabela 6 (DO RIO VERDE, 2020).

Grupo C: Quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista. O Grupo C é representado pelo símbolo internacional de radiação ionizante (trifólio de cor magenta) em rótulos de fundo amarelo e contornos pretos, acrescido da expressão REJEITO RADIOATIVO (DO RIO VERDE, 2020).

Grupo D: Resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares. Os resíduos classificados neste grupo devem ser acondicionados de acordo com as orientações dos serviços locais de limpeza urbana (DO RIO VERDE, 2020). Caso haja lixeiras múltiplas, as cores e respectivas nomeações seguem a Resolução do CONAMA nº 275/2001:

- Azul: Papéis;
- Amarelo: Metais;
- Verde: Vidros;
- Vermelho: Plásticos;
- Marrom: Resíduos orgânicos.

Grupo E: O Grupo E é identificado pelo símbolo de substância infectante constante na NBR-7500 da ABNT, com rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos, acrescido da inscrição de RESÍDUO PERFUROCORTANTE e aos riscos adicionais, indicando o risco que apresenta o resíduo. O volume dos recipientes de acondicionamento deve ser compatível com a geração diária deste tipo de resíduo com preenchimento máximo de 2/3 de sua capacidade (DO RIO VERDE, 2020). O armazenamento temporário, o transporte interno e o armazenamento externo destes resíduos podem ser feitos nos mesmos recipientes utilizados para o Grupo A; sendo proibido o esvaziamento ou reaproveitamento destes. Caso não esteja contaminado com microrganismos, é possível o descarte junto aos resíduos comuns (DO RIO VERDE, 2020). Na tabela 7 é possível ver a Segregação e manejo de resíduos perfurocortantes.

RESÍDUO	SEGREGAÇÃO/MANEJO	DESTINO FINAL
Meio de cultura ou materiais contendo organismos não patogênicos.	Esterilização em autoclave. (vidrarias e utensílios).	Descartar em pia do resíduo líquido.
Materiais com sangue, secreções ou similares.	Esterilização em autoclave. Segregação e armazenamento em rígido, com saco branco e identificado como "infectante".	Coleta e destinação final por empresa habilitada.
Frascos ou similares com restos de produtos biológicos ou vencidos.	Esterilização em autoclave. Segregação e armazenamento em rígido, com saco branco e identificado como "infectante".	Coleta e destinação final por empresa habilitada

Segregação, manejo e destinação final de resíduos biológicos (PLANO DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS LABORATORIAIS DO IFMT-LRV,2020).

RESÍDUO	SEGREGAÇÃO/MANEJO
Ácidos e bases ou suas soluções sem a presença de elementos tóxicos ou metais pesados.	Neutralizar a pH 7.
Solventes não halogenados (exemplos: hidrocarbonetos, álcoois, éteres, ésteres e cetonas).	Armazenados em galões de plástico de 5 L, no interior do laboratório, em local seguro. Observar a compatibilidade entre os resíduos e o tipo de embalagem. Os galões devem estar identificados nesta categoria e rotulados com a simbologia "tóxico".
Resíduos químicos sólidos.	Armazenados em galões de embalagens plástico de 5 L (baldes) com tampa. Identificar nesta categoria e rotular com a simbologia "tóxico".

Segregação e manejo de resíduos químicos(PLANO DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS LABORATORIAIS DO IFMT-LRV,2020).

SEGREGAÇÃO	MANEJO
Perfurocortantes ou escarificantes: todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório e similares.	Descartar em recipiente rígido identificado como "perfurocortante".
Agulhas descartáveis.	Devem ser desprezadas juntamente às seringas (quando descartáveis).
Resíduos contaminados com substâncias químicas perigosas.	Devem ser submetidos ao mesmo tratamento da substância contaminante.

Segregação e manejo de resíduos perfurocortantes (PLANO DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS LABORATORIAIS DO IFMT-LRV,2020).

Recomendações Gerais para Descarte de Resíduos

Resíduos são materiais considerados sem utilidade por seu possuidor. Aqui se incluem todo e qualquer tipo de resíduo, seja ele um produto químico, ou uma vidraria, embalagens, luvas, máscaras, tocas e outros mais (DOS SANTOS & SOUZA, 2013).

Os resíduos perigosos são todos os resíduos sólidos, semi-sólidos e os líquidos não passíveis de tratamento convencional, resultantes da atividade industrial e do tratamento convencional de seus efluentes líquidos e gasosos que, por suas características, apresentam periculosidade efetiva e potencial a saúde humana, ao meio ambiente e ao patrimônio público e privado, requerendo cuidados especiais quanto ao acondicionamento, coleta, transporte, armazenamento, tratamento e disposição (DOS SANTOS & SOUZA, 2013). Esses resíduos gerados deverão ser acondicionados, rotulados e encaminhados para área de Armazenamento Externo de Resíduos Químicos, para ser descartado adequadamente (DOS SANTOS & SOUZA, 2013).

Rotulagem das Embalagens

Todas as embalagens para armazenagem dos resíduos deverão ser identificadas por meio de um rótulo (Figura 41). A rotulagem dos resíduos é de responsabilidade do gerador, e deve obedecer ao padrão proposto pela Resolução Avisa nº 306/2004 e a norma ABNT NBR-7500. O preenchimento do rótulo pode ser feito manualmente, contudo o gerador do resíduo deve observar a listagem e a compatibilidade do resíduo antes de depositá-lo na embalagem (DO RIO VERDE, 2020).

RISCO ASSOCIADO (ABNT NBR 16725:2014)		COLETA DE RESÍDUOS PERIGOSOS COM RISCO QUÍMICO		UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CNPJ 83.809.529/0001-82														
	<input type="checkbox"/> Inflamável	Unidade:		<input type="checkbox"/> ARMAÇÃO DO PÂNTANO DO SUL <input type="checkbox"/> FAZENDA DA RESSACADA <input type="checkbox"/> CIDADE DAS ABELHAS														
	<input type="checkbox"/> Explosivo	Nº da solicitação:		Data de início de uso: ___ / ___ / ___														
	<input type="checkbox"/> Oxidante	Laboratório:		Data da coleta: ___ / ___ / ___														
	<input type="checkbox"/> Corrosivo	Centro / Departamento:		Volume do recipiente: ___ % preenchimento : <input type="checkbox"/> 5L <input type="checkbox"/> 10L <input type="checkbox"/> 20L														
	<input type="checkbox"/> Tóxico	Responsável / Ramal:																
Descrição do Resíduo: (detalhar os componentes e concentração aproximada, quando aplicável)																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>[]</th> <th>Descrição</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>					[]	Descrição												
[]	Descrição																	
CÓDIGO IBAMA: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> (*)			(IBAMA - Instrução Normativa nº 13/2012) Consulte: http://www.ibama.gov.br/															
ESTADO FÍSICO <input type="checkbox"/> sólido <input type="checkbox"/> líquido			CARACTERÍSTICA QUÍMICA															
MATERIAIS CONTAMINADOS <input type="checkbox"/> perfumocortantes <input type="checkbox"/> vidrarias de laboratório <input type="checkbox"/> luvas/papel/ponteira <input type="checkbox"/> frasco vazio de reagente <input type="checkbox"/> outros: _____ <input type="checkbox"/> plástico <input type="checkbox"/> vidro			<input type="checkbox"/> halogenado <input type="checkbox"/> ácidos <input type="checkbox"/> não halogenado <input type="checkbox"/> bases <input type="checkbox"/> óxidos <input type="checkbox"/> sais <input type="checkbox"/> oxidantes <input type="checkbox"/> metais <input type="checkbox"/> redutores															
RESÍDUO PERIGOSO CLASSE I (ABNT NBR 10004:2004)		VERSAO 3.1		Dúvidas, consulte: http://gestaoderesiduos.ufsc.br/														

Rótulo de identificação de resíduos perigosos com risco químico (Fonte: https://residuos.pginas.ufsc.br/files/2015/04/Manual-de-Preenchimento-do-R%C3%BCtulo_vers%C3%A3o-3.3-Setembro-de-2019-1.pdf).

Segregação dos Resíduos nos Pontos de Geração

A segregação dos resíduos deverá ocorrer no ponto de geração. Os resíduos deverão ser dispostos em recipientes (lixeiras, galões ou bombonas). Cada recipiente deverá estar identificado com rótulo de identificação e obedecer aos requisitos técnicos estabelecidos para cada grupo (DO RIO VERDE, 2020). Os resíduos permanecerão segregados nos pontos de geração até serem levados à Central de Gerenciamento de Resíduos. Caso algum resíduo necessite de despacho imediato, será acionada empresa terceirizada para coleta e destino final (DO RIO VERDE, 2020).

Coleta de Transporte Internos

Após adequada segregação dos resíduos nos laboratórios, estes devem ser deslocados dos pontos de geração até o local destinado ao armazenamento temporário, precedente à coleta (DO RIO VERDE, 2020). A coleta e o transporte devem ser realizados de maneira segura (para impedir o rompimento dos recipientes), utilizando cestos ou carrinhos coletores e o responsável deve utilizar equipamentos de proteção individuais (EPIs) (DO RIO VERDE, 2020).

Central de Gerenciamento de Resíduos

O local de armazenamento dos resíduos químicos e biológicos devem ser exclusivos para tal propósito e possuir acesso que facilita o deslocamento destes resíduos. A Central seja construída em alvenaria, fechada, dotada apenas de aberturas para a ventilação adequada e com proteção contra acesso de insetos e animais. Deverá possuir uma área específica de higienização para limpeza e desinfecção simultânea dos recipientes coletores e demais equipamentos utilizados no manejo de resíduos (DO RIO VERDE, 2020).

Coleta e Transporte Externos

Os resíduos comuns do grupo D podem ser coletados e transportados em veículos de coleta domiciliar. Os resíduos dos grupos A, B e E devem ser coletados e transportados em veículos que atendam às exigências da ABNT NBR 7500. A coleta deverá ser realizada por empresa terceirizada, apta legalmente, habilitada, devidamente licenciada perante os órgãos ambientais, contratada para esse fim. Na operação de coleta, os funcionários devem fazer uso de EPIs adequados, em conformidade com as normas técnicas (a cargo da empresa) (DO RIO VERDE, 2020).

Tratamento e Destinação Final

Os resíduos que não forem reciclados ou reaproveitados serão direcionados a empresas terceirizadas, aptas legalmente, habilitadas, devidamente licenciadas perante os órgãos ambientais para o tratamento e a destinação final destes. As empresas deverão realizar o tratamento e a destinação final conforme as características físico-químicas dos resíduos. A empresa prestadora do serviço poderá fornecer o “Certificado de Destinação Final dos Resíduos” (DO RIO VERDE, 2020).

Bibliografia Consultada

AZZI G.L. RECOMENDAÇÕES E PROCEDIMENTOS DE PROTEÇÃO NOS LABORATÓRIOS DO CBPF, 2013.

BINSFELD, P. C. et al. Classificação de risco dos agentes biológicos de importância para a saúde pública. International Journal of Biosafety and Biosecurity, Uberlândia, v. 1, n. 2, 2010.

BORBA CM, DA COSTA MAF, PEREIRA MEC, DE CARVALHO PR, VALLE S. Biossegurançae boas práticas laboratoriais. Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde, 2009.

BRASIL- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. LEI N° 12.305, DE 2 DE AGOSTO DE 2010.

BREVIGLIERO, Ezio; POSSEBON, José; SPINELLI, Robson. Higiene Ocupacional: agentes biológicos, químicos e físicos. São Paulo: SENAC, 2011.

CLASSIFICAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS. 3^aed. MINISTÉRIO DA SAÚDE Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde, 2017.

COSTA Y.R; DUTRA S.M.D. MANUAL DE BIOSSEGURANÇA. Estado de Santa Catarina Secretaria de Estado da Saúde Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN/SC, 2013.

DA SILVA, S.A. GUIA DE INCOMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS. 2019.

DE OLIVEIRA M.B. Manual de Boas Práticas de Laboratório. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

DO NASCIMENTO C. H.A. ANÁLISE DE BIOSSEGURANÇA: ESTUDO DE CASO DE UM LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DE UMA REDE DE ENSINO PÚBLICO. Monografia apresentada como atividade obrigatória à integralização de créditos para conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, 2019.

DO RIO VERDE, L. PLANO DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS LABORATORIAIS DO IFMT-LRV. Instituto Federal de educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, 2020.

DOS SANTOS B.A, SOUZA G.A. BPL – Boas Práticas de Laboratório. Descarte de resíduos de laboratório, 2013.

FIGUEIREDO M.V.B; GOMES E.W.F; DA ROSA R.C.T; MESSIAS AS; OLIVEIRA J.P; CARRAZZONI E.P; DA COSTA A.F; LOPES G.M.B. Boas Práticas de Laboratório (BPL): um guia operacional do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), 2012.

GUIA DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS. HOSPITAL DAS CLÍNICAS – FMUSP. Laboratórios de Investigação Médica – LIMs. Gerência Técnica – LIM. São Paulo, 2015.

LABORATÓRIO DE QUÍMICA – QUI126. Segurança Química (aula 1), 2018.

MANUAL DE BIOSSEGURANÇA. UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E PATOLOGIA, 2020.

MANUAL DE BIOSSEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO. COMISSÃO INTERNA DE BIOSSEGURANÇA CIBio/UFRGS, 2015.

MANUAL DE BIOSSEGURANÇA. LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESPÍRITO SANTO, 2017.

MANUAL DE SEGURANÇA E QUALIDADE PARA APICULTURA. Série Qualidade e Segurança dos Alimentos, 2009.

MANUAL DE SEGURANÇA E BOAS PRÁTICAS. LABORATÓRIOS DE ENSINO. SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA - CÂMPUS GAROPABA,2020.

MENDES A.M; KESSLER C.C. Aulas Práticas de Microbiologia para Odontologia. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2003.
MINISTÉRIO DO TRABALHO.NR17. Publicada em 1978 e atualizada em 2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO (MTE) PORTARIA n. 5 de 17/8/1992.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 05 - COMISSÃO INTERNA DE PREVENÇÃO DE ACIDENTES. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 06 - EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL – EPI. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 17 – ERGONOMIA. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 20 - SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO COM INFLAMÁVEIS E COMBUSTÍVEIS. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 23 - PROTEÇÃO CONTRA INCÊNDIOS. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 26 - SINALIZAÇÃO DE SEGURANÇA. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 32 - SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO EM SERVIÇOS DE SAÚDE. Publicada em 11 de novembro de 2005, atualizada em 20/12/2022.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. NR 08 – EDIFICAÇÕES. Publicada em 08/07/1978, atualizada em 20/12/2022.

NORMA BRASILEIRA. ABNT NBR 14725-4. Produtos químicos — Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente Parte 4: Ficha de informações de segurança de produtos químicos (FISPQ), 2009.

NORMA BRASILEIRA. ABNT NBR 7500. Identificação para o transporte terrestre, manuseio, movimentação e armazenamento de produtos,2004.

PINTO J. E. S. L; COSTA J. J. R; FRAZÃO K. M. R; DANTAS A. N. S; BARBOSA C. M; COSTA E.B.G. ELABORAÇÃO DE UM MAPA DE RISCO DE UM LABORATÓRIO DE ENSINO DE QUÍMICA: PRATICANDO O CONHECIMENTO APRENDIDO EM SALA DE AULA, 2013.

PREVENÇÃO DE ACIDENTES EM LABORATÓRIO. Universidade federal do Paraná, 2015.

RESOLUÇÃO – RDC/ANVISA nº 306, de 7 de dezembro de 2004.

RESOLUÇÃO CONAMA nº 275, de 25 de abril 2001. Estabelece o código de cores para os diferentes tipos de resíduos, a ser adotado na identificação de coletores e transportadores, bem como nas campanhas informativas para a coleta seletiva.

RIBEIRO PEA, ANDRADE HML, MASSULA M. Manual de Uso do GERELAB - Laboratório de Gerenciamento de Resíduos. Embrapa, 2010.
SILVA, S. E. P. Processo de construção dos mapas de risco dos laboratórios do Instituto de Biociências da UFMT – Campus Cuiabá. Trabalho de Conclusão de Curso – Especialização - Universidade Federal de Mato Grosso, 2018.

WOISKY, R.G. do Rio. Métodos de controle químico de amostras de prrópolis. São Paulo. 1996. 74 f. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

Sites Visitados

<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2015/06/Aula-01-seguran%c3%a7a-de-laborat%c3%b3rio-docx.pdf> (página visitada 19/05/2024).

https://www.pgp.ufv.br/wp-content/uploads/2012/12/Manual_de_Segurança_do_LGQA-1.pdf (página visitada 19/05/2024).

<https://www.segurancadotrabalho.ufv.br/o-uso-de-refrigeradores-para-armazenamento-de-produtos-químicos-em-laboratorio/> (página visitada 19/05/2024).

<https://ehssegaranca.com.br/riscos-fisicos/> (página visitada 19/05/2024).

<https://kadeshepi.com.br/riscos-fisicos-como-prevenir/> (página visitada 19/05/2024).

<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosfisicos> (página visitada 19/05/2024).

https://www.ccdr-a.gov.pt/docs/ambiente/Doc_ruido.pdf (página visitada 19/05/2024).

<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/riscosquimicos>(página visitada 19/05/2024).

<https://www.marilia.unesp.br/#!cipa/mapa-de-risco/04---riscos-quimicos/>(página visitada 19/05/2024).

https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab_virtual/riscos_biologicos.html#:~:text=As%20principais%20vias%20envolvidas%20num,conjuntiva%20e%20a%20via%20oral (página visitada 19/05/2024).

<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/virtual%20tour/hipertextos/up1/classeificacao-de-risco.htm> (página visitada 19/05/2024).

<https://www.fiocruz.br/bibmang/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=85&sid=106> (página visitada 20/05/2024).

<https://www.unifal-mg.edu.br/riscosambientais/niveisbiosseguranca> (página visitada 20/05/2024).

https://santateresa.ifes.edu.br/images/stories/Pesquisa_P%C3%B3s_graduada%C3%A7%C3%A3o_Extens%C3%A3o/coordenadoria_laboratorios/procedimentos_de_emergencia_laboratorios.pdf (página visitada 23/05/2024).

<https://www.splabor.com.br/blog/forno-mufla-2/o-que-e-um-forno-mufla-para-que-serve-um-forno-mufla/>(página visitada 23/05/2024).

<https://www.manualdaquimica.com/curiosidades-quimica/bico-de-bunsen.htm> (página visitada 23/05/2024).

<https://www.prolab.com.br/produtos/equipamentos-para-laboratorio/centrifugas-para-laboratorio/> (página visitada 23/05/2024).

<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2017/03/como-usar-autoclave-no-laboratorio.html> (página visitada 23/05/2024).

<https://www.laborglas.com.br/banho-maria-laboratorio> (página visitada 23/05/2024).

<https://revistaanalytica.com.br/por-que-o-alcool-70-e-mais-eficaz-como-bactericida-do-que-o-alcool-absoluto/#:~:text=O%20%C3%A1lcool%2070%25%20possui%20concentra%C3%A7%C3%A3o,permitindo%20maior%20tempo%20de%20contato> (página visitada 24/05/2024).

Metodologia para análise microbiológica do mel



Metodologia para Análise Microbiológica do Mel

Patrícia Rodrigues Orsi

Microrganismo

Microrganismos, como o próprio nome revela, micro significa pequeno e organismo significa vivo. São organismos vivos, tão pequenos que são invisíveis a olho nu, ou seja, normalmente só conseguimos enxergá-los com auxílio microscópio. Os microrganismos incluem as bactérias, os fungos, os vírus e alguns parasitas (ANVISA -Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação). São amplamente distribuídos, estando presentes no solo, no ar, na água, nos alimentos, nos animais, insetos, no lixo e na sujeira em geral. Podem ainda ser encontrados no homem, tanto na pele, no cabelo, nas unhas, como em áreas internas do corpo como boca e garganta. As fezes e os ferimentos apresentam grandes quantidades de microrganismos prejudiciais à saúde (ANVISA - Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação).

A área que estuda os microrganismos é a microbiologia, nos seus mais variados aspectos como morfologia, fisiologia, reprodução, genética, taxinomia e na sua interação com outros seres e o meio ambiente (TRABULSI et al.,2002).

Microrganismos nos Alimentos

A presença de microrganismos nos alimentos podem ser essenciais e benéficos aos consumidores como por exemplo, aqueles utilizados na fabricação de iogurtes, pães e queijos. Entretanto, existem microrganismos que são deteriorantes, pois estragam o alimento, alterando a cor, o sabor, o odor, a textura etc. E tem aqueles que são prejudiciais à saúde ou patogênicos, isto é, podem causar doenças em quem os consome, como bactérias patogênicas e fungos toxigênicos (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos; ANVISA -Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação). No caso de microrganismos patogênicos estes podem causar toxinfeções alimentares, as quais englobam as infecções alimentares e as intoxicações alimentares. As infecções alimentares ocorrem quando se ingere um alimento contaminado com um microrganismo que é capaz de se multiplicar no tubo digestivo, nomeadamente ao nível do intestino, provocando doença. Eventualmente, os microrganismos podem passar para a corrente sanguínea e invadir outros tecidos do corpo.

Por outro lado, as intoxicações alimentares resultam da ingestão de alimentos onde existem toxinas, que podem ter origem em contaminação química ou terem sido produzidas por microrganismos presentes nos alimentos. Outro aspeto importante é que muitas vezes a transmissão dos agentes patogénicos é feita através das mãos, que são responsáveis pela maior disseminação dos microrganismos de uns locais para outros (https://www.metis.med.up.pt/index.php/Toxinfe%C3%A7%C3%B5es_alimentares).

O perigo ao consumidor pode ocorrer quando os princípios elementares de higiene são violados o que pode ocasionar contaminação ao produto final, alterações de ordem sensorial e até possibilidade de ocorrência de intoxicação alimentar (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos; ANVISA -Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação).

A importância de microrganismos em alimentos depende de algumas condições como: o número em que são encontrados; o tipo de microrganismos e do alimento; o tratamento pelo qual o alimento foi submetido; o processamento e a estocagem; se o alimento está pronto para o consumo ou se sofrerá algum processamento térmico; e a individualidade de quem o ingere (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos).

A microbiota de um alimento é constituída por microrganismos associados à matéria prima e por contaminantes, que foram adquiridos durante os processos de manuseio e processamento (pelos manipuladores de alimentos) e aqueles que tiveram condições de sobreviver aos processos aplicados durante o preparo do alimento e seu acondicionamento. Assim, esses microrganismos podem contaminar alimentos em qualquer um dos estágios de produção, beneficiamento, manuseio, processamento, acondicionamento, distribuição e/ou preparo para o consumo. A maior parte dos alimentos está sujeita a várias fontes potenciais de microrganismos, porém podem-se controlar os níveis de contaminação e manter a microbiota em um número aceitável pela legislação vigente, através de manuseio adequado, conhecimento e emprego de fatores que influenciam o crescimento de microrganismos em alimentos, dentre outras ações (LIMA & SOUSA, 2002).

Características Microbiológicas do Mel

O mel é considerado microbiologicamente seguro, isto devido as suas propriedades físico-químicas como, baixo pH, baixa umidade, concentração elevada de açúcares e pressão osmótica, que inibem o desenvolvimento microbiano, pois afetam o crescimento dos microrganismos através de ações bacteriostáticas ou bactericidas.

Além disso, o mel tem propriedades que inibem ou destroem a maior parte dos microrganismos. Os microrganismos que podem estar presentes no mel são os que suportam a concentração elevada de açúcar, acidez e caráter antimicrobiano do mel, principalmente leveduras, fungos e bactérias formadoras de esporos (SNOWDON & CLIVER, 1996). Mesmo apresentando tais características, o mel não é um alimento estéril, sendo propício as contaminações microbianas, no entanto, quando se compara com os demais produtos de origem animal, o mel apresenta uma baixa microbiota (IURLINA & FRITZ 2005; MENDES et al., 2009).

O mel apresenta microbiota dividida em microrganismos peculiares, que são aqueles normalmente encontrados em pequenas quantidades, introduzidos pelas abelhas e microrganismos accidentais, que são aqueles que ocorrem devido à falta de higiene na manipulação e beneficiamento incorreto (SCHLABITZ et al., 2010). As contaminações que ocasionam em microrganismos peculiares ocorre através de fontes primárias, como pólen, trato digestivo da abelha, poeira, ar, sujidade e flores, o que torna praticamente impossível o seu controle. Já as contaminações ocasionando em microrganismos accidentais no mel ocorrem através da manipulação inadequada, contaminação cruzada, equipamentos mal higienizados, que são de fácil controle através da implementação de Boas Práticas Apícolas (FINOLA et al., 2008).

A legislação vigente, nacional e internacional, estabelecem apenas que sejam seguidas práticas de higiene na manipulação do produto (BRASIL, 2000). Assim, é importante considerar que a inocuidade resulta de cuidados especiais tomados na colheita do mel durante o seu processamento, manipulação e armazenamento de acordo com boas práticas de higiene. Entretanto, quando essas medidas não são observadas, o alimento pode-se tornar um veículo para microrganismos, inclusive patogênicos (ALVES, 2008).

A Resolução da diretoria colegiada da Anvisa RDC nº724 de 2022(BRASIL, 2022) estabelece quais são os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Padrões microbiológicos é um critério que define a aceitabilidade de um lote ou processo de alimento, baseado na ausência/presença ou na concentração de microrganismos (BRASIL, 2022). São componentes do padrão microbiológico: o alimento, o ponto específico da cadeia em que este padrão é aplicável, o microrganismo, os limites microbiológicos (m , M) e o plano de amostragem. Este último comprehende o número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente (n), o tamanho da unidade analítica ou alíquota da amostra a ser analisada (1g, 25g, 10g) e a indicação do número de amostras aceitáveis (c) entre os limites m e M (BRASIL, 2022).

Não existe legislação vigente, nacional e internacional para padrões microbiológicos para o mel, mas de acordo com Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL,2019) para os produtos que não estejam explicitamente categorizados nas categorias gerais e específicas, deve ser considerada a similaridade da natureza do alimento e do processo de fabricação. No caso do mel, o produto que mais tem similaridade é o melado, e a Instrução Normativa –IN nº 161 de 2022 da ANVISA (BRASIL,2022), dispõem o padrão microbiológico para o melado em relação a Bolores e leveduras com limites microbiológicos entre 50 a 10^2 Unidades formadoras de colônias (UFC/g) em cinco amostras analisadas de um lote. A RDC nº12 de 2001 da ANVISA (BRASIL,2001) dispõem o padrão microbiológico de coliformes termotolerantes no melado com limites microbiológicos entre 10 a 10^2 Unidades formadoras de colônias (UFC/g) em cinco amostras analisadas de um lote. A quantidade de microrganismos presente no mel pode variar com o seu tipo, tipo da amostra, idade, tempo de colheita e técnica de análise utilizada (GOIS et al., 2013).

As características microbiológicas do mel estão relacionadas à qualidade e a segurança deste alimento. Os microrganismos indicadores sanitários de importância são primariamente leveduras, fungos filamentosos e bactérias formadoras de esporos. Estes microrganismos estão envolvidos em atividades de deterioração do produto, através da produção de enzimas, toxinas, pela conversão metabólica do alimento, assim como pela produção de fatores do crescimento (vitaminas e aminoácidos) e fatores de inibição de microrganismos competidores (GOERZEN, 1991).

A deterioração do mel pela ação de fungos filamentosos e leveduras podem se desenvolver em condições ácidas e não são inibidas pela presença de sacarose (SNOWDON & CLIVER, 1996), sendo assim, consideradas um problema na indústria de mel. Segundo CRANE (1979), o aumento da umidade e temperatura na estocagem do mel favorecem o desenvolvimento de leveduras, contribuindo para a fermentação do produto. Durante a fermentação, as leveduras atacam os açúcares, produzindo álcool e dióxido de carbono. Na presença de oxigênio, o álcool pode ser convertido em ácido acético.

Em relação aos fungos filamentosos, alguns estão associados ao conteúdo intestinal das abelhas, à colmeia e ao ambiente de forrageamento. *Aspergillus* spp foi isolado de intestinos de larvas de abelhas, assim como os gêneros: *Atichia* spp, *Coniothecium* spp, *Hormiscium* spp, e *Triposporium* spp (SNOWDON & CLIVER, 1996). A proliferação de fungos pode ter como consequências: perdas econômicas por deterioração do produto e danos à saúde devido à possibilidade de serem fungos produtores de micotoxinas (MARTINS et al., 2003).

As bactérias de importância em saúde pública que têm sido isoladas a partir do mel são *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*. O *Bacillus cereus* é uma bactéria Gram positiva, aeróbica, formadora de esporos esféricos, e muitas estirpes são capazes de produzir toxinas. Esta bactéria é comumente encontrada em solos, vegetais, poeira, água e em vários alimentos crus e processados tais como arroz, condimentos, leites, vegetais, carnes, farináceos, sobremesas e bolos (CHRISTIANSSON et al., 1999).

Clostridium botulinum é uma bactéria anaeróbica, Gram positiva, possui capacidade de esporulação, o que lhe confere resistência ao calor e mantém a sua sobrevivência em alimentos não processados. É o agente etiológico do botulismo e tem como habitat natural, o solo (SOLOMON & LILLY, 2001).

Outro grupo de microrganismo de relevância sanitária, é o grupo dos coliformes totais e termotolerantes. Os coliformes termotolerantes fermentam a lactose com produção de gás a 44,5°C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal (SILVA et al., 2006).

Em geral, o grupo dos coliformes, é utilizado para avaliar o status sanitário 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 microrganismos indicadores destaca-se como melhor indicador de contaminação das fezes 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).

Outro grupo de microrganismo de relevância sanitária é representado pelo gênero *Salmonella spp.* que é amplamente distribuído na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais o principal reservatório natural. Em função da sua capacidade de disseminação no meio ambiente, essa bactéria pode ser isolada de locais variados, e consequentemente, de diversas matérias-primas alimentares. Pode ainda ser veiculada pelo próprio homem, sem sintomas clínicos, sendo neste caso caracterizada a condição de portador assintomático (CARDOSO & CARVALHO, 2006).

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, incluindo o mel (SOUZA, 2006).

Condições para o Crescimento dos Microrganismos

Para causar doenças, os microrganismos precisam se multiplicar nos alimentos até atingir números elevados (ANVISA -Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação). Essa multiplicação só ocorre quando os microrganismos encontram condições ideais como:

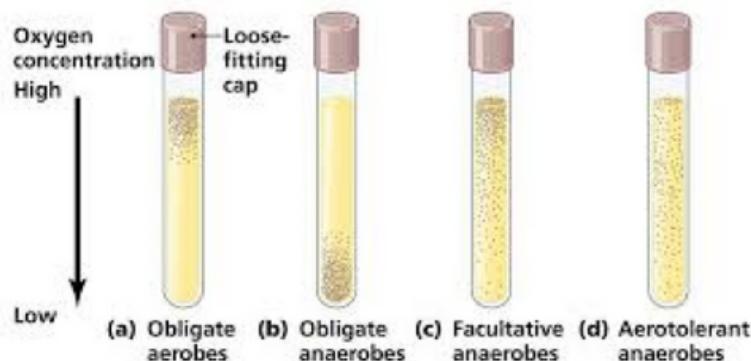
Oxigênio: O oxigênio é um gás essencial à vida da maioria dos seres vivos e há dois tipos de microrganismos, aqueles que dependem de oxigênio para se multiplicar os aeróbios e outros que sobrevivem na ausência do oxigênio os anaeróbios. Alguns organismos são classificados como anaeróbios facultativos, pois, na presença de oxigênio, realizam respiração aeróbia e, na ausência desse gás, realizam os processos anaeróbios .

MICRORGANISMOS	PRESença DE OXIGêNIO	AUSêNCIA DE OXIGêNIO	VIA METABÓLICA	EXEMPLOS
Aeróbios	+	-	Respiração	<i>Mycobacterium (tuberculose)</i>
Anaeróbios	-	+	Fermentação	<i>Clostridium</i>
Facultativos	+	+	Respiração e Fermentação	<i>Saccharomyces cereviside (Leveduras)</i> <i>E.coli, Salmonella (bactérias)</i>

Tabela mostrando o oxigênio como condição necessária para o crescimento dos microrganismos.

Os organismos aeróbios realizam a respiração celular onde a quebra da glicose ocorre na presença de oxigênio e tem como resíduos, ao final da reação, o gás carbônico e a água. Na respiração anaeróbica ocorre a fermentação onde a quebra da glicose ocorre na ausência de oxigênio e apresenta como resíduos álcool etílico e gás carbônico (fermentação alcoólica) ou ácido láctico (fermentação láctica). (<https://www.biologianet.com/zoologia/organismos-aerobios-anaerobios.htm>).

Os organismos necessitam de energia para a manutenção de seu metabolismo. Essa energia está armazenada nos alimentos e, para que os organismos a obtenham, é necessária a realização de um desses processos (<https://www.biologianet.com/zoologia/organismos-aerobios-anaerobios.htm>). O crescimento de microrganismos com meio de cultura pode ser vista na figura, onde os aeróbios crescem em altas concentrações difundidas de oxigênio na zona com oxigênio; os anaeróbios crescem em condições onde não há oxigênio na zona sem oxigênio; os anaeróbios facultativos crescem nas duas zonas.



Crescimento de microrganismos aeróbios, anaeróbios e facultativos em meio de cultivo (Fonte: <https://controledequalidadeemindustria.blogspot.com/2019/11/fluid-thioglycollate-medium.html>)

Nutrientes: Como todo ser vivo, os microrganismos precisam de nutrientes para sobreviver. Assim como os alimentos são uma fonte de nutrientes para o nosso desenvolvimento, eles também tem essa função para os microrganismos. A participação de alguns nutrientes para determinadas funções nos microrganismos pode ser visto na tabela.

NUTRIENTES	FUNÇÃO DO MICRORGANISMO
NITROGÊNIO (N)	Proteínas, Ácidos Nucléicos, enzimas
FÓSFORO (P)	ATP, Ácidos Nucléicos, Fosfolipídeos, Coenzimas
Carbono	estrutura celular e fonte de energia para o crescimento
ENXOFRE	síntese de proteínas e coenzimas
Mg. ⁺⁺ e K ⁺	Ribossomos
Ca ⁺⁺	Parede celular de Gram positivas e esporulação
Cobalto, Zinco	elementos traços (micronutrientes) Atividade enzimática
aminoácidos, purinas, pirimidinas e vitaminas	fatores de crescimento

Nutrientes e suas funções nos microrganismos. 

Além do carbono, os microrganismos requerem outros nutrientes para que as células consigam sintetizar todas as macromoléculas essenciais ao seu desenvolvimento. O nitrogênio é um macronutriente necessário a todos os organismos. Ele está presente na síntese de enzimas, outras proteínas e ácidos nucléicos. As bactérias são versáteis na utilização do nitrogênio e utilizam-no na forma inorgânica ou orgânica. As maiores fontes inorgânicas de nitrogênio são nitrato (NO_3^-), amônia (NH_3) e nitrogênio (N_2). As fontes orgânicas de nitrogênio incluem aminoácidos, purinas e pirimidinas. Os compostos nitrogenados orgânicos, frequentemente são usados não somente como fonte de nitrogênio por bactérias, mas, também como fonte de energia (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

O fósforo é o elemento encontrado nos ácidos nucléicos, ATP, membranas fosfolipídicas, coenzimas e em muitos compostos intermediários associados com o metabolismo e armazenamento de energia. Os microrganismos obtêm fósforo, principalmente, a partir de íons de fosfato inorgânico (PO_4^{3-}), o qual é utilizado diretamente pelas bactérias, ao passo que, compostos de fosfato orgânico são primeiramente hidrolisados em ésteres por enzimas denominadas fosfatases e, posteriormente, incorporado às biomoléculas (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

O enxofre e aminoácidos que contém enxofre são utilizados para síntese de proteínas, coenzimas e outros componentes celulares. Este elemento é necessário para a biossíntese dos aminoácidos cisteína e metionina, de vitaminas, como, por exemplo, a tiamina e biotina, e da coenzima A.

Alguns microrganismos podem sintetizar aminoácidos que contém enxofre utilizando enxofre inorgânico e outros aminoácidos com enxofre. A maior parte do enxofre utilizado pelas células é de fonte inorgânica, obtido a partir do sulfato (SO_4^{2-}) ou sulfeto (HS^-) (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Além destes macronutrientes, outros elementos são necessários para o desenvolvimento celular, como, por exemplo, o potássio (K) que é o principal cátion e cofator para algumas enzimas; o magnésio (Mg), o qual é importante na estabilidade dos ribossomos, membranas, e ácidos nucléicos, é componente importante da clorofila e cofator para muitas enzimas; o cálcio (Ca) que é requerido pelas bactérias Gram-positivas para a síntese da parede celular e pelos organismos que formam esporos para a síntese destas estruturas; o sódio (Na) que é requerido pela permease, a qual transporta o açúcar melibiose em células de *Escherichia coli*. Outros elementos essenciais para todos os organismos são o hidrogênio e o oxigênio (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Muitos microrganismos requerem variedade de micronutrientes ou elementos traços, tais como, cromo, cobalto, cobre, ferro, zinco, manganês, molibdênio, níquel, selênio, obtidos usualmente na forma de íons. Tais elementos são necessários em pequenas quantidades, mas nem por isso, são menos importantes que os macronutrientes, pois servem como cofatores em reações enzimáticas. Podem ser adicionados especificamente como sais aos meios de cultura, mas normalmente ocorrem como impurezas de outros componentes (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

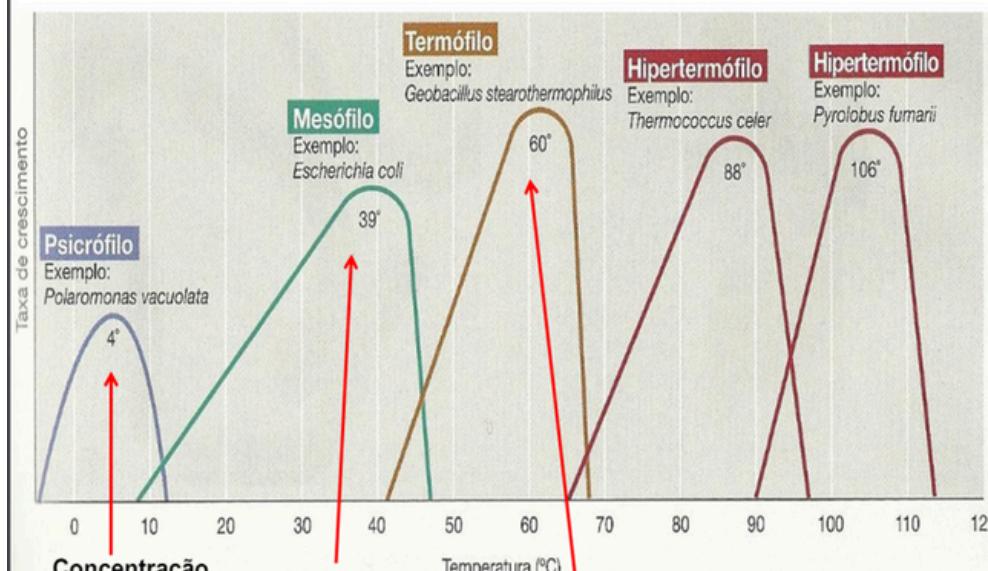
Além dos macro e micronutrientes, alguns compostos orgânicos são necessários para certos microrganismos – os fatores de crescimento, que são nutrientes orgânicos requeridos para o crescimento celular, mas não necessariamente são sintetizados por eles. Os fatores de crescimento mais comuns são os aminoácidos, purinas, pirimidinas e vitaminas (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Temperatura: Todos os processos de crescimento são dependentes de reações químicas, as quais são afetadas pela temperatura. Os microrganismos podem crescer numa faixa ampla de temperatura, embora restrita para uns e maior para outros. Em temperaturas mais favoráveis para o crescimento, o número de divisões celulares por hora, chamado de velocidade de crescimento, geralmente dobra para cada aumento de temperatura de 10°C . Este comportamento do crescimento é similar ao da maioria das reações catalisadas por enzimas, dando suporte ao princípio de que o crescimento é o resultado de uma série de reações enzimáticas.

A temperatura na qual uma espécie de microrganismo cresce mais rapidamente é a temperatura ótima de crescimento (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Com relação à temperatura de crescimento, os organismos podem ser divididos em: Psicrófilos (desenvolvem em alimentos de geladeira) – temperatura ótima de desenvolvimento de 10 a 15°C; Microrganismos Mesófilos - temperatura ótima de desenvolvimento de 25 a 40°C (corresponde a grande maioria de microrganismos de importância em alimentos- pseudômonas); Microrganismo Termófilos (gênero *Bacillus* e *Clostridium*) - temperatura ótima de desenvolvimento de 45 a 60°C; Microrganismos Hipertermófilos - temperatura ótima de desenvolvimento acima de 60°C (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Temperatura - Velocidade das reações químicas



Temperaturas favoráveis para o crescimento de microrganismos

FONTE <https://cursos.escolaeducacao.com.br/artigo/fatores-de-crescimento-microbiano>

pH: O pH ótimo é o pH em que determinado microrganismo cresce melhor, e encontra-se no valor mediano da sua variação. O pH ótimo, normalmente, é bem definido para cada espécie e as diferentes espécies são adaptadas ao crescimento em vários valores de pH. O valor de pH é crítico para o crescimento microbiano, pois pode afetar a atividade enzimática por meio da desnaturação ou inativação de enzimas e também levar ao rompimento celular (Figura 3) (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005). De acordo com a sua tolerância em relação a variações de pH, os microrganismos são classificados em:

Acidófilos: ou organismos que crescem melhor em pH na faixa de 0,1 a 5,4. Ex: *Lactobacillus*, que produz o ácido lático. Algumas bactérias que oxidam enxofre a ácido sulfúrico toleram condições de pH igual a 1 (*Thiobacillus thiooxidans* e *Sulfolobus acidocaldarius*).

Neutrófilos: ou organismos que crescem na faixa de pH entre 5,4 a 8,5. Exemplo: *Escherichia coli*.

Alcalófilos: ou microrganismos que podem crescer em pH entre 8,5 e 11,5. Mantém o pH neutro dentro de suas células por meio de trocas de Na⁺, presente no interior da célula, por H⁺ externo.

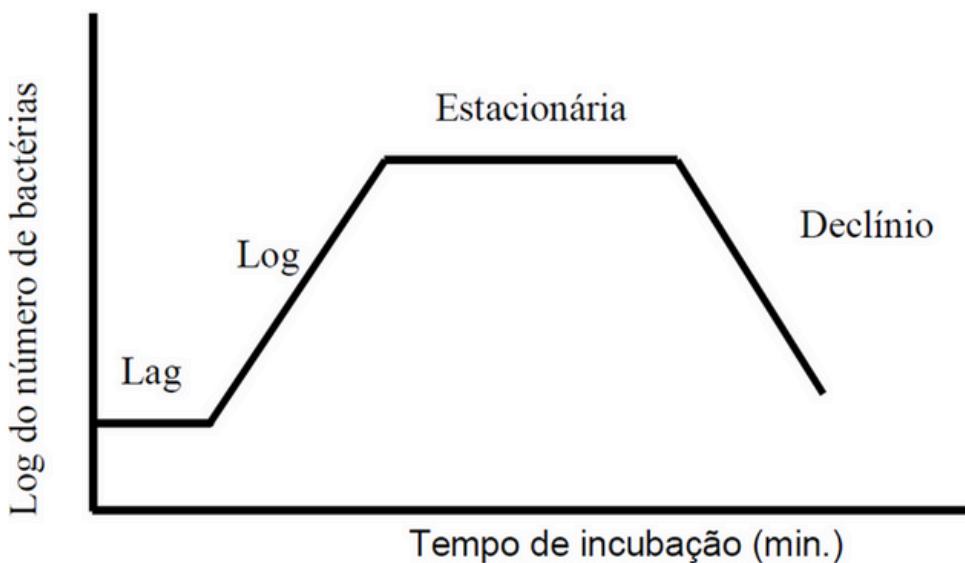
Valores mínimos, ótimos e máximos de pH durante o cultivo para algumas bactérias

Organismo	Mínimo	Ótimo	Máximo	
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0,5	2,0-2,8	4,0-6,0	Acidófilicas
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	1,0	2,0-3,0	5,0	
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	2,0	4,0	6,0	
<i>Zymomonas lindneri</i>	3,5	5,5-6,0	7,5	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4,0-4,6	5,8-6,6	6,8	Neutrófilicas
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,2	7,0-7,5	9,3	
<i>Escherichia coli</i>	4,4	6,0-7,0	9,0	
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,0-5,8	6,0-7,6	8,5-9,0	
<i>Erwinia caratovora</i>	5,6	7,1	9,3	Alcalinófilicas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	6,6-7,0	8,0	
<i>Thiobacillus novellus</i>	5,7	7,0	9,0	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,5	7,8	8,3	
<i>Nitrobacter sp</i>	6,6	7,6-8,6	10,0	

Valores de pH mínimo, ótimo e máximo para o crescimento de microrganismos (MADIGAN et al., 2009; TORTORA et al., 2005).

Curva Normal de Crescimento Bacteriano

A curva normal de crescimento microbiano representa o aumento da população em um determinado período de tempo. Isto pode ser evidenciado, inoculando-se bactérias em meio líquido e realizando-se contagem do número de células periodicamente ao longo de um determinado período. Com isto, observa-se que a cultura passa por quatro fases distintas.



Curva de crescimento microbiano. Fonte: NASCIMENTO, 2010.

Fase Lag: fase adaptativa ou de latência, na qual a célula ativa intensamente seu metabolismo, porém não se multiplica.

Fase Log: fase logarítmica e crescimento exponencial.

Fase Estacionária: a população continua se multiplicando, mas não cresce, torna-se estável e com alta competitividade por espaço e nutrientes.

Fase declínio: A população se reduz em uma taxa logarítmica.

Meios de Cultura Utilizados pelos Microrganismos

Os microrganismos necessitam de uma variedade de substâncias nutritivas capazes de promover o seu crescimento. Esses elementos são necessários para a síntese e para as funções normais dos componentes celulares.

No ambiente, os microrganismos encontram os nutrientes nas formas de compostos orgânicos e/ou inorgânicos. Desta forma, podem desenvolver-se em meios inteiramente inorgânicos, outros em meios orgânicos ou mistos (http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf).

O meio de cultura deve ser o mais próximo das condições reais onde habita o microrganismo, para que este cresça satisfatoriamente. Existem microrganismos que crescem em diversos meio de cultura, outros crescem apenas em meios especiais. Sendo assim, não existe um meio de cultura universal, de forma que cada microrganismo tem suas exigências nutricionais (http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf).

Classificação dos Meios de Cultivo

a) Quanto à consistência:

- **Meio líquido:** sem agente solidificante, apresentando-se como caldo. O meio é distribuído em tubos de ensaio, erlenmeyers, balão. Mais utilizado para o crescimento massal ou provas bioquímicas.
- **Meio semi-sólido:** adiciona-se uma pequena quantidade de agente solidificante (0,5 a 1% de ágar). Apresenta uma consistência intermediária, sendo distribuído em tubos de ensaio. Exemplo: teste de motilidade.
- **Meio sólido:** contém maior quantidade de agente solidificante (1,5 a 2,0%). Apresenta uma consistência sólida e pode ser distribuído tanto em tubos de ensaio (meio inclinado), quanto em placas de Petri. Utilizado para diversas finalidades, sendo o meio indicado para observação da morfologia e contagem colonial.

b) Quanto a composição:

Podem ser um meio quimicamente definido, aquele no qual todos os constituintes são conhecidos ou um meio complexo, no qual a exata constituição não é conhecida e podem conter extratos moídos ou digeridos de animais, peixes, leveduras e vegetais, que fornecem os nutrientes, as vitaminas e os minerais necessários (<https://kasvi.com.br/meios-de-cultura-diferenca/#:~:text=Um%20meio%20quimicamente%20definido%20%C3%A9,vitaminas%20e%20os%20minerais%20necess%C3%A1rios>).

c) Quanto a função:

Meios seletivos: promovem o crescimento de um determinado microrganismo em detrimento de outros, devido à presença de substâncias adicionadas ao meio de cultura ou a condição de cultivo. Alguns meios seletivos possuem corantes na sua composição, feniletanol e antibióticos, que inibem determinados grupos de organismos.

Ex: ágar MacConkey (contém sais biliares e cristal violeta para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas, permitindo, portanto, o crescimento de bactérias Gram-negativas); o meio de Chapman ou ágar manitol possui alta concentração de cloreto de sódio (NaCl 7,5%), para selecionar bactérias halófitas (vivem em alta concentração de sal), adequado para o isolamento de *Staphylococcus*; o Meio Sabouraud muito utilizado no cultivo de fungos, devido sua composição desfavorável para bactérias, em função do pH e concentração de açúcares; meio batata-dextrose-ágar (BDA) acidificado que é seletivo apenas para fungos em função do pH

(http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf).

Meios diferenciais: são utilizados para diferenciar microrganismos entre os vários tipos que crescem numa mesma placa de Petri. Ex: meio ágar MacConkey, além de selecionar o grupo de bactérias Gram-negativas como visto por ser seletivo, permite uma diferenciação entre as mesmas pela produção de ácido, baseada na utilização da lactose presente no meio. Bactérias que utilizam à lactose acidificam o meio e as colônias ficam na cor vermelha ou rosa, enquanto as demais não adquirem essa coloração

(http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf).

Meios enriquecidos: meios convencionais enriquecidos com um ou mais componentes químicos, que favoreça o crescimento de determinados microrganismos numa população mista. Meios mais indicados para microrganismos fastidiosos. Ex: ágar-sangue e ágar chocolate, ambos utilizados no crescimento de *Streptococcus*, *Neisseria* e *Haemophilus* (http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf).

Fungos: Bolores e Leveduras

Os fungos são encontrados em vegetais, animais, no homem, em detritos e em abundância no solo, participando do ciclo dos elementos das natureza. A dispersão dos fungos na natureza é feita por várias vias como animais, homem, insetos, água e principalmente, pelo ar atmosférico, através dos ventos (TRABULSI et al., 2002). Os fungos são seres vivos eucarióticos com um só núcleo, como as leveduras, ou multinucleados, como os fungos filamentosos ou bolores e cogumelos (fungos macroscópicos) (TRABULSI et al., 2002). As leveduras são microrganismos unicelulares, a própria célula cumprindo as funções vegetativas e reprodutivas. Os bolores são constituídos por elementos multicelulares em forma de tubo- as hifas (TRABULSI et al., 2002).

Os fungos podem desenvolver-se em meios de cultivo especiais formando colônias de dois tipos: leveduriformes e filamentosas (Bolores). As colônias leveduriformes são de maneira geral, pastosas ou cremosas e caracterizam o grupo das leveduras. As colônias filamentosas, que caracterizam os bolores, podem ser algodonosas, aveludadas ou pulverulentas, com os mais variados tipos de pigmentação (Figura 4 B) (TRABULSI et al., 2002).



A) Colônias de leveduras (Fonte: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/pao/fermentacao/levedura.htm>); B) Colônias de Bolores (TRABULSI et al., 2002).

Como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente do que os bolores. Também são mais eficientes na realização de alterações químicas, por causa da sua maior relação área/volume. A maioria das leveduras, não vive no solo mas adaptou-se a ambientes com alto teor de açúcares, tal como néctar das flores e a superfície de frutas (microbiologia de alimentos). Esta categoria de fungos não é visível a olho nu, sendo visualizados apenas com auxílio de um microscópio. São bem maiores do que a maioria das bactérias existentes (MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS, 2012).

Os fungos encontrados nos ambientes da cadeia produtora do mel (favos, pólen, flores, solo e outros) estão comumente presentes no produto final. Dentre estes se encontram os gêneros *Penicillium*, *Mucor* e *Aspergillus*, são os mais encontrados no mel, podendo sobreviverem nesse alimento. No entanto, não necessariamente, há a reprodução, onde uma contagem elevada destes microrganismos, indica uma possível contaminação recente, ocasionada pelas abelhas, equipamento de extração mal higienizados e processamento inadequado (SNOWDON & CLIVER, 1996; MARTINS et al., 2018).

As leveduras osmófilas, constituem sério problema, sendo responsáveis pela fermentação de méis com elevados teores de umidade (superior a 21%), pois quanto maior for o teor de água no mel, maior será a concentração de leveduras, consequentemente maior será a fermentação, o que torna o produto impróprio para o consumo. A fermentação do mel é ocasionada pela ação de leveduras osmofílicas sobre a glicose e frutose, formando álcool e gás carbônico. Alterando assim o sabor do mel (SILVA et al, 2017; SILVA, 2007).

Também podem crescer no mel por tolerar as condições ácidas e níveis altos de sacarose, enquanto que as leveduras osmofílicas crescem quando a pressão osmótica é alta. Há ainda a ocorrência de leveduras pertencentes à própria microbiota do mel, que são introduzidas na colmeia pelas próprias abelhas através do néctar, pólen, ou durante as operações de limpeza (SNOWDON & CLIVER, 1996). As leveduras encontradas no mel com predominância são: *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Torula* (SODRÉ, 2005).

Normalmente, fungos e leveduras no mel são encontrados abaixo de 100 UFC/g por serem controladas por práticas industriais que impedem a fermentação (SNOWDON, 1999). De acordo com a IN nº 161 de 2022 da ANVISA bolores e leveduras encontrados no Mel acima de 100 UFC/g ou mL são inaceitáveis.

Bactérias: Coliformes Totais e Termotolerantes

Coliformes são bactérias da família Enterobacteriaceae, Gram negativas, não esporuladas, na forma de bastonetes. Os Coliformes abrangem mais de vinte espécies bacterianas, sendo algumas originárias do trato gastrointestinal de animais de sangue quente, como a *Escherichia coli*. Outras bactérias do mesmo grupo são encontradas em ambientes naturais diversos, ou seja, são de origem não intestinal, como as *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*. Essas bactérias quando presentes em alimentos ou na água podem ser prejudiciais à saúde e são utilizadas como indicadoras de qualidade microbiológica.

(<https://foodsafetybrazil.org/coliformes-totais-e-coliformes-termotolerantes-voce-sabe-diferenca/>).

A *E. coli* é uma bactéria pertencente ao grupo coliforme, que tem como habitat primário o intestino do homem e de animais de sangue quente, representando 95% das bactérias do grupo coliformes encontradas nas fezes humanas e de animais. A *E. coli* é considerada a melhor indicadora de contaminação fecal, uma vez que é de fácil isolamento nos meios de cultura convencional e mais resistente por um período de tempo maior (JAY, 2005).

Essas bactérias conseguem fermentar a lactose com produção de ácido e gás (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos).



Processo de fermentação da lactose tendo como produto ácido e gás carbônico.

Os coliformes totais realizam esse processo de fermentação dentro de 24 a 48 horas em temperatura ótima de 32-37°C, já os coliformes termotolerantes necessitam de temperaturas mais altas, entre 44,5 e 45,5°C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* são termotolerantes (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos). Porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal (SILVA et al., 2006).

Bactérias que fermentam lactose vão produzir ácido e, consequentemente, mudar a cor do indicador de pH. Essa capacidade de fermentar a lactose, com formação de gás em meios de cultura, é a base para os métodos tradicionais de detecção de coliformes (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos).

Os coliformes são muito utilizados para avaliar as condições higiênicas - sanitárias dos alimentos, pois sua presença pode indicar que o alimento sofreu contaminação de origem fecal (SOUSA, 2006). Além disso, a ingestão de coliformes em alimentos e bebidas pode causar infecções restritas à superfície da mucosa intestinal ou se disseminar pelo organismo ocasionando infecções gastrointestinais graves (SOUSA, 2006).

BACTÉRIA: *Salmonella spp.*

O gênero *Salmonella* apresenta bacilos Gram-negativos não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, que produzem gases a partir da glicose, capazes de utilizarem o citrato como fonte de carbono, sendo a principal causadora de infecções alimentares no Brasil e no mundo (HANES, 2003; FRANCO & LANDGRAF, 2005; MARTINS, 2018).

A maioria das espécies é móvel, com flagelos peritíquios (FORSYTHE, 2013). Apresenta temperatura ótima de crescimento de 35 a 37°C (CARVALHO, 2010). Como não formam endósporos, são relativamente termossensíveis, podendo ser destruídas a 60 °C, em 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2013).

Baseado em estudos genômicos, o gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies: *Salmonella enterica* – agrupa mais de 2610 sorotipos – e *Salmonella Bongori* – agrupa 23 sorotipos. Causa doenças em humanos e animais, através do consumo e da ingestão de alimentos contaminados. A higiene dos alimentos tem como principal objetivo o estudo de métodos para a produção, acondicionamento e distribuição dos alimentos dentro de limites de segurança microbiológica (<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas>).

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais o principal reservatório natural. No ambiente, é muito comum encontrarmos os sorotipos na água, no solo, nas fezes dos animais, insetos, ratos, nas superfícies de equipamentos e utensílios de fábricas (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos).

Estima-se que 96% dos casos sejam causados por uma ampla variedade de alimentos. Isso inclui carnes cruas, produtos de frango crus ou mal-cozidos, ovos, produtos contendo ovos crus, leite e produtos lácteos, peixe, camarão, pernas de rã, leveduras, coco, molhos, molhos para salada, misturas para bolo, sobremesas com queijo cremoso e cobertura, gelatina em pó, manteiga de amendoim, cacau e chocolate. Além desses, frutas e vegetais estão se tornando fontes importantes de salmonelose. A contaminação do alimento ocorre devido a controle inadequado da temperatura, práticas de manipulação ou contaminação cruzada de alimentos processados por ingredientes crus. Então, o organismo se multiplica no produto até atingir a dose infecciosa (FORSYTHE, 2013). A composição do mel não favorece o desenvolvimento de *Salmonella* spp. Entretanto, esse microrganismo deve ser considerado, pois a transmissão ocorre, geralmente, pela ingestão de produtos animais.

O controle de *Salmonella* é atingido por meio de inúmeras exigências: ausência de *Salmonella* em 25g de produto prontos para o consumo, controle de temperatura durante a estocagem, prevenção de contaminação cruzada e higiene pessoal adequada (FORSYTHE, 2013).

Análises Microbiológicas

Preparação de material de laboratório para análises microbiológicas

Seguir as Boas Práticas de Laboratório (BPL) e segurança laboratorial (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos) como:

- Usar avental
- Lavar sempre as mãos ao entrar e antes de sair do laboratório
- Não fumar, comer ou ingerir líquidos dentro do laboratório.
- No início de cada análise traçar um plano de trabalho considerando o tempo necessário para uma análise e sua leitura.
- Limpar a superfície de mesas e balcões antes e depois do trabalho de cada dia.
- Efetuar registro de análise, anotando o tipo de produto, procedência, dia e hora da entrada no laboratório e qualquer outra observação prévia à análise. Na análise propriamente dita anotar: método, meio de cultura empregado e resultados obtidos.
- Identificar as amostras antes de iniciar a análise e em geral, não descartar até obter os resultados.
- No caso de derramamento fortuito de material infectado, desinfectar e esterilizar imediatamente.
- Os cultivos após leitura devem ser esterilizados.
- Manter registro de controle diário de temperatura de estufas.

Técnicas de inoculação

Em microbiologia, há várias técnicas de inoculação de microrganismos; algumas são utilizadas para exames qualitativos e outras para estudos quantitativos (contagem de bactérias), as quais serão descritas adiante (AGROINDÚSTRIA – Microbiologia e Procedimentos de Análise Microbiológica de Alimentos):

- **Técnicas de inoculação** – indica-se a realização de uma bacterioscopia antes da inoculação com objetivo da melhor escolha do meio de cultura a ser semeado.
- **Normas utilizadas** – as seguintes normas devem ser seguidas nas inoculações dos meios de cultura: o fio e a alça de platina devem ser flambados antes e depois de qualquer inoculação, ou seja, devem ser aquecidos ao rubro no cone interno da chama do bico de bunsen. Para a coleta do material, devem ser resfriados na parte interna do recipiente com meio de cultura; os recipientes (tubo de ensaio, placas de petri, etc) com meio de cultura devem ser sempre abertos próximo ao bico de bunsen; a boca do tubo de ensaio deve ser aquecida após a retirada e antes da colocação da tampa. A tampa nunca deve ser colocada sobre o balcão, sendo retirada e mantida segura pelo dedo mínimo da mão direita durante a inoculação.

- **Técnicas de semeadura em meios líquidos** - inocula-se a cultura com o auxílio de alça de platina em meio líquido.
- **Técnica de semeadura em meio sólido inclinado** – inocula-se a cultura da bactéria em um meio de cultura inclinado em tubo fazendo estrias na superfície do Agar.
- **Técnica de semadura em meio sólido em tubo** - inocula-se a cultura de bactérias em meio sólido utilizando a alça de platina em profundidade de 2/3 do meio e não deverá ser mais que uma única picada.
- **Técnica de semeadura em meio sólido em placa (técnica de esgotamento)** – a técnica de esgotamento em placa consiste em depor sobre um ponto da superfície do meio uma alíquota do material e depois espalha-la em dois ou três setores, por meio de alça de platina sem recarregá-la, de maneira a obter quantidades progressivamente menores de material. Temos que obter rarefação suficiente do material, de modo a formar colônias perfeitamente isoladas. O sucesso da semeadura está em grande número de estrias, não perfurar o meio, não voltar a alça sobre a estria e pegar pequena quantidade de material para semear.
- **Técnica de semeadura em placa pour- plate** - a técnica pour-plate ou por incorporação pode ser realizada com o objetivo de se obter colônias isoladas (estudo qualitativo) ou para realizar a contagem de colônias em placa (estudo qualitativo). Após realizar as diluições deve ser feito o plaqueamento. Agitando-se e retirando-se 1 mL de cada diluição e transferindo para placas estéreis. Em seguida, colocar 15 a 20mL de Agar fundido em cada uma delas. As placas devem ser suavemente submetidas a movimentos rotatórios, visando perfeita mistura da cultura com o Agar, esperar solidificar e inverter as placas.
- **Condições de incubação** – após a inoculação os microrganismos deverão ser inoculadas em ambiente com tensão de oxigênio (aeróbias e anaeróbias) e temperatura ideal para o desenvolvimento pretendido (psicrófilas, mesófilas, termófilas e hipertermófilas). O tempo também vai depender do microrganismo em estudo. Após os períodos determinados as colônias se tornarão visíveis macroscopicamente.

Metodologia para Análise Microbiológica do Mel

Análise de Bolores e leveduras no mel

A Metodologia seguiu a Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003- CAPÍTULO II.

Descrição da técnica

Contagem padrão dos bolores e leveduras

Objetivos e Alcance

Estabelecer procedimento para a contagem de bolores e leveduras em alimentos. Aplica-se a amostras de matérias-primas, alimentos e rações.

Fundamentos

Baseia-se na verificação da capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. A utilização de meios acidificados a pH $3,5 \pm 0,1$ promove seletivamente o crescimento de fungos, inibindo a maioria das bactérias presentes no alimento.

Preparo do Meio de cultura:

1-ÁGAR BATATA DEXTROSE (BDA): A dextrose junto à infusão de amido de batata promove o crescimento de bolores e leveduras, enquanto o baixo valor de pH inibe parcialmente o crescimento da flora bacteriana acompanhante. O preparo do meio pode ser visto na Figura 5.



Preparo de 1 litro do meio ÁGAR BATATA DEXTROSE (PDA). Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.



Acidificar o meio até pH 3,5 por meio da adição de **1,5 mL** de solução de ácido tartárico 10% para cada **100 mL de meio**.

Procedimentos

Pesagem, preparo e diluição da amostra:

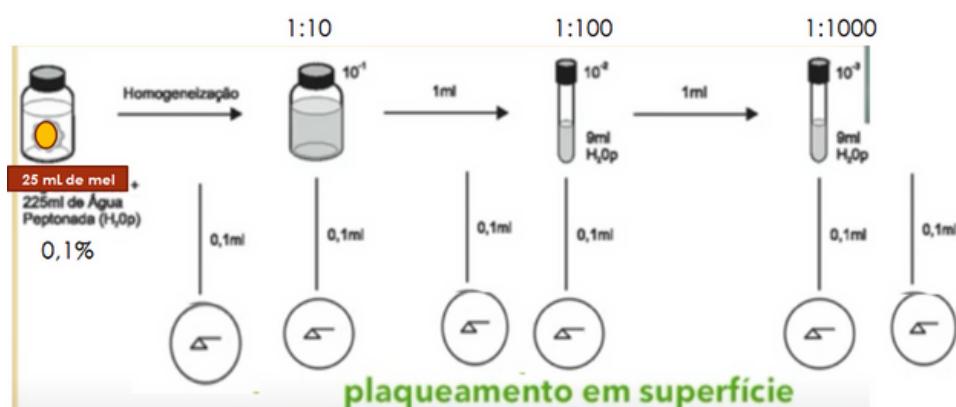
Pipetar $25 \pm 0,2$ mL da amostra de mel em 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, esta é a solução mãe (1:10), a partir dessa diluição inicial efetuar as diluições desejadas (1:100, 1:1000).

Preparo das placas

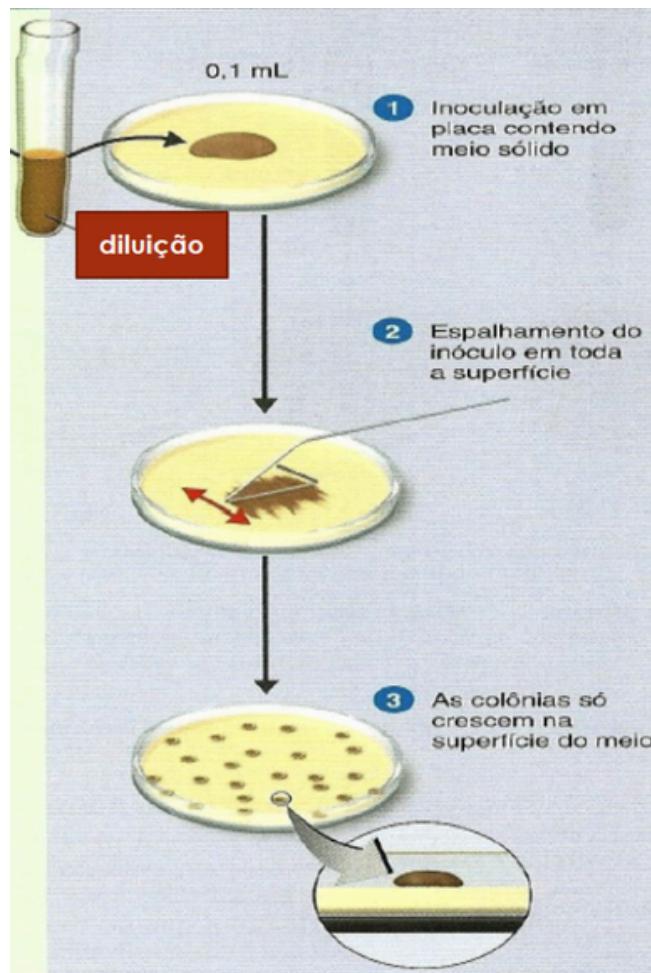
Verter nas placas cerca de 15 a 20 mL do meio ÁGAR BATATA DEXTROSE (PDA) preparado e acidificado. Deixar solidificar em superfície plana. Identificar as placas. Antes da utilização, secar as placas semi-abertas com o fundo voltado para cima em estufa a 50°C por cerca de 15 minutos, ou em fluxo laminar expondo a superfície pelo tempo necessário para a completa secagem.

Inoculação em placas

Inocular 0,1 mL das diluições selecionadas sobre a superfície seca de agar batata glicose 2% acidificado a pH 3,5 (Figura 12). Com o auxílio de alça de Drigalski ou bastão do tipo “hockey”, espalhar o inóculo cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção, utilizar a técnica de plaqueamento em superfície (Figura 7). Utilizar no mínimo duas diluições decimais ou duplicata da mesma diluição.



Preparo da amostra mostrando a diluição de 25 mL de mel e 225 mL de água peptonada (0,1%), realizar na sequência diluições seriadas a partir da solução mãe (1:10), 1:100 e 1:1000. Inocular 0,1 mL de cada diluição em placas de petri com ÁGAR BATATA DEXTROSE (PDA) acidificado e solidificado. Realizar a técnica de plaqueamento de superfície.



Plaqueamento de superfície (spread Plate) (Nutrição e crescimento bacteriano, Fernandes Júnior).

Incubação:

Incubar as placas, sem inverter, a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 5 a 7 dias, em estufa bacteriológica.

Leitura: Após o período de incubação selecionar as placas que contenham entre 15 e 150 colônias para fazer a contagem.

RESULTADOS: A partir dos dados obtidos, calcular o número de microrganismos presentes. Expressar o resultado em Unidade formadora de colônias (UFC/g ou mL).

1. Análise de coliformes totais e termotolerantes no mel

Para análise de coliformes totais e termotolerantes utilizou-se a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003- CAPÍTULO VI.

1.1) Descrição da técnica

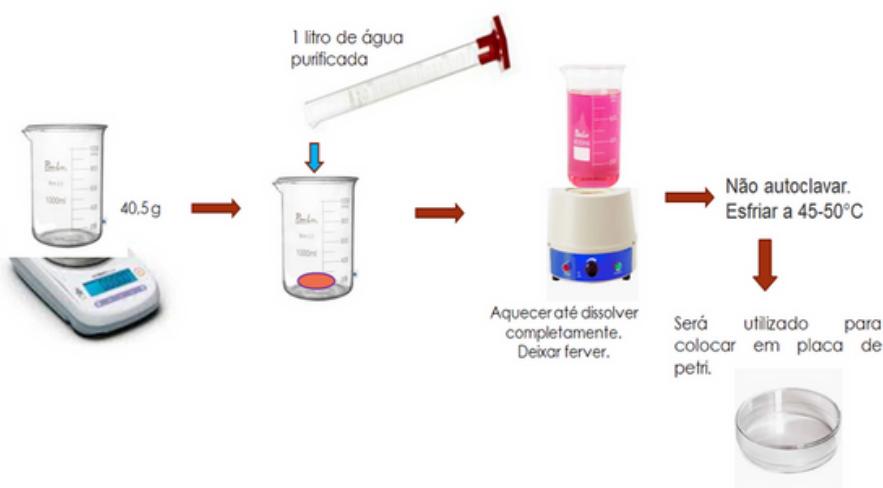
CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM ALIMENTOS

OBJETIVOS E ALCANCE: Estabelecer procedimento para a contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes em alimentos. Devendo ser utilizada quando o limite máximo tolerado for igual ou superior a 100 Unidade formadora de colônias (UFC/g ou mL).

1.2) Preparo do Meio de cultura:

Serão utilizados três diferentes meios de cultura para essa técnica. Inicialmente será realizado o teste presuntivo com o meio Agar Bílis Vermelho Violeta (VRBA), somente se ocorrer crescimento de colônias de coliformes totais será realizado o próximo teste confirmativo, onde se utiliza o meio de cultura Caldo verde brilhante bile 2% lactose para confirmação de coliformes totais e Caldo EC para confirmação de coliformes termotolerantes.

1-Agar Bílis Vermelho Violeta (VRBA): É um meio seletivo para detecção de coliformes totais e coliformes termotolerantes em alimentos. Inibe o desenvolvimento de outros organismos não coliformes. O Preparo do meio pode ser visto na figura.



Preparo de 1 litro do meio VRBA. Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

2-Caldo verde brilhante bile 2% lactose: utilizado na prova confirmativa para coliformes totais. O Preparo do meio pode ser visto na figura.

Para preparar 1 litro:



Preparo de 1 litro do meio Caldo verde brilhante bile 2% lactose. Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

3-Caldo EC: Utilizado na prova confirmativa para coliformes termotolerantes. O Preparo do meio pode ser visto na figura.

Para preparar 1 litro:

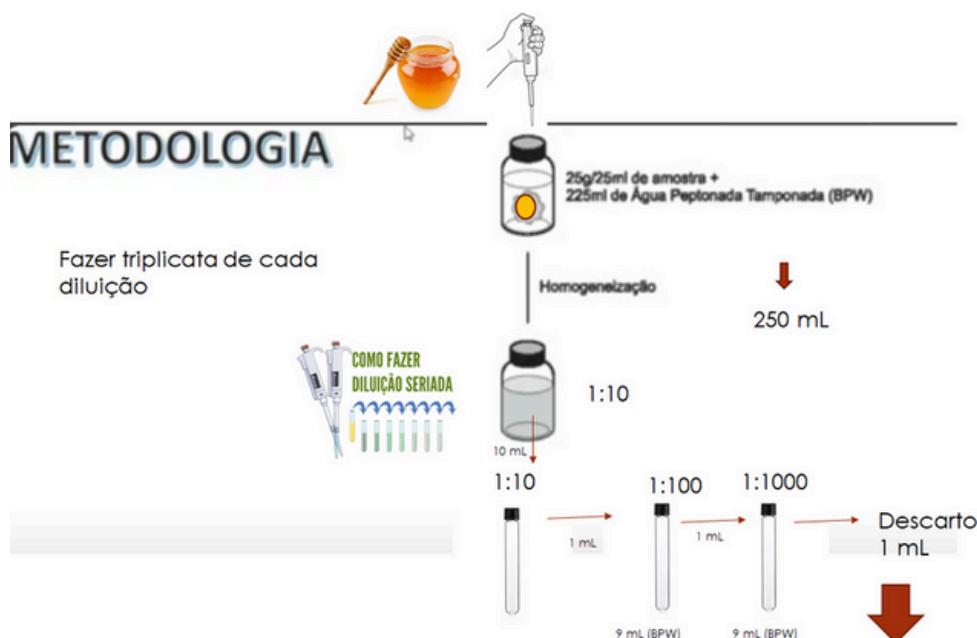


Preparo de 1 litro do meio Caldo EC. Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

1.3) Procedimentos

Pesagem, preparo e diluições da amostra:

Pipetar $25 \pm 0,2$ mL da amostra de mel em 225 mL de solução salina peptonada (BPW) 0,1%, essa é a solução mãe (10:1). A partir da diluição inicial 10^{-1} (1:10) efetuar as diluições desejadas (1:100, 1:1000).



Preparo e diluição da amostra de 25 mL de mel em 225mL de água peptonada tamponada (BPW). Diluições (1:10, 1:100 e 1:1000).

Teste presuntivo: Baseia-se na inoculação de 1 mL das diluições desejadas das amostras sob teste em agar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA). Após inoculação incuba-se as placas 35 ± 1 °C por 18 a 24 horas em estufa. Para esse procedimento realiza-se o método de incorporação na placa.

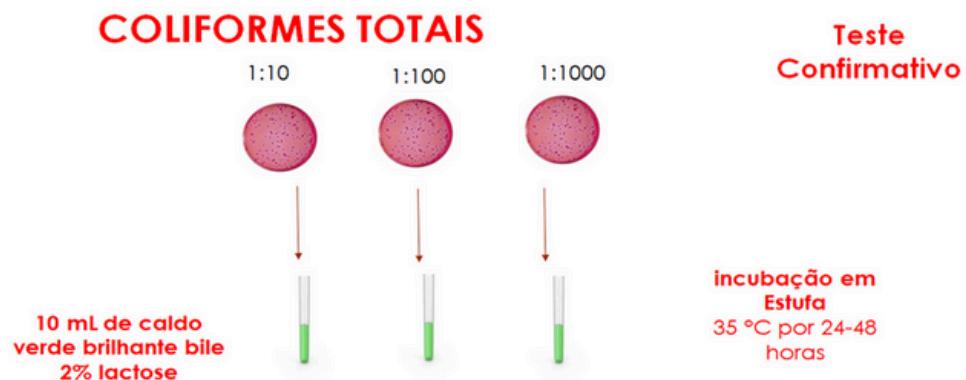
Após incubação realiza-se a contagem das colônias em contador de colônias. Contar as colônias que apresentarem morfologia típica de coliformes, colônias róseas com 0,5 a 2mm de diâmetro rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio e anotar os resultados de contagem e expressar em UFC/ g ou mL. Caso haja presença de colônias realizar o teste confirmativo para coliformes totais e termotolerantes.



Colônia de coliformes em meio VRBA

Colônias que apresentam morfologia típica de coliformes em meio VRBA
(Fonte: <https://www.pvl.pt/index.php?route=base/pt/produto/305/violet-red-bile-agar-vrbl-500-g>)

Teste confirmativo: Coliformes totais: A confirmação da presença de coliformes totais é feita por meio da inoculação das colônias suspeitas em caldo verde brilhante bile 2% lactose e posterior incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$.



Semeadura= Inocular (transferir o microrganismo a um meio de cultura)

Inoculação das colônias suspeitas das placas de petri em meio VRBA para tubos contendo 10 mL de caldo verde brilhante bile 2% lactose.

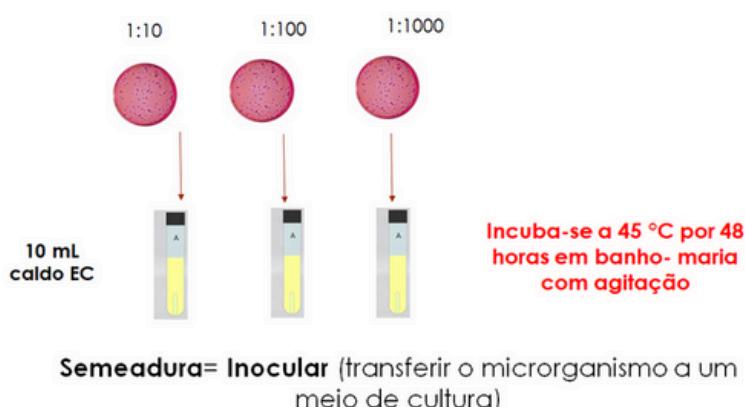
A presença de gás nos tubos de Durhan evidencia a fermentação da lactose presente no meio . O caldo verde brilhante bile 2% lactose apresenta em sua composição bile bovina e um corante derivado do trifenilmetano (verde brilhante) responsáveis pela inibição de microrganismos Gram positivos.

Os coliformes totais têm como características principais a fermentação da lactose e a produção de gás até 35°C, sendo esses os parâmetros tradicionais de detecção das bactérias em alimentos. São estas, bactérias presentes no meio ambiente e responsáveis pela decomposição de matéria orgânica (<https://agrosafety.com.br/blog/detalhes/o-que-voce-sabe-sobre-coliformes#:~:text=Os%20coliformes%20totais%20t%C3%A3m%20como,pela%20decomposi%C3%A7%C3%A3o%20de%20mat%C3%A9ria%20org%C3%A2nica.>)

Coliformes termotolerantes: A confirmação da presença de coliformes termotolerantes é feita por meio da inoculação das colônias suspeitas em caldo EC e posterior incubação em temperatura seletiva de $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$, em banho-maria com agitação ou circulação de água.

COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Teste
confirmativo



Inoculação das colônias suspeitas das placas de petri em meio VRBA para tubos contendo 10 mL de caldo EC.

A presença de gás nos tubos de Durhan evidencia a fermentação da lactose presente no meio . O caldo EC apresenta em sua composição uma mistura de fosfatos que lhe confere um poder tamponante impedindo a sua acidificação. A seletividade é devido a presença de sais biliares responsáveis pela inibição de microrganismos Gram positivos.

Leitura:

A presença de coliformes totais e termotolerantes é confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durhan) ou efervescência quando agitado gentilmente. Anotar o resultado obtido para cada colônia, bem como a diluição utilizada. Expressar o resultado em Número mais provável (NMP/g ou mL).

Observação: A leitura pode ser feita após 24 horas de incubação, porém, só serão válidos os resultados positivos. Os tubos que apresentarem resultado negativo deverão ser reincubados por mais 24 horas.

2.Análise de coliformes totais e termotolerantes na água

Para análise de coliformes totais e termotolerantes na água utilizou-se a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003- CAPÍTULO IX.

2.1) Descrição da técnica

NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM ÁGUA E GELO

OBJETIVOS E ALCANCE: Estabelecer procedimento para determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes em amostras de água e gelo. Aplica-se a amostras de água e de gelo usados em estabelecimentos produtores de alimentos.

2.2) Preparo do Meio de cultura:

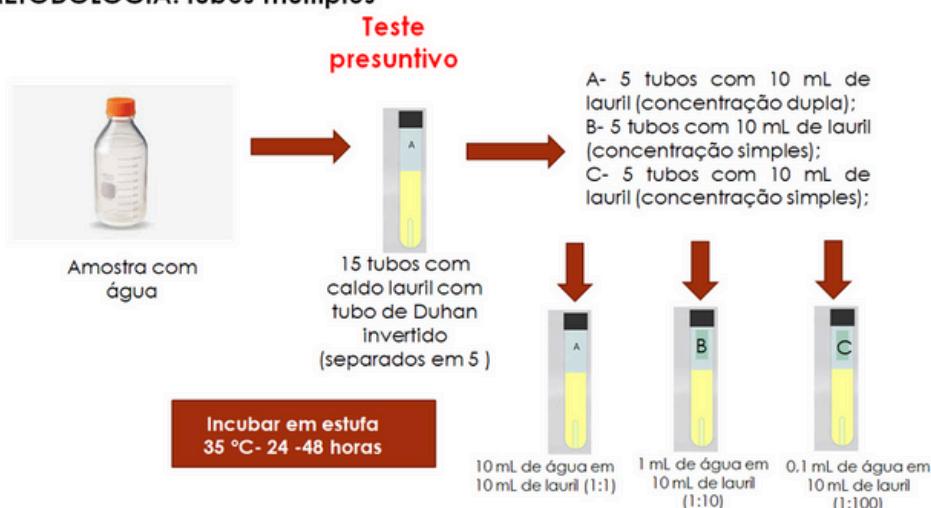
Serão utilizados três diferentes meios de cultura para essa técnica. Inicialmente será realizado o teste presuntivo com o meio CALDO LAURIL TRIPPOSE, somente se ocorrer crescimento de colônias de coliformes totais será realizado o próximo teste confirmativo, onde se utiliza o meio de cultura Caldo verde brilhante bile 2% lactose para confirmação de coliformes totais e Caldo EC para confirmação de coliformes termotolerantes. Caldo Lauril Triptose (LST) é um meio seletivo para a detecção de coliformes em água, laticínios e outros alimentos. O caldo lauril sulfato de sódio apresenta, em sua composição, uma mistura de fosfatos que lhe confere um poder tamponante, impedindo a sua acidificação.

A seletividade do meio se deve à presença do lauril sulfato de sódio, um agente surfactante aniônico que atua na membrana citoplasmática de microrganismos Gram positivos, inibindo o seu crescimento.

2.3) Procedimentos

Teste Presuntivo: Baseia-se na inoculação da amostra de água em caldo lauril sulfato de sódio, em que a presença de coliformes é evidenciada pela formação de gás nos tubos de Durhan, produzido pela fermentação da lactose contida no meio. Para essa técnica é realizado a metodologia dos tubos múltiplos, onde serão utilizados 15 tubos contendo caldo lauril com tubo duhan invertido dentro. Esses tubos serão distribuídos em 3 séries (A, B e C) com 5 tubos cada. Nos tubos A contendo 10 mL de caldo lauril serão acrescentados mais 10 mL de amostra de água em cada um ficando uma diluição 1:1. Nos tubos B contendo 10 mL de caldo lauril serão adicionados 1 mL de água em cada um (diluição 1:10). E nos tubos C contendo 10 mL de caldo lauril serão adicionados 0,1 mL de água em cada um (diluição 1:100). Em seguida todos os tubos serão levados para incubação em estufa a 35°C por 24-48 horas.

METODOLOGIA: tubos múltiplos



Metodologia dos tubos múltiplos para análise de coliformes em água.

Fonte própria.

Caso o teste presuntivo dê positivo com formação de gás nos tubos de Durhan, produzido pela fermentação da lactose contida no meio, deve-se proceder o teste confirmativo para coliformes totais e termotolerantes.

Teste Confirmativo:

A confirmação da presença de coliformes totais e termotolerantes é feita por meio da inoculação dos tubos que deram positivos para a fermentação de lactose, na prova presuntiva. Inocula-se através da técnica de picada em profundidade uma alíquota dos tubos positivos. A diferença, além dos meios utilizados é a temperatura da incubação, tubos para testes para coliformes totais serão incubados, a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ em estufa, já os tubos para os testes de coliformes termotolerantes serão incubados a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em banho maria. A confirmação para coliformes se dá com a presença de gás nos tubos de Durhan evidenciada pela fermentação da lactose presente no meio, em ambos os casos.

3-Detecção de *Salmonella* spp. no mel

A técnica utilizada para detecção de *Salmonella* spp. na amostra de mel seguiu a Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003- CAPÍTULO XV.

3.1) Descrição da técnica

OBJETIVOS E ALCANCE

Estabelecer metodologia analítica para a detecção de *Salmonella* sp em amostras de alimentos, rações e ingredientes. Aplica-se a amostras de alimentos de origem animal, rações e ingredientes.

3.2) Preparação do meio de cultura

3.2.1- CALDO TETRATIONATO: Meio de enriquecimento seletivo para *Salmonella* spp. Os sais da Bile contidos no meio treationato inibem microrganismos Gram-positivos. O procedimento de preparo está na figura.

CALDO TETRATIONATO

NÃO REAQUECE APÓS ADICIONAR SOLUÇÃO DE IODO- NÃO VAI NA AUTOCLAVE

Procedimentos de preparo: 1 litro



Preparo do caldo tetrationato (CT): solução A diluir 46 g do meio CT em 1 litro de água purificada. Preparo da solução B: diluir 6 gramas do iodo + 5 gramas de iodeto de potássio (presente no Kit) em 20 mL de água purificada. Juntar as duas soluções (A+B) para adquirir o meio Caldo tetrationato. Fonte própria.

3.2.2. Caldo Rappaport Vassiliadis:

O Caldo Rappaport Vassiliadis é um meio de cultura recomendado para o isolamento seletivo de *Salmonella* spp. O procedimento de preparo está na figura.

CALDO RAPPAPORT VASSILIADIS

Para preparar 1 litro de caldo:

1 litro de água purificada

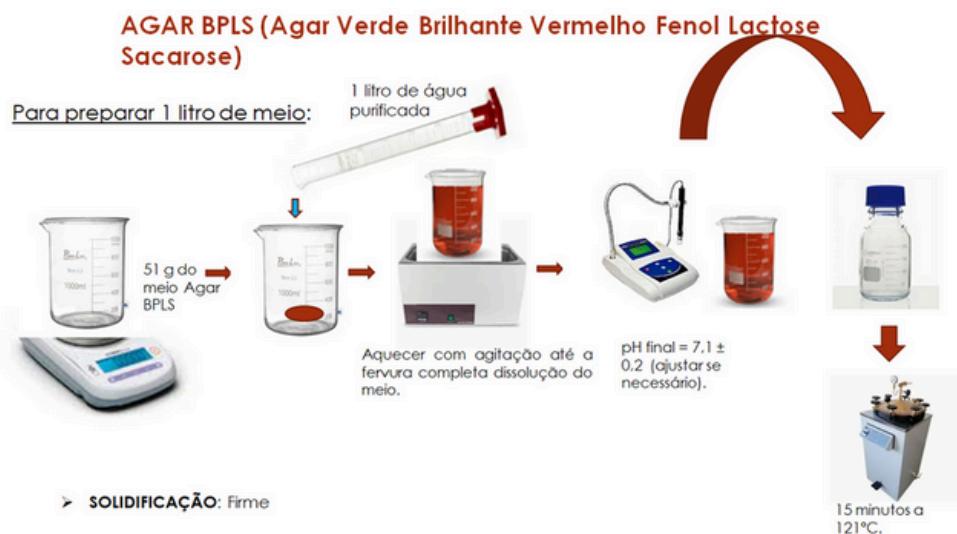


Preparo de 1 litro de caldo Rappaport vassiliadis. Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura.

Fonte própria.

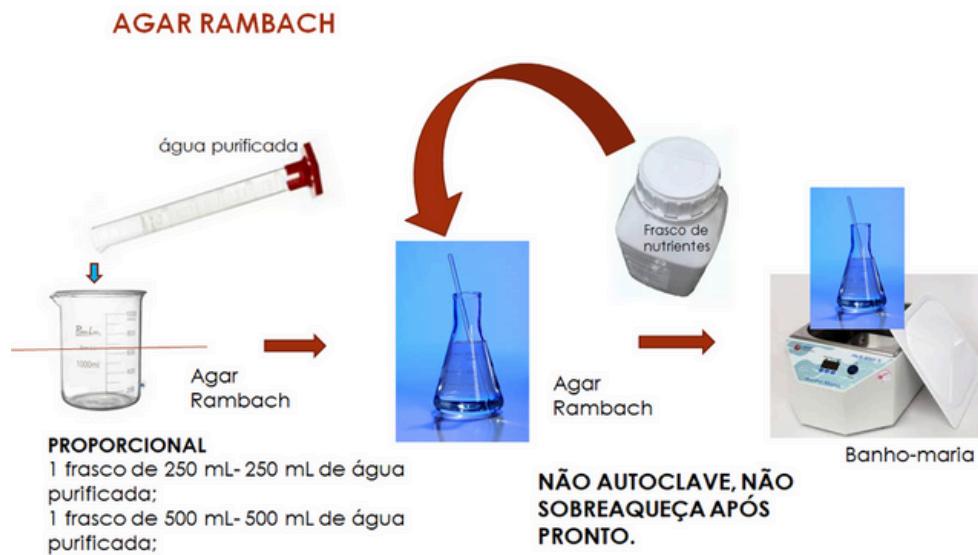
3.2.3- AGAR BPLS

(Agar Verde Brilhante Vermelho Fenol Lactose Sacarose): Meio seletivo para isolamento *Salmonella spp.* exceto *Salmonella typhi*. O procedimento de preparo está na figura abaixo.



Preparo de 1 litro de Agar BPLS. Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

3.4.4- AGAR RAMBACH: Meio seletivo diferenciado para *Salmonella spp.* e também inibe a flora acompanhante Gram-positivas. O procedimento de preparo está na figura abaixo.



Verificar a quantidade do frasco para preparar o meio AGAR RAMBACH, se adquirir um frasco de 250 mL adicionar 250 mL de água, caso adquira um frasco de 500 mL adicionar 500 mL de água.

Após esse procedimento adicionar o frasco de nutrientes (presente no Kit).

Equipamentos e utensílios utilizados estão descritos na figura.

Fonte própria.

3.4.5- AGAR TSI (Tríplice Açúcar Ferro): Meio para análise bioquímica. Possível verificar a fermentação de lactose, glicose ou sacarose. Bem como, a produção de sulfeto de hidrogênio e dióxido de carbono. O procedimento de preparo está na figura abaixo.



Preparo de 1 litro de AGAR TSI (Tríplice Açúcar Ferro). Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

3.4.6. AGAR LIA (AGAR LISINA FERRO): Para verificar se ocorre a descarboxilação e desaminação da lisina e produção de H₂S (sulfeto de hidrogênio). O procedimento de preparo está na figura abaixo.



Preparo de 1 litro de AGAR LIA (AGAR LISINA FERRO). Valores em grama do meio, temperatura e equipamentos utilizados estão descritos na figura. Fonte própria.

4-Procedimento para detecção de *Salmonella* spp. em amostras de mel.

1^a Etapa- Pesagem, preparo da amostra e Pré-enriquecimento

Pesar $25 \pm 0,2$ g ou pipetar $25 \pm 0,2$ mL da amostra. Adicionar 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada e homogeneizar.

Pré-enriquecimento: O pré-enriquecimento se realiza por meio da incubação das alíquotas das amostras preparadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por, no mínimo, 16 horas e não mais que 20 horas.

O objetivo do pré-enriquecimento é favorecer a recuperação de células injuriadas, que podem estar prejudicadas no alimentos. A utilização da solução salina peptonada tamponada, favorece a manutenção do pH, evitando que as bactérias acompanhantes acidifiquem o meio, prejudicando a recuperação das células de *Salmonella*.

Detecção de *Salmonella* spp.



Pesagem, preparo da amostra e Pré-enriquecimento com incubação da amostra homogeneizada em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por, no mínimo, 16 horas e não mais que 20 horas.

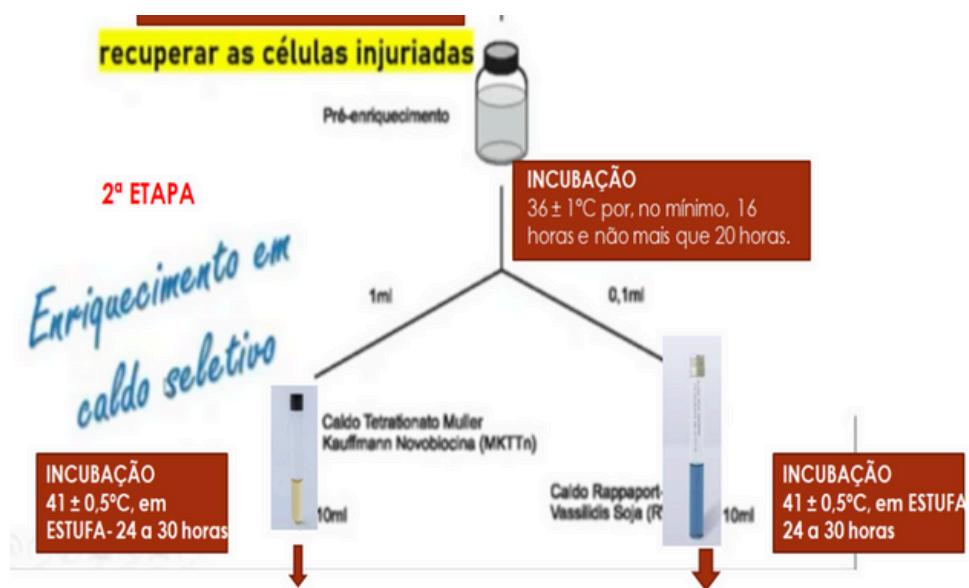
2^a Etapa: Enriquecimento em caldo seletivo: A partir do procedimento de pré-enriquecimento será retirado alíquotas para os seguintes caldos:

Inoculação em caldo Rappaport Vassiliadis: Pipetar alíquotas de 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis. Incubar os tubos a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, em banho-maria, preferencialmente com agitação ou circulação contínua de água, por 24 a 30 horas.

Inoculação em caldo tetrationato: Pipetar alíquotas de 1 mL das amostras pré-enriquecidas e transferir para tubos contendo 10 mL de caldo tetrationato. Incubar os tubos a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em banho-maria, preferencialmente com agitação ou circulação contínua de água, por 24 a 30 horas.

Utiliza-se 2 caldos diferentes porque tem sorotipos de *salmonellas* que podem se comportar de maneira diferente nos respectivos caldos. É possível que o crescimento da *Salmonella* do amostra de mel possa crescer de maneira diferente nos diferentes caldos. Por isso, a necessidade de se trabalhar com pelo menos dois tipos de caldos. O Enriquecimento seletivo tem como objetivo inibir as outras bactérias e favorecer as *Salmonella* sp. Possuem substâncias que favorecem o crescimento de *Salmonella* sp e inibem o crescimento de outras, mesmo não eliminando estas.

Devido à utilização dos diferentes agentes inibitórios adicionados aos meios, estes também diferem em sua seletividade e aplicação específica. A seletividade é melhorada pela incubação a 41°C-43°C.



2^a Etapa- Enriquecimento em caldo seletivo: A partir do procedimento de pré-enriquecimento será retirado alíquotas para os seguintes caldos: 1 mL para o Caldo tetratônato e 0,1 mL para o caldo Rappaport.

3^a Etapa: Plaqueamento seletivo diferencial

Proporcionar diferença no crescimento das bactérias que são de interesse das que não são de interesse.

Isolamento: A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, repicar sobre a superfície previamente seca de placas com cada meio sólido seletivo, estriando de forma a se obter colônias isoladas, utilizando a técnica semeadura por esgotamento em placas de petri em meio adequado, com o objetivo da obtenção de colônias isoladas.

Dessa forma serão obtidas 2 placas de BPLS e 2 placas do Agar Rambach, sendo originárias do caldo Rappaport Vassiliadis e do caldo tetratônato. Incubar todas as placas em estufa, a 36 ± 1°C por 18 a 24 horas.



Técnica semeadura por esgotamento em placas de petri (Fonte:  <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2012/09/tecnicas-de-semeadura.html>).

4^a Etapa- Análise Bioquímica

Selecionar de 3 a 10 colônias suspeitas por amostra das placas de agar BPLS e agar rambach e repicar através da técnica de estria sinuosa em ágar inclinado em agar TSI e agar LIA, em seguida incubar os tubos de ensaio em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas.

No agar TSI, estão presentes: glicose (1,0 g/L), lactose (10,0 g/L) e sacarose (10,0 g/L). Como a glicose é um monossacarídeo e está em baixa concentração, será rapidamente fermentada anaerobiamente, formando ácido no fundo do tubo, o que torna o meio amarelo pela viragem do indicador vermelho de fenol (todos os membros da família Enterobacteriaceae fermentam a glicose com produção de ácido), ficando escuro onde há presença de *Salmonella* sp. A fermentação aeróbia da glicose, que ocorre na superfície do bisel, resulta em ácido pirúvico, que é posteriormente degradado a CO_2 e água. A grande maioria das salmonelas não fermenta a sacarose e a lactose, não provocando alterações no meio TSI. Como a fonte de carbono utilizável (glicose) é rapidamente esgotada, a *Salmonella* passa a degradar aerobiamente o substrato protéico do meio, produzindo amoníaco (NH_3), o que confere ao meio um pH alcalino, modificando a coloração do bisel para rosa intenso. A maioria das salmonelas apresenta no TSI seguintes reações: Ácido na base, com ou sem produção de gás. Alcalino ou inalterado no bisel. Com produção de H_2S .

No agar LIA observar se ocorreu descarboxilação da lisina pela alcalinização do meio, o que é demonstrado pela não alteração de cor do indicador presente. A atividade da enzima lisina descarboxilase é dependente do pH, sendo mais ativa em pH abaixo de 5,5.

A acidificação do meio é obtida pela fermentação da glicose presente. Nessa etapa do processo, ocorre a viragem do indicador púrpura de bromocresol, de violeta para amarelo. É recomendável a inoculação de um tubo controle de caldo base para descarboxilação sem lisina, para comprovação da acidificação pela fermentação da glicose. Esse tubo deve permanecer amarelo até o final do período de incubação.

Na condição anaeróbia, na base (do LIA), todo o oxigênio não combinado é consumido pelo microrganismo presente, na fase inicial de crescimento.

A descarboxilação da lisina, que ocorre posteriormente, resulta na produção de uma diamina (cadaverina) e CO₂, que conferem ao meio características de alcalinidade e nova viragem da cor do indicador, que passa de amarelo para violeta. A diamina cadaverina é estável quando produzida em condições anaeróbias. A maioria das salmonelas é capaz de produzir lisina descarboxilase.

Os ensaios microbiológicos devem ser realizados ou supervisionados por pessoal experiente, qualificado em microbiologia ou equivalente. As análises microbiológicas devem ser realizadas e laboratório que tenha Certificações e Acreditações Amparados por certificações reconhecidas de autarquias como Reblas (Rede de laboratórios analíticos em saúde), Anvisa, Inmetro e MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária).

Laboratórios que buscam habilitação para realizar análises microbiológicas de alimentos devem seguir os requisitos da ISO 17025: 2017. Um material didático que pode auxiliar sobre a habilitação para laboratórios de microbiologia consta no site

<https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/manuais/qualidade/Habilitao%20para%20Laboratrios%20de%20Microbiologia.pdf>.

Bibliografia Consultada

ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração.

AGROINDÚSTRIA – MICROBIOLOGIA E PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS. Escola Estadual de Educação Profissional – EEEP Ensino Médio Integrado à Educação Profissional. Curso Técnico em Agroindústria.

ALVES, E. M. Identificação da flora e caracterização do mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas floresta e laranjeira, do alto do Rio Paraná. 2008. 77 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Boas Práticas de Manipulação em Serviços de Alimentação. <https://jundiai.sp.gov.br/saude/wp-content/uploads/sites/17/2015/01/Aula-1.pdf> (página visitada 08/06/24).

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.

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.

BRASIL, Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada- Instrução Normativa N° 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 724, DE 1º DE JULHO DE 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022.

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

CARVALHO, I.T. Microbiologia dos alimentos. UFRPE/Codai, 2010.

ACRANE,E. Honey: a comprehensive survey, 1979. Apud: SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey, Review article, International Journal of Food Microbiology, v.31, p.1-26, 1996.

CHRISTIANSSON A.; BERTILSSON, J.; SVENSSON, B. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. *Journal of Dairy Science*. v.82, p.305-314, 1999.

FINOLA MS, LASAGNO MC, MARIOLI JM. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*. Amsterdam. 100: 1649-1653, 2007.

FORSYTHE, S.J. *Microbiologia Segurança Alimentos*. 2^a edição, 2013.

FRANCO BDGM; LANDGRAF M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: ed Atheneu, 2008.

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

GOIS G.C., BARBOSA DE LIMA C.A., DA SILVA, L.T., EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.7, n.2, p.137-147, 2013.

HANES D. Nontyphoid salmonella. In: *International Handbook of Foodborne Pathogens*. MILIOTIS, M.D.; BIER, J.W. Marcel Dekker Inc. New York, p. 72-101, 2003.

INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 62, de 26 de agosto de 2003. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.

IURLINA, M.O; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam. 105: 297–304, 2005.

JAY, J. M. *Microbiologia de Alimentos*. 6^a ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. cap.24, p. 491-515.

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 Idéia, 2002, v. 1, p. 175-199.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. *Brock Biology of microorganisms*. 12ed., 2009.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. Brock Biology of microorganisms. 12ed., 2009.

MARTINS, H. M.; MARTINS, M. L.; BERNARDO, F. M. A. Bacillaceae spores, fungi and aflatoxins determination in honey. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, n.98, n.546, p. 85-88, 2003.

MARTINS, António Manuel Calado de Oliveira. Implementação da ISO 14189 (2013)-Water Quality-Enumeration of Clostridium perfringens-Method using membrane filtration. 2018. Tese de Doutorado.

MENDES CG, SILVA JBA, MESQUITA LX, MARACAJÁ PB. As análises de mel: Revisão. Revista Verde. 22: 7–14, 2009.

MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS. Curso Técnico em Nutrição e Dietética. Governo do Ceará, 2012.

NASCIMENTO, J.S. Biologia de microrganismos. In. GUERRA, R.A.T. (Org.). Cadernos CB Virtual 4. João Pessoa: UFPB, v.4, p.233-306, 2010.

SANT'ANA, A. S. et al. Qualidade microbiológica de águas minerais. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. v. 23, supl., p.190-194, 2003.

SCHLABITZ C, SILVA SAF, SOUZA CFV. Avaliação de Parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. 4(1): 80-90, 2010.

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. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos v.26, n.2, p.352-9, 2006.

SILVA, M. B. L. Diagnóstico do sistema de produção e qualidade do mel de Apis Mellifera. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SILVA, M. S.; RABADZHIEV, Y.; ELLER, M. R.; ILIEV, I.; IVANOVA, I.; SANTANA, W. C. Microorganisms in Honey. Agricultural and biological Science “Honey Sciences”, book edited by Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, 2017.

SNOWDON, J.A; CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. International Journal Food Microbiology 31: 1-26, 1996.

SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; ZUCCHI, O.L.A.D.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; MORETI, A.C.C.C.; OTSUK, I.P. 2005. Minerais encontrados em amostras de méis de Apis Mellifera Africanizada (Hymenoptera: Apidae) provenientes de alguns municípios do Estado do Ceará. Boletim da Indústria Animal, 62, 09-18.

SOLOMON, H. M.; LILL, Y. T. Clostridium botulinum. In: Bacteriological Analytical Manual, 8^a ed., Cap. 17, 2001.

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

TORTORA, G.J; FUNKE, B.R; CASE, C.L. Microbiologia. 8ed., 2005.

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F; GOMPERTZ, O.F; CANDEIAS, J.A.N. Microbiologia- 3^a edição, 2002.

Sites Visitados

https://www.metis.med.up.pt/index.php/Toxine%C3%A7%C3%B5es_alimentares (página visitada 06/07/24)

<https://www.biologianet.com/zootecnia/organismos-aerobios-anaerobios.htm> (página visitada 06/07/24)

http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf (página visitada 06/07/24)

<https://kasvi.com.br/meios-de-cultura-diferenca/#:~:text=Um%20meio%20quimicamente%20definido%20%C3%A9,vitaminas%20e%20os%20minerais%20necess%C3%A1rios> (página visitada 06/07/24)

<https://foodsafetybrazil.org/coliformes-totais-e-coliformes-termotolerantes-voce-sabe-diferenca/> (página visitada 06/07/24)

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas> (página visitada 06/07/24)

<https://agrosafety.com.br/blog/detalhes/o-que-voce-sabe-sobre-coliformes#:~:text=Os%20coliformes%20totais%20t%C3%A3m%20como,pela%20decomposi%C3%A7%C3%A3o%20de%20mat%C3%A3ria%20org%C3%A2nica> (página visitada 06/07/24)

[https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/manuals/qualidade/Habilitao%20para%20Laboratrios%20de%20Microbiologia.pdf.](https://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/manuals/qualidade/Habilitao%20para%20Laboratrios%20de%20Microbiologia.pdf)

Análise físico-química do mel

Conforme IN MAPA N°11/2000



Análise Físico-química de Mel Conforme IN 11/2000

Lisa Alvarelli Nakano

Preparação de Amostra

Amostra é uma porção representativa retirada de um determinado material que, geralmente, se apresenta em maior volume. Para a retirada da amostra, todos os utensílios utilizados devem estar, devidamente, higienizados e armazenados e o manipulador responsável deve estar com as mãos higienizadas ou utilizando luvas. A amostra deve ser identificada de acordo com a identificação existente no material de maior volume que ela representa. Além disso a quantidade de unidades e o peso de cada unidade de amostra, deve ser definido pela empresa, no entanto ela deve ser suficiente em quantidade para atender todas as análises recomendadas. A amostra pode se apresentar de diversas formas, de acordo com a ABNT 2009, o estado de apresentação da amostra definirá o tratamento recomendado.

APARÊNCIA	MÉTODO
MEL LÍQUIDO SEM IMPUREZA	HOMOGENEIZAR
MEL CRISTALIZADO SEM IMPUREZA	BANHO MARIA 40° A 20 MIN E ESFRIAR
MEL LÍQUIDO COM IMPUREZA	PENEIRAR
MEL CRISTALIZADO COM IMPUREZA	RETIRAR, BANHO MARIA 40° A 20 MIN E ESFRIAR.

Preparo das amostras e métodos de tratamento realizados. 

DICA 1: tratamentos térmicos podem alterar as propriedades e parâmetros da amostra. Se no método a ser utilizado está previsto diluição com água, é possível utilizar amostras que estejam cristalizadas. Única análise que não é possível realizar com mel cristalizado é a umidade, para isso, recomenda-se utilizar uma pequena fração da amostra em um frasco de vidro com tampa e levar em banho maria conforme recomendado na tabela

Módulo02 - Métodos Físico-Químicos (Instrumental)

Funcionamento de alguns equipamentos: Destilador de água, balança analítica e capela de exaustão, poderão ser acompanhados nos links abaixo:

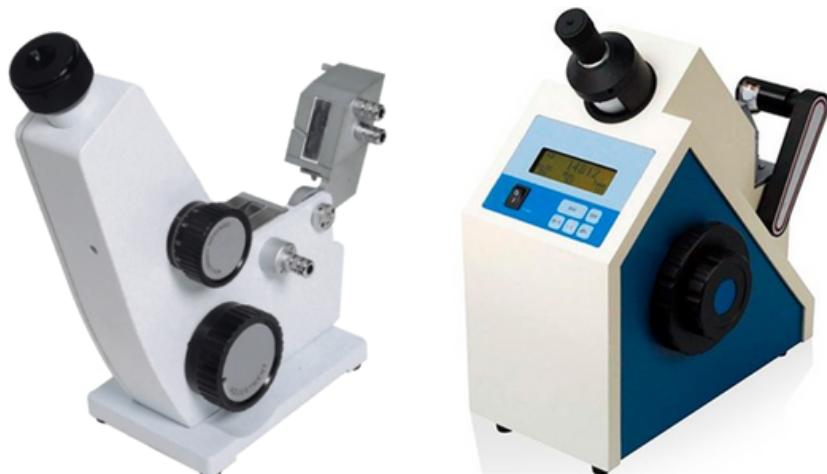
<https://www.youtube.com/watch?v=jUvOEtHwt1I>
<https://www.youtube.com/watch?v=v5cMWuk0m28>
<https://www.youtube.com/watch?v=c-3PoOrsvfg>
<https://www.youtube.com/watch?v=rAYSbd0m8rU>

Determinação de Unidade em Mel

Um dos mais importantes critérios de qualidade do mel é está diretamente relacionada a diferentes condições climáticas, geográficas, origem botânica e práticas de manejo e beneficiamento. O seu conteúdo pode influenciar o grau de maturidade, conservação e estabilidade (vida de prateleira), propriedades físicas (viscosidade e cristalização) e sensoriais (sabor e textura) do mel. Além disso, elevados conteúdos de umidade podem favorecer a proliferação de leveduras osmofílicas (tolerantes aos açúcares) responsáveis pela fermentação do mel (ABNT, 2020).

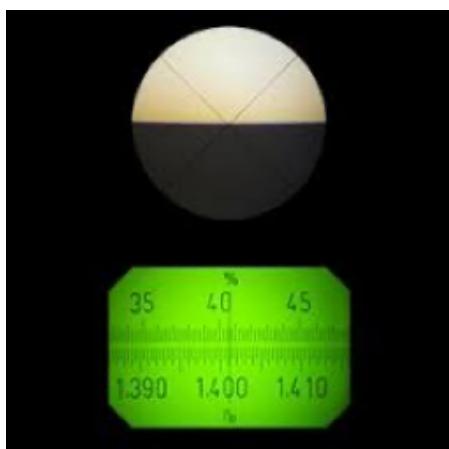
Refratometria (Refratômetro Tipo Abbé e Digital)

Aplicável na determinação de umidade em mel, baseando-se no método refratométrico de Chataway. Utiliza-se a medida de índice de refração da amostra para ser convertida em porcentagem de umidade (IAL, 2008).



Refratômetros tipo Abbé e digital de bancada. 

Primeiramente, circular água a 20°C dentro do equipamento. Em seguida, colocar uma pequena quantidade da amostra de mel (não cristalizada, vide módulo 01) no prisma, fechar a válvula do prisma e ajustar a luz até o ponto de intersecção (centro do “x”) com o auxílio do knob. Por fim, acertar o foco da luz girando a ocular e realizar a leitura através da escala do índice de refração (nd). A limpeza do prisma deve ser realizada com água destilada e papel macio para não arranhar a superfície.



Ponto de intersecção e escala de índice de refração. 

Caso não seja possível manter a temperatura a 20°C, utilizar a tabela de Chataway para corrigir o índice de refração pela compensação da temperatura, para obter a porcentagem de umidade da amostra.

Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %	Índice de refração a 20°C	Umidade %
1,5044	13,0	1,4961	16,2	1,4880	19,4	1,4800	22,6
1,5038	13,2	1,4956	16,4	1,4875	19,6	1,4795	22,8
1,5033	13,4	1,4951	16,6	1,4870	19,8	1,4790	23,0
1,5028	13,6	1,4946	16,8	1,4865	20,0	1,4785	23,2
1,5023	13,8	1,4940	17,0	1,4860	20,2	1,4780	23,4
1,5018	14,0	1,4935	17,2	1,4855	20,4	1,4775	23,6
1,5012	14,2	1,4930	17,4	1,4850	20,6	1,4770	23,8
1,5007	14,4	1,4925	17,6	1,4845	20,8	1,4765	24,0
1,5002	14,6	1,4920	17,8	1,4840	21,0	1,4760	24,2
1,4997	14,8	1,4915	18,0	1,4835	21,2	1,4755	24,4
1,4992	15,0	1,4910	18,2	1,4830	21,4	1,4750	24,6
1,4987	15,2	1,4905	18,4	1,4825	21,6	1,4745	24,8
1,4982	15,4	1,4900	18,6	1,4820	21,8	1,4740	25,0
1,4976	15,6	1,4895	18,8	1,4815	22,0	-	-
1,4971	15,8	1,4890	19,0	1,4810	22,2	-	-
1,4966	16,0	1,4885	19,2	1,4805	22,4	-	-

Tabela de Chataway. 

Para realizar a correção do índice de refração:

1) Temperatura acima de 20°C: Adicionar 0,00023 ao índice de refração para cada grau acima de 20°C, em seguida utilizar a tabela de Chataway.

2) Temperatura acima de 20°C: Subtrair 0,00023 do índice de refração para cada grau abaixo de 20°C, em seguida utilizar a tabela de Chataway.

Refratometria (Refratômetro Portátil ATC)

Este refratômetro realiza a compensação automática da temperatura (ATC). Colocar uma pequena quantidade da amostra de mel (não cristalizada, vide modulo 01) no prisma, fechar a tampa que cobre o prisma. Por fim, acertar o foco da luz girando a ocular e realizar a leitura através da escala porcentagem de umidade. A limpeza do prisma deve ser realizada com água destilada e papel macio para não arranhar a superfície.



Refratômetro portátil de compensação automática de temperatura. 

Determinação de Cor em Mel

Assim como o sabor e o aroma, a coloração do mel varia de acordo com a origem floral, variando de incolor (branco d'água) a âmbar escuro (ou até marrom) (BRASIL, 2000). Este parâmetro é de grande interesse comercial.

Comparação de Cor

Este método consiste em comparação direta da cor da amostra de mel com uma série de variações de coloração pré-estabelecidas. O resultado é dado por aquela cor que mais se assemelha a cor da amostra de mel.



Sistema de comparador de disco (LOVIBOND 2000) 



Régua de escala de cor para mel 

Determinação de Cor por Espectrofotometria

Esta metodologia é aplicada para determinar a cor do mel por meio da técnica de espectrofotometria, por ser uma substância, naturalmente mais viscosa, aplicar uma diluição de 2x na amostra. Os resultados são expressos em milímetros para escala de pfund (1mm a mais de 114 mm) e nome da cor (branco d'água a âmbar escuro).

Equipamentos e Materiais

- Béquer 50 ml
- Bastão de vidro
- Cubeta de quartzo
- Espectrofotômetro UV-visível
- Balança analítica

Procedimento

Ligar o espectrofotômetro e ajustar o comprimento de onda para 560 nm.

Pesar 10 g de mel em Becker de 50 ml e diluir com 10ml de água destilada. Transferir a solução para uma cubeta de quartzo e realizar a leitura da absorbância. Utilizar água destilada como branco.

ABSORBÂNCIA	ESCALA DE PFUND	COR
Menos de 0,030	1 a 8mm	Branco da água
0,030 a 0,060	de 8 a 17mm	Extra branco
0,060 a 0,120	de 17 a 34mm	Branco
0,120 a 0,188	de 50 a 85mm	Âmbar claro
0,188 a 0,440	de 85 a 114mm	Âmbar
0,440 a 0,945	mais de 114mm	Âmbar escuro
mais de 0,945	-	marrom

Relação absorbância, escala de pfund e escala de cor.



Determinação Sólidos Insolúveis em Mel

Esta metodologia é aplicada para determinar sólidos insolúveis em água presente em amostras de mel por meio de análise gravimétrica (diferença de peso). Unicamente em produtos acondicionados para sua venda direta ao público (BRASIL, 2000).

Equipamentos e Materiais

- Bequer 250 ml
- Espátula metálica
- Erlenmeyer de 250 ml
- Funil de vidro
- Pinça metálica
- Papel de filtro faixa preta n° ≥ 9
- Dessecador de vidro
- Sílica gel
- Balança analítica
- Estufa

Procedimentos

Separe 1 papel de filtro faixa preta nº 9 por amostra e leve a estufa à 105°C por 2 horas. Após este período, retirar o papel da estufa com auxílio de uma pinça e colocá-lo imediatamente dentro do dessecador e aguardar o esfriamento.

DICA 1: é possível identificar o papel de filtro com lápis antes de iniciar o procedimento, pois no momento de levar a alta temperatura a identificação não sofrerá alteração.

DICA 2: É recomendado que o papel de filtro seja manipulado com pinça para evitar a incorporação de massa, já que nossas mãos carregam naturalmente gordura e sujidades.

DICA 3: Não é recomendado utilizar luvas de procedimentos (vinílicas) para procedimentos que envolvam altas temperaturas para que não ocorra acidentes de trabalho.

Em seguida, pesar e anotar o peso do papel de filtro seco (Peso inicial). A partir deste momento já possível montar o sistema de filtração, colocando o papel de filtro seco (manipulado com pinça) e dobrado conforme ensinado em aula, dentro do funil de vidro e, este por sua vez, é encaixado na boca do Erlenmeyer.



Dobradura do papel de filtro para facilitar a filtração

- Aquecer, aproximadamente, 200 ml de água destilada a 70°C.
- Pesar 10g de mel (anotar todas as casas após a vírgula) e diluir, inicialmente, com 20 ml de água fria e em seguida com 60 ml de água a 70°C. Transferir a solução de mel para o sistema de filtração
- Lavar o papel com mais 100 ml de água a 70°C e aguardar o fim da filtração.
- Em seguida, levar o papel de filtro para a estufa à 105°C por 2h.
- Após a secagem, colocar o papel, com auxílio de uma pinça metálica, imediatamente no dessecador, esperar esfriar, pesar e anotar o peso (Peso final). A solução filtrante pode ser descartada.

Cálculo e Expressão de Resultados

O teor de sólidos insolúveis é calculado da seguinte forma: Peso final do papel de filtro seco, que pode conter resíduos provenientes da amostra, subtraindo o peso inicial do papel de filtro seco, dividido pelo peso do mel, multiplicado por 100.

$$\left(\frac{(\text{PESO FINAL} - \text{PESO INICIAL})}{\text{PESO DA AMOSTRA}} \right) \times 100 = \text{g}/100\text{g}$$

O resultado é expresso em gramas de sólidos insolúveis por 100g de mel (g/100g).

Determinação de Minerais (cinzas) em Mel

O método realiza a incineração de material orgânico e é baseado na diferença de peso em dois tempos distintos para quantificar o teor de cinzas, material inorgânico, presentes no mel.

Equipamentos e Materiais

- | | |
|------------------------------|---------------------|
| • Cadiño de porcelana | • Balança analítica |
| • Espátula metálica | • Estufa |
| • Dessecador com sílica gel | • Chapa aquecedora |
| • Pinça para cadiño | • Mufla |
| • Luva de Kevlar ou de raspa | |

Procedimentos

Separe 1 cadiño de porcelana por amostra e leve a estufa à 105°C por 2 horas. Após este período, retirar o cadiño da estufa com auxílio de uma pinça e colocá-lo imediatamente dentro do dessecador e aguardar o esfriamento.

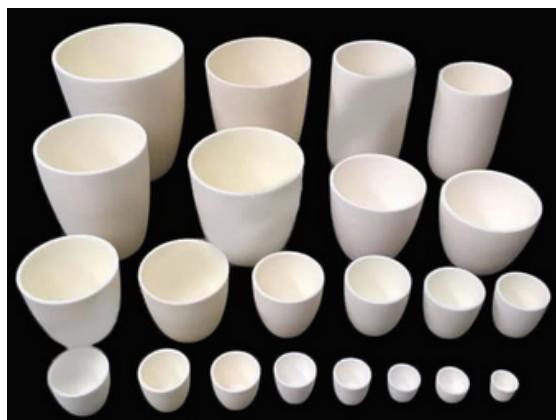
DICA 1: é possível identificar o cadiño com lápis na parte inferior (base de apoio) antes de iniciar o procedimento, pois no momento de levar a alta temperatura a identificação não sofrerá alteração.

DICA 2: É recomendado que o cadiño seja manipulado com pinça para evitar a incorporação de massa, já que nossas mãos carregam naturalmente gordura e sujidades.

DICA 3: Não é recomendado utilizar luvas de procedimentos (vinílicas) para procedimentos que envolvam altas temperaturas para que não ocorra acidentes de trabalho.

Levar o cadiño de porcelana a estufa à 105°C por 2 horas. Após este período colocá-lo imediatamente no dessecador, esperar esfriar, pesar e anotar o peso (peso inicial). Pesar, pelo menos, 2g de mel no cadiño e anotar o peso da amostra (anotar todas as casas depois da vírgula).

DICA 4: A quantidade de amostra de mel que deve ser pesada vai depender do tamanho do cadiño que se tem. Lembrando que o resultado será proporcional a quantidade de amostra de mel utilizada.



Diversos tamanhos de cadiños de porcelana. 

DICA 5: Nesta etapa é crucial que não se perca qualquer quantidade de amostra para que não haja interferência no resultado final (resultado subestimado). O aquecimento não deve gerar bolhas, subida da amostra ou extravasamento.

DICA 6: O aquecimento em chapa é uma etapa muito importante, pois se a queima do material não for realizada da forma correta (carvão que não sai mais fumaça), quando o cadinho estiver dentro da mufla o material pode pegar fogo e ocasionar acidentes de trabalho.

Após a queima do material até que não saia mais fumaça, levar o cadinho para a mufla à 550°C por, pelo menos, 1 hora ou até a amostra não se apresenta mais preta como carvão e, sim, com aspecto de pó branco ou levemente acinzentado depositado no fundo do cadinho. Após a incineração, colocar o cadinho, com auxílio de uma pinça, imediatamente dentro do dessecador, esperar esfriar, pesar e anotar o peso (peso final).

Cálculo e Expressão de Resultados

O teor de minerais (cinzas) é calculado da seguinte forma: Peso final do cadinho seco, que pode conter resíduos provenientes da incineração da amostra, subtraindo o peso inicial do cadinho seco, dividido pelo peso do mel, multiplicado por 100.

$$\left(\frac{(\text{PESO FINAL} - \text{PESO INICIAL})}{\text{PESO DA AMOSTRA}} \right) \times 100 = \text{g}/100\text{g}$$

O resultado é expresso em gramas de minerais (cinzas) por 100g de  mel (g/100g).

Determinação da Presença de Pólen em Mel

Esta metodologia é aplicada para verificação e identificação de pólen presente em amostras de mel por meio da técnica de centrifugação e observação em microscópio óptico. Todo mel é composto, basicamente, de enzimas salivares de abelhas, açúcares e grãos de pólen provenientes de flores. Portanto todo mel deve, necessariamente, apresentar grãos de pólen.

Equipamentos e Materiais

- Becker de 50 ml
- Espátula metálica
- Tubo cônico para centrifugação (mínimo 15 ml)
- Pipeta de pasteur
- Lâmina
- Lamínula
- Óleo de imersão
- Balança analítica
- Centrífuga
- Microscópio ótico

Procedimentos

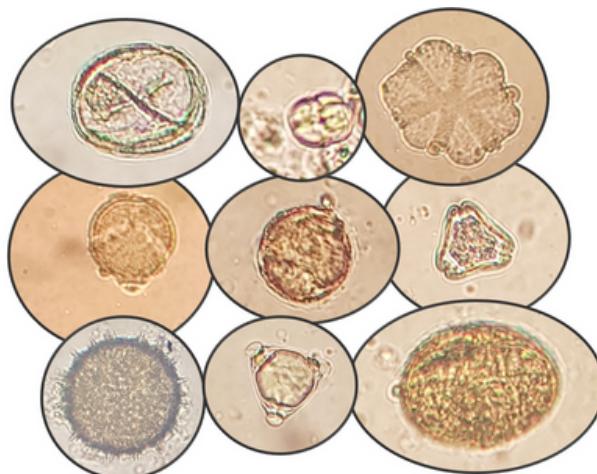
Pesar 10 g de mel em Becker de 50 ml e diluir bem com 20ml de água destilada. Transferir a solução em partes iguais para dois tubos cônicos. Colocar os tubos na centrifuga em casas opostas para garantir o balanceamento correto (Vide fabricante da centrifuga). Realizar a centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos (vide fabricante do tubo para saber a capacidade de rotação que ele aguenta). Em seguida, sem agitar os tubos, descartar as soluções dos dois tubos, tomando o cuidado para não descartar o precipitado que está compactado no fundo cônicoo.

Adicionar volumes iguais de água para os dois tubos, agitá-los e colocá-los novamente na centrifuga em casas opostas para garantir o balanceamento correto. Realizar a centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos. Em seguida descartar as soluções dos dois tubos, tomando o cuidado para não descartar o precipitado compactado no fundo cônicoo. Caso a concentração do precipitado seja baixa, juntar as duas frações e levar a centrifugar novamente conforme descrição anterior, realizando o balanceamento do tubo (sem amostra) com água. Logo após, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, coletar uma pequena gota do precipitado e transferir para a lâmina e sobrepor a lamínula. Levar ao microscópio óptico para leitura. Lembrando que como é um método direto e a fresco, após a colocação do material na lâmina realizar a leitura imediatamente.

DICA 1: O precipitado presente no fundo cônico pode ser guardado em freezer por um ano dentro de potes ou micro tubo de centrifugação

Expressão de Resultados

Presença ou ausência de grãos de pólen na amostra de mel.



Tipo de grãos de pólen encontrados.



Módulo03 - Métodos Físico-Químicos (com uso de reagentes químicos)

Determinação de Acidez Livre

A determinação do pH é realizada diretamente em uma solução de mel 10 % (m/V), empregando-se um peagâmetro. A acidez livre é a medida obtida da titulação com hidróxido de sódio até pH igual a 8,5. (ABNT, 2020)

Equipamentos e Materiais

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Béquer de 50 ml• Béquer de 250 ml• Béquer de 1000 ml (1 L)• Espátula metálica• Pinça metálica• Buretas de 25 ml | <ul style="list-style-type: none">• Buretas de 50 ml• Suporte universal• Barra magnética (peixinho)• Medidor de pH (pHmetro)• Balança analítica• Agitador magnético com aquecimento |
|--|--|

Preparação de Reagentes

Água descarbonatada: Colocar, aproximadamente, 1 litro de água destilada em um bêquer de 1000 ml e aquecer até atingir a fervura, manter em ebulação por 3 minutos sob agitação. Esperar esfriar.

Biftalato de potássio: Pesar certa de 0,3 g de biftalato de potássio e secar em estufa a 105 °C por 1 hora, imediatamente, colocar em dessecador, com auxílio de uma pinça e esperar esfriar. Pesar em um frasco de Bequer de 250 mL cerca de 0,25 g de biftalato de potássio seco e dissolver com 75 mL de água descarbonatada.

Solução de hidróxido de sódio a 0,05 M: Pesar 2,25 g de hidróxido de sódio em um bêquer de 50 mL, adicionar aproximadamente 30 mL da água descarbonatada para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água descarbonatada. Agitar e transferir a solução preparada para um frasco de polietileno.

Padronização da solução de hidróxido de sódio 0,05 M – Titulação

Preparar uma bureta de 50 ml com solução de hidróxido de sódio 0,05 M (titulante) no suporte universal. Utilizar a solução de biftalato de potássio (titulado), colocando o eletrodo de pH dentro do bêquer com a solução (pHmetro previamente calibrado conforme instrução do fabricante), agitar com agitador magnético e gotejar a solução de hidróxido de sódio 0,05 M contida em uma bureta de 50 mL até o pH 8,3. Registrar o volume gasto na titulação. Recomenda-se realizar a padronização em triplicata.

Cálculo do fator de correção do hidróxido de sódio 0,05 M (f):

$$f = \frac{P}{0,2042 \times V \times M}$$

onde,

P: quantidade de biftalato de potássio usado na titulação em gramas (0,25 g);
V: volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mililitros (mL);
M: molaridade da solução de hidróxido de sódio (0,05 M).

Determinação da acidez livre

Preparar uma bureta de 50 ml com solução de hidróxido de sódio 0,05 M (titulante) no suporte universal.

Pesar 10,0 g de mel em um béquer de 250 mL (anotar todos as casas depois da vírgula) e dissolver com 75 mL de água destilada descarbonatada (Titulado). Colocar o eletrodo do pH, iniciar a agitação com barra magnética e verificar a leitura do pH.

Iniciar a titulação dispensando gota a gota da solução de hidróxido de sódio 0,05 M. A titulação deve ser interrompida quando o pH for igual a 8,5. Anotar o volume gasto na bureta (V_{NaOH}).

Em seguida, realizar a titulação do branco com a solução de hidróxido de sódio 0,05 M (titulante) e 75 mL de água destilada descarbonatada (titulado) até pH 8,5 e anotar o volume gasto (V_B). Calcular a acidez livre utilizando a Equação 3.

Cálculo e Expressão de Resultados

$$f = \frac{(V_{\text{NaOH}} - V_B) \times 50 \times f}{m}$$

onde,

V_{NaOH} : volume gasto de NaOH na bureta para neutralizar a solução de mel, em mililitros (mL);

V_B : volume gasto de NaOH na bureta com o branco, em mililitros (mL)

50: diluição da amostra de mel.

F: fator de correção de NaOH a 0,05 M

m: peso da amostra de mel em gramas (g).

O resultado é expresso em miliequivalente de NaOH/kg de mel.

Determinação de Teor de Hidroximetilfurfural (HMF)

Esta metodologia é aplicada para determinar a concentração de Hidroximetilfurfural (HMF) presente em amostras de mel por meio da técnica de espectrofotometria.

Equipamentos e Materiais

- Becker de 250 ml
- Espátula metálica
- Erlenmeyer de 250 ml
- Cubeta de Quartzo 1 cm
- Papel de filtro faixa preta, n° 9
- Balão volumétrico de 50 ml
- Tubo de ensaio acima de 15 ml
- Funil de vidro
- Funil de vidro
- Bastão de vidro
- pipetas volumétricas de 0,5 ml
- pipetas volumétricas de 5 ml
- proveta de 50 ml
- Espectrofotômetro UV/VIS
- Balança analítica
- Vortex

Preparação de Reagentes

Solução Carrez I – Dissolva 15 g de ferrocianeto de potássio - $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ em água e complete para 100 mL.

Solução Carrez II – Dissolva 30 g de acetato de zinco – $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ em água e complete para 100 mL.

Solução de bissulfito de sódio - $NaHSO_3$ a 0,2% – Dissolva 0,20 g de bissulfito de sódio em água e dilua a 100 mL. Obs: Caso seja necessário realizar diluição, a 1+1 com a solução de referência.

DICA 1: Caso seja necessário realizar diluição para nova leitura de absorbância solução de referência, fazer uma diluição da solução de bissulfito de sódio a 0,2% de 1:1. Ou preparar uma nova solução de 0,1%, dissolvendo 0,10 g de bissulfito de sódio em água e dilua a 100 mL.

Procedimentos

Ligue e ajuste o espectrofotômetro, para os comprimentos de ondas de 284 e 336 nm.

Pesar 5 g de mel (anotar todas as casas após a vírgula) em um bêquer de 50 ml e diluir com 25 ml de água. Transferir a solução para um balão volumétrico de 50 ml (não completar o menisco, apenas reservar).

Adicionar ao balão 0,5 ml de solução de Carrez I e misturar levemente. Em seguida adicionar 0,5 ml de solução de Carrez II e misturar. Caso haja formação de espuma que atrapalhe a visualização do menisco, adicionar uma pequena gota de álcool para suprimir a espuma. Por fim, complete o volume com água até o menisco. A amostra irá ficar turva.

Filtrar a amostra turva, com auxílio de papel de filtro e funil de vidro, descartando os primeiros 10 ml do filtrado em uma proveta de 50 ml. Em seguida, passe a filtração para o Erlenmeyer e deixe ocorrer até o fim. Descartar o papel de filtro contendo o gel da filtração. Será utilizado apenas o líquido filtrando contido no Erlenmeyer.

Identifique 2 tubos de ensaio, denominados, tubo 1 - amostra e tubo 2 – referência, pipetar em cada um 5 ml da solução de mel filtrada.

No tubo 1 – amostra: No tubo, que já está com 5 ml da solução de mel filtrada, adicionar 5 ml de água e agitar em vórtex por 2 minuto.

No tubo 2 – referência: No tubo, que já está com 5 ml da solução de mel filtrada, adicionar 5 ml de solução de bisulfite de sódio 0,2% e agitar em vortex por 2 minuto.

Transferir o conteúdo do tubo 2 - referência para uma cubeta de quartzo e realizar a leitura como branco, em seguida ler o conteúdo do tubo 1 – amostra, tanto para o comprimento de onda 284 quanto pro 336 nm. Anotar os valores das absorbâncias.

DICA 2: Caso alguma das leituras de absorbâncias esteja maior que 0,6, todas devem ser diluídas. Para tubo 1, diluir a solução (filtrado + água) com um volume calculado de água e para o tubo 2 diluir a solução (filtrado + bisulfite de sódio 0,20%) com um volume calculado de bisulfite de sódio 0,10%, as diluições devem ser realizadas na mesma proporção. Corrigir a absorbância para a diluição.

DICA 3: Exemplo de diluição de 2x.

a) Diluição de 2X: 10 ml da solução (filtrado + água) + 10 ml de água. Realizar a leitura e multiplicar o valor da absorbância por 2.

b) Diluição de 2X: 10 ml da solução (filtrado + bissulfito de sódio 0,20%) + 10 ml de bissulfito de sódio 0,10%. Realizar a leitura e multiplicar o valor da absorbância por 2.

Cálculo e Expressão dos Resultados

$$\frac{(\text{Abs.}284 - \text{Abs.}336) \times 149,7 \times 5}{P} = \text{mg de HMF/kg de mel}$$

onde:

Abs.284 = leitura ao comprimento de onda de 284 nm

Abs.336 = leitura ao comprimento de onda de 336 nm

P = massa da amostra em g

5 = massa nominal da amostra

149,7 = $(126/16830) \times (1000/10) \times (1000/5)$ (para kg)

O resultado é expresso em mg de HMF/kg de mel.

Determinação da Atividade de Diastase em Mel

Esta metodologia é aplicada para determinar atividade das enzimas presentes em amostras de mel, aplicando um substrato (amido) que possa, por meio da técnica de atividade enzimática, ser quebradas pelas enzimas presentes no mel e evidenciando o amido remanescente utilizando solução de iodo e espectrofotômetro.

Equipamentos e Materiais

- Becker de 250 ml
- Becker de 50 ml
- Balões de 1000 ml
- Balões de 500 ml
- Espátula metálica
- Tubo de ensaio
- Estante para tubos
- Provetas de 50 ml
- Barra magnética (peixinho)
- Pipeta de 1ml, 5 ml e 10 ml
- Medidor de pH
- Termômetro
- Cronômetro
- Balança analítica
- Banho Maria
- Agitador magnético
- Espectrofotômetro UV-VIS

Preparação de Reagentes

Solução de amido 2%: Pese, com precisão, 2 g de amido de milho, anidro e solúvel anidro (próprio para a determinação de poder diastásico) e misture com 90 ml de água em um frasco Erlenmeyer de 250 ml. Rapidamente, leve à ebulação, agitando a solução tanto quanto possível com auxílio de uma barra magnética. Reduza o aquecimento e mantenha em ebulação moderada por 3 minutos, cubra, e deixe resfriar até a temperatura ambiente. Transfira para um balão volumétrico de 100 ml e complete o volume com água. Preparar uma nova solução a cada 2 dias.

Solução de iodo (estoque): Dissolva 8,8 g de iodo ressublimado em (30 - 40) mL de água contendo 22 g de iodeto de potássio e dilua para 1000 mL com água e transfira para um frasco ambar. O iodo demora a dissolver, recomenda-se agitar a solução com auxílio de uma barra magnética.

Solução de iodo 0,0007 M: Dissolva 20 g de iodeto de potássio e 5 mL da solução estoque de iodo, preparada anteriormente, em água e dilua para 500 mL. Preparar uma nova solução a cada 2 dias.

Solução-tampão de acetato pH 5,3 (1,59 M): Dissolva 87 g de acetato de sódio em 400 mL de água, adicione cerca de 10,5 mL de ácido acético, transfira para um balão volumétrico de 500 mL e complete o volume com água. Ajuste o pH para 5,3, usando o pHmetro, com acetato de sódio ou ácido acético, se necessário.

DICA 1:

- a) Caso a solução tampão este com pH acima de 5,3, corrigir a solução adicionando gota a gota de ácido acético até atingir o pH 5,3.
- b) Caso a solução tampão este com pH abaixo de 5,3, corrigir adicionando acetato de sódio, no entanto, como ele é um cristal fino poderá atrapalhar na hora do ajuste. Recomenda-se que se faça uma solução de acetato de sódio. Exemplo: solução a 13,04%. Pesar 13,04 g de acetato para 100 ml de água. Corrigir a solução adicionando gota a gota de ácido acético até atingir o pH 5,3.

Solução de cloreto de sódio 0,5 M – Dissolva 2,9 g de cloreto de sódio em água, transfira para um balão volumétrico de 100 mL e complete o volume com água.

Procedimentos

Ligar e ajustar o espectrofotômetro para 660 nm.

Padronização do amido

Após a preparação do amido, a primeira coisa a ser feita é a sua padronização. Pipete 10 ml da solução de iodo 0,0007 M para, pelo menos duas proveta de 50 ml e reserve.

Em um béquer de 250 ml pipetar 10 ml de água, em seguida adicione de 5 ml da solução de amido e misture bem. Pipete 1 mL desta nova solução de amido para a proveta reservada, misturar bem e perceber que ela irá escurecer. Realizar a leitura em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 660 nm, utilizando água como branco.

A absorbância deve ser de 0,760 ($\pm 0,02$), caso ela esteja acima deste valor, será necessário acrescentar água a proveta para que dilua a mistura e seja possível obter a absorbância necessária ($0,760 \pm 0,02$). Repita a padronização a cada nova preparação da solução de amido.

DICA 1: Realizar as diluições de 1 em 1 ml. Prepare uma nova proveta contendo 10 ml de solução de iodo 0,0007 M e 1 ml de água, em seguida, acrescente 1 ml da solução diluída de amido e realize a leitura. Se a leitura ainda ficou acima de $0,760 \pm 0,02$ realizar uma nova diluição, desta vez adicionando a uma nova proveta 2 ml de água e assim

Preparação da Amostra

Em um balão volumétrico de 50 ml, pipetar 3 ml de solução cloreto de sódio 0,5 M e reservar.

Pese cerca de 10 g de mel e dilua com 20 ml de água em bêquer de 50 ml, adicione 5 ml de tampão acetato de sódio e transfira para balão volumétrico que já contém 3 ml de solução cloreto de sódio 0,5 M: Complete o menisco. É importante que o mel seja tamponado antes da adição da solução de cloreto de sódio.

Reação Enzimática

Pipetar 10 ml da solução de iodo para uma proveta de 50 ml, o volume de água estabelecido na padronização e reserve próximo ao equipamento banho de água a 40°C, preparar pelo menos 2 provetas.

Em um tubo de ensaio, pipetar 10 mL da solução de mel tamponada e coloque em banho de água a 40°C (± 1). Preparar o cronometro.

Imediatamente ao pipetar 5 mL da solução de amido dentro do tubo de ensaio (já contendo 10 mL da solução de mel tamponada) que está dentro do banho de água a 40C° (± 1), liberar o cronometro. Agitar a amostra a cada 5 minutos.

Ao completar 15 minutos, imediatamente retirar uma alíquota de 1ml da reação do tubo e adicionar a proveta reservada. Realizar a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 660 nm.

1) Caso a coloração da proveta fique clara e com absorbância de 0,235, pode interromper a análise pois a enzima foi capaz de hidrolisar todo amido dentro de 15 minutos.

2) Caso a coloração esteja escura com absorbância de 0,235, mesmo com a diluição estabelecida na padronização, significa que a enzima ainda não foi capaz de hidrolisar todo amido. Deixar a reação acontecer por mais 15 minutos.

Cálculo e expressão de Resultado

Dividir 300 pelo tempo em minutos (tx) para obter a atividade diastásica (AD).

$$AD = \frac{300}{tx}$$

O resultado é expresso em unidades de Gothe por grama de mel.



Determinação de Açúcares Redutores e Sacarose Aparente em Mel

Este método é aplicável na determinação de açúcares redutores em mel e baseia-se no método modificado de Lane e Eynon. Açúcares redutores são aqueles que reduzem o reagente de Fehling sob condições específicas. O método é titulométrico, de uma solução de Fehling no seu ponto de ebulição, contra uma solução de açúcares redutores usando azul de metileno como indicador (ABNT, 2020).

Equipamentos e Materiais

- Buretas de 10 mL e 25 mL
- Suporte universal com garra para bureta (mufa)
- Frasco de Erlenmeyer ou balão de fundo chato de 250 mL
- Béqueres de 50 mL e 100 mL
- Balões volumétricos de 100 mL, 250 mL, 500 mL e 1 000 mL
- Funil de vidro
- Pipetas volumétricas de 5 mL, 10 mL e 50 mL
- Papel de filtro qualitativo
- Papel indicador de pH universal
- Espátula de metal
- Vidro relógio
- Barra magnética
- Balança analítica
- Agitador magnético com aquecimento
- Banho-maria

Preparação de Reagentes

Solução Fehling A: Pesar 69,28 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_{4 \cdot 5}\text{H}_2\text{O}$) e dissolver em água. Transferir para um balão de 1000 ml e completar para 1000 ml. Armazenar por um dia antes do uso.

Solução Fehling B: Pesar 346 g de tartarato duplo de sódio e potássio - K Na ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). 4 H₂O e 100 g de hidróxido de sódio NaOH e dissolver em água. Transferir para um balão de 1000 ml e completar para 1000 ml. Filtrar em papel de filtro qualitativo.

Solução azul de metileno 0,2%: pesar 2 g de $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$ e dissolver em água. Transferir para um balão de 1000 ml e completar para 1000 ml.

Solução de hidróxido de sódio 5M: Pesar 200,0 g NaOH em pastilhas e dissolver em água. Deixar esfriar e transferir para um balão de 1000 ml e completar para 1000 ml.

Solução de hidróxido de sódio 40%: Pesar 40,0 g NaOH em pastilhas e dissolver em água. Deixar esfriar e transferir para um balão de 100 ml e completar para 100 ml.

Ácido Clorídrico 5M: Acrescentar em um balão volumétrico de 100 ml, 40ml de água destilada, em seguida, preparar um balão de gelo e colocar o balão volumétrico dentro. Pipetar vagarosamente 41,43 ml de ácido clorídrico para o balão volumétrico e complete com água destilada até o menisco.

Procedimentos - Açúcares Redutores

Preparação da amostra

Pesar 2,5 g de mel (anotar todas as casas depois da vírgula) em béquer de 100 ml e diluir com 50 ml de água, em seguida transferir para um balão de 250 ml e Em seguida pipetar 50 ml da solução para balão volumétrico de 100 ml e completar o menisco. Colocar a solução na bureta de 50 ml (solução titulante).

Titulação

Adicionar em um Erlenmeyer de 250 ml 5 ml de fehling A, 5 ml de fehling B e 10 ml água destilada.

Em seguida colocar o Erlenmeyer em uma chapa aquecedora até a fervura. OBS: Lembrando que neste momento o sistema de titulação deve estar montado, ou seja, bureta cheia e ponteira posicionada acima da boca do Erlenmeyer que está fervendo.

Após iniciar a fervura da solução reagente (azul), dispensar 5 ml da solução titulante gota a gota contida na bureta e aguardar, aproximadamente, 10 segundos.

Em seguida, adicionar 1 ml do indicador azul de metileno ao Erlenmeyer. E continuar gotejando a solução titulante até a solução reagente (azul) atingir o ponto de viragem vermelho tijolo, aparecimento de precipitado vermelho tijolo e líquido transparente.

Lembrando que esta parte deve acontecer dentro de 3 minutos.

Após a viragem anotar o volume gasto da solução titulante contida na bureta.

Procedimentos - Sacarose Aparente

Preparação da amostra e hidrolise ácida

Ligar o banho maria a 65°C.

Pipetar 50 ml da primeira solução de mel preparada anteriormente para um Erlenmeyer de 250ml e adicionar 25 ml de água destilada, tampar com vidro relógio

Levar o Erlenmeyer para o banho a 65°C por 20 minutos. Em seguida, retirar do banho, pipetar 5 ml de solução de ácido clorídrico 5M, agitar e esperar esfriar a temperatura ambiente.

Neutralização da amostra

Transferir o conteúdo para um béquer de 250ml e neutralizar com solução de hidróxido de sódio 5M de um em um ml, sempre entre cada ml adicionado verificar o pH com papel indicador de pH. Parar de neutralizar quando atingir pH 7.

Em seguida transferir a solução neutralizada para um balão de 100 ml e completar o menisco com água. Esta será a solução titulante.

Titulação

Adicionar em um Erlenmeyer de 250 ml 5 ml de fehling A, 5 ml de fehling B e 10 ml água destilada.

Em seguida colocar o Erlenmeyer em uma chapa aquecedora até a fervura. OBS: Lembrando que neste momento o sistema de titulação deve estar montado, ou seja, bureta cheia e ponteira posicionada acima da boca do Erlenmeyer que está fervendo.

Após iniciar a fervura da solução reagente (azul), dispensar 5 ml da solução titulante gota a gota contida na bureta e aguardar, aproximadamente, 10 segundos.

Em seguida, adicionar 1 ml do indicador azul de metileno ao Erlenmeyer. E continuar gotejando a solução titulante até a solução reagente (azul) atingir o ponto de viragem vermelho tijolo, aparecimento de precipitado vermelho tijolo e líquido transparente.

Lembrando que esta parte deve acontecer dentro de 3 minutos.

Após a viragem anotar o volume gasto da solução titulante contida na bureta.

Cálculo e Expressão de Resultado Açúcares Redutores

$$\text{Aç. red.} = \frac{2 \times 1000}{P \times V}$$

onde,

P é a massa de amostra em gramas (g)

V é o volume gasto da solução titulante em ml.

$$\begin{array}{c} \text{1º fórmula} \\ \boxed{\text{Aç. totais} = \frac{2 \times 1000}{P \times V}} \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} \text{2º fórmula} \\ \boxed{\text{Sac. ap.} = (\text{Aç totais} - \text{Aç. redutores}) \times 0,95} \end{array}$$

onde,

P é a massa de amostra em gramas (g)
V é o volume gasto da solução titulante em ml.
0,95 fator de hidratação da sacarose.

Determinação da Reação de Lugol em Mel

A solução de lugol na presença de amido e açúcar comercial escurece a solução analisada, podendo ficar roxo, marrom, marrom avermelhado e até azul, o que evidenciando possível falsificação ou adulteração do mel. Caso a amostra seja puramente mel após a adição da solução de lugol não haverá mudança, permanecendo da mesma cor do mel.

Equipamentos e Materiais

- Becker de 50 ml
- Espátula metálica
- Pipeta de graduada
- Bastão de vidro
- Balança analítica

Preparação e Reagente

Solução de iodo (Lugol): pesar 8,8 g de iodo ressublimado (metálico; I_2) e 22 g de iodeto de potássio (KI) dissolver em água. Transferir para um balão de 1000 ml e completar para 1000 ml.

Procedimento

Pesar 10 g de mel em Becker de 50 ml e diluir 10 ml de água destilada, pipetar 0,5 ml de solução de iodo.

Expressão de Resultado

Na presença de açúcar comercial solução se tornará ficará colorida de marrom-avermelhada a azul. Faça a mesma prova para um mel puro para comparação, que não deve alterar a cor.

Determinação de Reação de Lund em Mel

A reação de Lund é aplicável em amostra de mel e indica a presença de albuminoides. Sua ausência indica fraude (IAL, 2008).

Equipamento e Materiais

- Espátula metálica
- Proveta de 50 mL com tampa
- Béquer de 250 mL,
- balão volumétrico de 100 ml
- Pipeta volumétrica de 5 mL,
- Funil pequeno
- Bastão de vidro
- Balança analítica

Preparação de Reagentes

Solução de ácido tânico 2%: Pesar 2,0 g de ácido tânico dissolver de água e transferir para um balão volumétrico de 100 ml e completar para 100 ml.

Procedimento

Pesar 2 g de mel em Becker de 50 ml e diluir com 20 ml de água destilada. Transferir a solução para uma proveta de 50 ml.

Adicionar 5 ml de solução de ácido tânico 2%. Homogeneizar a amostra e completar o volume para 40 ml com água destilada e tampar.

Deixar em repouso por 24 horas.

Na presença de mel, formará um precipitado no fundo da proveta no intervalo de 0,6 a 3,0 ml.

Na presença de mel adulterado, não haverá formação de precipitado ou excederá o volume máximo do referido intervalo.

Expressão de Resultados

DICA 1: Algumas provetas possuem graduação iniciando em 5 ou 10 ml, o que dificulta a visualização na faixa de 0,6 ml a 3 ml. Fazer uma tabela de volume x altura utilizando uma régua. Em uma proveta de 50 ml, pipetar um volume de água entre 0,6 ml e 3 ml e medir a altura na proveta com auxílio de uma régua (pipetar e medir cada volume). Realizar a comparação após a formação do precipitado.

Intervalo de 0,6 a 3 ml. 

Bibliografia Consultada

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-1. Apicultura – mel. Parte 1: Preparo de amostra. Rio de Janeiro: ABNT, 2009

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-2. Apicultura – mel. Parte 2: Determinação da umidade pelo método refratométrico. Rio de Janeiro: ABNT, 2020.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-3. Apicultura – mel. Parte 3: Determinação da cinzas. Rio de Janeiro: ABNT, 2009.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-6. Apicultura – mel. Parte 6: Determinação de acidez livre. Rio de Janeiro: ABNT, 2020.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-7. Apicultura – mel. Parte 7: Determinação de atividade diastásica. Rio de Janeiro: ABNT, 2020.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-9. Apicultura – mel. Parte 9: Determinação de HMF espectrofotometria. Rio de Janeiro: ABNT, 2020

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15714-10. Apicultura – mel. Parte 106: Determinação de determinação de açúcares redutores e sacarose aparente. Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa N° 11, de 20 de outubro de 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Análise melissopalinologica



Análise Melissopalinologica

Lidia Maria Ruv Carelli Barreto

Melissopalinologia:

É a parte da Palinologia que estuda os grãos de pólen em sedimentos de amostras de mel produzidos pelas abelhas, permitindo identificar a origem geográfica do produto.

Alguns autores preconizam que tal analise permite também se identificar a possivel origem botânica do mel. Porem estudos melissoalinologicos devem ser especifico, ou seja, regionais, devendo ser estudado caso a caso (Barth,1989).

Muitas vezes a presença dos grãos de pólen nos favo de méis no interior das colmeias podem se tratar de apenas uma simples “contaminação cruzada”, provocada pelas proprias abelhas que quando retornam do campo para colmeia com grãos pólen grudados em seus pelos ou em suas curbiculas, em contato com a ventilação interna da colmeia em período de desidratação de mel, ocorrem grande movimentação de ar interno na colméia, levando polen para os alveolos e adicionando informações sobre conteudo polenico da amostra de mel, meramente accidental, em caso de coleta abundante e exclusiva de pólen em flores fornecedora somente de pólen e não nectar isso é muito tipico de ocorrer, mas pouco considerado pelos fiscais que solicitam a analise melissopalinologica como comprovação da origem floral do mel.

Estudos de Barreto 1999, verificou que somente a analise melissopalinologica do mel não é um indicativo seguro para compravação da origem floral do mel, pois ao realizar a a pesquisa “Levantamento florístico e pólínico e estudo melissopalinologico durante a pricipal safra da Microrregião Homogênea da Zona da Mata de Viçosa-MG”, pode concluir que:

- A relação existente entre a quantidade de pólen encontra danos coletores de pólen e os grão de pólen encontrado nas amostras de méis é altamente significativa o que evidencia que as análises melissopalinologicas refletem mais a contaminação pelo pólen coletado que a origem botânica do néctar uma vez que alguns desses pólen foram de plantas que não forneceram néctar.
- Nos estudos para caracterização de méis de uma dada região não deve ser utilizado parâmetros isolados para obtenção de dados referentes a origem botânica do mel. Para maior credibilidade é fundamental dispor de diferentes métodos de avaliação, não devendo principalmente excluir os métodos que envolvam os marcadores químicos.

- As fontes polinicas de importancia apicola em uma dada área de estudo são mais bem estimadas pelo sistema de coletores de pólen
- A origem botânica do mel da região foi identificada como de *Hyptis suaveolens* a planta que mais contribuiu com o fluxo nectarifero apresentando na analise melissopalinologica o indice de pólen isolado, ou seja que menos contribuiu com a presenca de pólen na analises palinologica, em contra partida o pólen dominante foi o de *Mabea fistulifera* a planta principal fornecedora de pólen no período da safra observando-se que durante a principal safra a coleta por *Apis mellifera* foi exclusivamente de pólen e ausência total de coleta de néctar.



Mabea fistulifera

X



Hyptis suaveolens

Plantas estudadas na principal safra de mel por Barreto 1999



Quadro 4 - Distribuição em classes de freqüências (diárias, mensais e da safra) dos grãos de pólen das comunidades botânicas retidas no coletor de pólen

Taxa	Abril			Maio			Junho					Safra			
	16	23	28	Tot.	6	13	20	Tot.	4	8	18	22	29	Tot.	
<i>Triumfetta semitriloba</i>	PIO	PIO	PIO	PIO	PI	PIO	PIO	PIO	-	PI	PIO	PI	-	PIO	PIO
Asteraceae	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	-	PA	PA	PI	PA	PA	PA
<i>Eucalyptus</i> sp.	PI	PIO	PI	PI	PI	PIO	PIO	PIO	PI	PI	PIO	PI	PIO	PIO	PIO
Melastomataceae	-	PI	PIO	PIO	PI	PIO	PIO	PIO	-	PIO	-	-	-	PIO	PIO
<i>Alchornea</i> sp.	-	PI	PIO	PIO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PIO	PIO
<i>Mimosa veloziana</i>	PIO	PIO	PIO	PIO	-	-	-	-	PIO	-	-	-	-	-	PIO
Rubiaceae	PIO	PIO	PIO	PIO	-	-	-	-	PIO	-	-	-	-	-	PIO
<i>Begonia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PIO
<i>Brachiaria</i> sp.	PA	PA	PI	PA	PIO	PIO	PI	PIO	PI	PI	-	PD	PI	PI	PI
<i>Solanum</i> sp.	PIO	PIO	PIO	PIO	-	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO
<i>Thunbergia</i> sp.	-	PI	PI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Croton</i> sp.	PI	PI	PI	PI	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIQ	PIO	PIO	PIO
<i>Hyptis</i> sp.	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO	-	-	PIO	PIO	PIO	PIO
<i>Lantana</i> sp.	PIO	-	PIO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mimosa</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Carpobrotus edulis</i> sp.	PI	PI	PI	PI	PIO	PIO	PI	PIO	-	-	-	-	-	-	PIO
<i>Mabea fistulifera</i>	PA	PA	PA	PA	PD	PA	PD	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA
<i>Sida</i> sp.	PA	PA	PI	PI	PI	PA	PA	PA	PI	PI	PI	PI	PI	PI	PI
<i>Cecropia</i>	PIO	-	PI	PI	PI	PA	PI	PD	PI	PI	PA	PA	PA	PA	PA
<i>Cyperus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	PI	PA	PI	PI	PI	PI	PI
<i>Sapindaceae</i>	-	-	PIO	-	-	PIO	PIO	-	PIO	-	-	PIO	PIO	PIO	PIO
<i>Vernonia</i> sp.	PIO	PIO	-	PIO	-	PIO	PIO	-	PIO	PI	PIO	PIO	PIO	PIO	PIO

Pólen isolado ocasional (PIO) = até 3%; pólen isolado (PI) = 3-15%; pólen acessório (PA) = 15-44%; pólen dominante (PD) = a partir de 45%; e (-) = ausente.

Resultados das Analises Melissopalinologicas d estudoado por Barreto
1999

Metodologias para Analise Melissopalinologica

1-Método Direto:

Consiste em realizar uma analise do conteudo polinico nas amostra de mel sem tratamento de acetolização das celulas polinicas.

Método Passo a Passo:

Em um Tubo Falcon coloque:

10 mL agua glicerinada aquosa-50%

10 mL de mel

20mL agua destilada

Homogeneizado invertendo varias vezes o tubo 5 min

Centrifugação 5min

Descarte sobrenadante

Preencher 10 mL agua glicerinada, 20 agua destilada

Centrifugação 5min

Descarte sobrenadante

Mater o tubo invertido imediatamente ao descarte

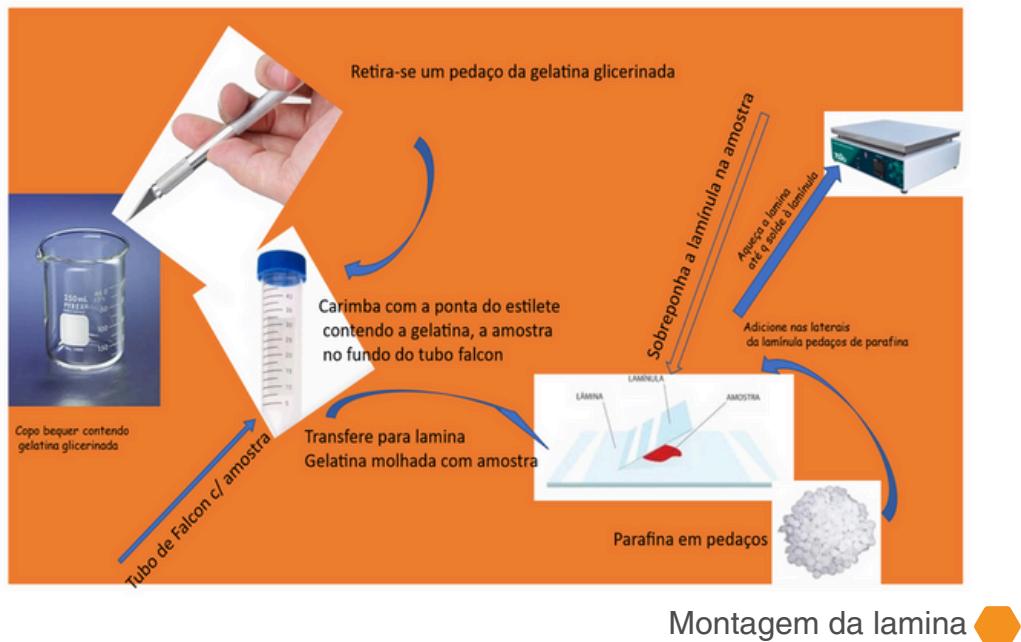
Descansar por 30 min a 12h o tubo invertido sobre papel filtro

Metodologia 1



Materiais e equipamentos necessários

Preparo da Lâmina



Leitura Microscópica



A microscopia polinica do método direto Resultados das Analises Melissopalinologicas destudado por Barreto 1999

2-Método de Acetólise:

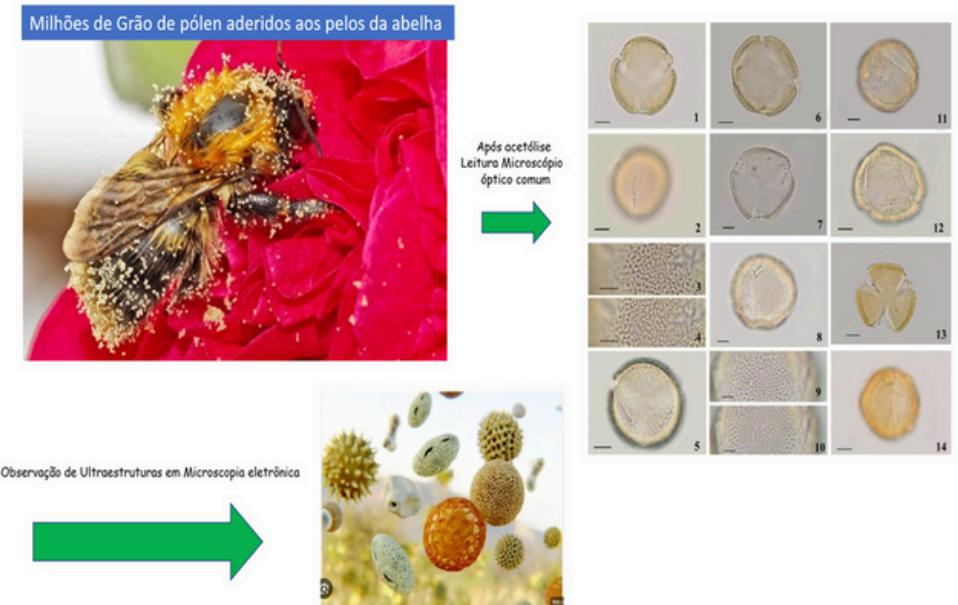
Consiste na submissão das amostras de meios a um tratamento denominado acetólise para remover totalmente o conteúdo interno do pólen e composto orgânico como gorduras, microorganismos, evidenciando exclusivamente a camada mais externa do grão de pólen denominada exina, única resistente ao processo de acetólise. A importância deste processo se fundamenta nas características da estrutura da exina, uma vez que as combinações morfológicas de suas estruturas são únicas e exclusivas para cada espécie polínica, isto permitindo ao observador correr as inúmeras chaves de identificação polínicas e chegar à identificação do material polínico e por conseguinte as plantas presentes na amostra.

Morfologia do grão de pólen



Esquema da estrutura morfológica do grão de pólen (Silvia Schaefer)

Aspectos dos grãos de pólen observados em microscopia óptica comum após acetólise e observação das ultraestruturas dos grãos de pólen em microscopia eletrônica.



diferença na observações do grão de pólen em microscopia óptica comum e microscopio eletronico pólen (Silvia Schaefer)

Método passo a passo:

1. O material deve ser colocado em tubos de centrífuga graduados e com fundo cônico e deve-se acrescentar 10ml ácido acético glacial;
2. Centrifugar o material durante 5 minutos a 2.000rpm;
3. Eliminar o sobrenadante;
4. Preparar a mistura de acetólise que consiste em juntar ácido sulfúrico mais anidrido acético (1:9);
5. Colocar 5ml dessa mistura dentro de cada tubo;
6. Levar os tubos com a mistura, ao banho-maria, durante mais ou menos 2 minutos a 100°C;
7. Centrifugar a mistura ainda quente durante 5 minutos a 2000rpm;
8. Eliminar o sobrenadante;
9. Colocar no tubo 10ml de água destilada mais uma gota de álcool;
10. Centrifugar e eliminar o sobrenadante novamente;
11. Acrescentar nos tubos 5ml de uma mistura de água destilada mais glicerina (1:1) e deixar o material nesta mistura de 30 minutos a 24 horas;
12. Centrifugar, eliminar o sobrenadante e colocar o tubo de boca para baixo sobre papel de filtro;

Montagem das lâminas

- 1) Usando um estilete esterilizado, retirar uma pequena porção de gelatina glicerinada (aproximadamente 2mm de diâmetro);
- 2) Tocar o material depositado no fundo do tubo com a gelatina de modo que algum material fique preso na gelatina;
- 3) Colocar o conjunto em uma lâmina de microscópio. É necessário montar três lâminas para cada material a ser analisado;
- 4) Aquecer a lâmina para a fusão da gelatina com o auxílio de uma placa aquecedora;
- 5) Colocar a lamínula delicadamente sobre o material;
- 6) Colocar novamente a lâmina sobre a placa aquecedora e aplicar parafina derretida em um dos lados da lamínula com o auxílio de um estilete. A parafina, rapidamente, penetrará por capilaridade no espaço entre a lâmina e a lamínula, contornando a preparação de gelatina glicerinada que contam os grãos de pólen;
- 7) Vire as lâminas com a lamínula para baixo sobre um papel de filtro. Enquanto a parafina solidifica, os grãos de pólen depositam-se junto à lamínula, facilitando dessa forma a observação dos grãos de pólen.

A metodologia da Analise Melissopalinologica passo a passo pelo metodo direto e por acetólise poderá ser vista nos links listados em Bibliografia Consulta

Bibliografia Consultada

BARTH,O.M. o polen no mel brasiliero. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ,1989.150 p.

BARRETO, L.M.R.C. “Levantamento floristico e pólínico e estudo melissopalinologico durante a pricipal safra da Microrregião Homogênea da Zona da Mata de Viçosa-MG”, Viçosa-MG:UFV.1999. 74 p.Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Universidade federal de Viçosa, 1999.

PREPARAÇÃO PARA MELISSOPALINOLOGIA – METODO DIRETO
<https://youtu.be/qkyQa3TfAPw?si=7NhS0jVUSAP5Bqg5> (Pagina consultada10/7/24)

PREPARAÇÃO PARA ANALISE MELISSOPALINOLOGIACA – METODO DIRETO
https://youtu.be/ZSTYaAJudpM?si=VA7VXxyuyv0EDe_c (Pagina consultada10/7/24)

Interpretação de resultados das análises de mel



Interpretação de Resultados

Análises de mel

Fabricia Soriani

Implantar um laboratório de análise de mel, por si só já é um grande trabalho e demanda de enorme conhecimento, mas, ainda mais importante é:

- Entender e saber interpretar os resultados obtidos,
- entender o que significa os valores encontrados, se estão dentro da conformidade ou fora,
- Entender as razões daqueles resultados, de forma a proceder as melhorias necessárias para a obtenção de um mel de qualidade, dentro dos padrões de identidade exigidos.

LABORATÓRIO PORQUÊ? É OBRIGATÓRIO? OU NÃO É OBRIGATÓRIO?

Segundo o RIISPOA, o estabelecimento deve dispor de:

- Local, equipamentos e utensílios destinados à realização de ensaios laboratoriais;
- Laboratório adequadamente equipado, caso necessário para a garantia da qualidade e da inocuidade do produto.

Segundo a Portaria 795:

Art. 24. O estabelecimento deve dispor de laboratório próprio devidamente equipado, ou terceirizado, para a realização das análises previstas em seus programas de autocontrole. Parágrafo único. É obrigatória a realização da análise de umidade do mel no próprio estabelecimento, sendo facultado o uso de laboratório terceirizado para as demais análises estabelecidas.

Análise de autocontrole - análise efetuada pelo estabelecimento para controle de processo e monitoramento da conformidade das matérias-primas, dos ingredientes, dos insumos e dos produtos;

Estrutura e instalações de um laboratório:

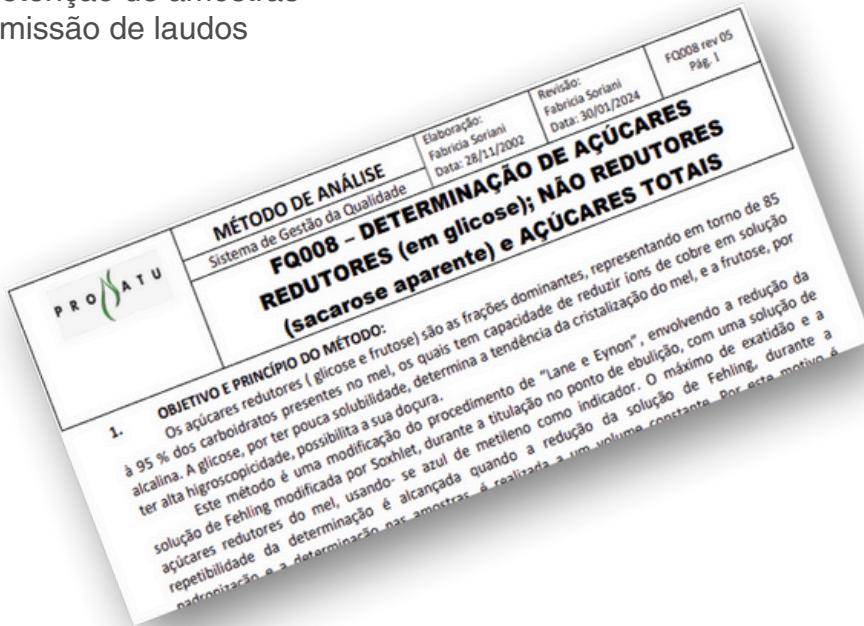
Instalações: tamanho adequado, paredes lisas, bancadas, armários, mesas, gavetas, revestimentos resistentes, espaço para circulação, fluxo, iluminação, ventilação, tomadas, pia, água potável, armazenamento de vidrarias, armazenamento de reagentes, lava-olhos, extintores, etc.

Equipamentos: destilador de água, capela de exaustão, mufla, estufa, microscópio, espectrofotômetro UV-visível; pHmetro; banho maria, refratômetro, balança de precisão, geladeira, colorímetro, bico de bunsen, manta Aquecedora, analisador de cloro, analisador de cor da água, turbidímetro.

Vidrarias: Becker, erlenmeyer, proveta, pipeta, funil, balão volumétrico, tubo de ensaio, suporte universal, suportes extras.

Manuais de bancada e outros documentos

- Escopo (quais análises /amostra o laboratório pretende realizar)
- Manual de Boas Práticas Laboratoriais
- Controle de estoque de vidrarias e reagentes (aquisição)
- Equipamentos (modo de usar, manutenção, limpeza, histórico)
- Manual de métodos de análises
- Manual das especificações
- Identificação das amostras
- Registros das análises realizadas e dos resultados encontrados
- Descarte de reagentes
- Retenção de amostras
- Emissão de laudos



Protocolo de análise de mel (Fabricia Soriani-Autora do capítulo)

Como é que se interpreta os resultados?

É preciso se basear em LIMITES mínimos ou máximos que existem nas normas, leis, decretos, portarias, instruções, regulamentos técnicos.

RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

RTIQ do mel - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel
Normas higiênico sanitárias e Tecnológicas para os estabelecimentos que elaborem produtos de abelhas e seus derivados.

Entre outras, mas vamos começar falando a principal norma de qualidade, o RTIQ do mel:

- Instrução Normativa n.11 20/10/200
- RTIQ – Regulamento Técnico de Identidade e qualidade do mel

Em destaque, os requisitos de qualidade são:



Ilustrativo de amostras de méis (Fonte: Autora) 

- **Sensoriais:** Cor, sabor, aroma e consistência
- **Maturidade:** Umidade, açúcares redutores, sacarose
- **Pureza:** Sólidos insolúveis, minerais (cinzas) e pólen
- **Deterioração:** Fermentação, acidez, atividade diastásica e Hidroximetilfurfural.

E os indicadores de fraudes, tem?

No RTIQ não tem, mas vamos ver isso mais tarde. Vamos falar sobre cada uma dessas análises, começando pelas análises sensoriais: Características percebidas pelos sentidos humanos: visão, olfato e paladar. Esses atributos sensoriais dependem de percepção e as vezes as impressões são simultâneas.

Aspecto / Consistência: variável de acordo com o estado físico em que o mel se apresenta. O mel deve ter uma aparência límpida e brilhante, sem presença de partículas ou sedimentos visíveis. O mel deve ter uma textura homogênea, podendo ser mais fluido ou mais viscoso dependendo do tipo e da origem. A cristalização é uma característica natural do mel, mas o mel não deve apresentar granulação excessiva ou irregular.

Nessa análise, é recomendável fazer uma descrição:

- Observar presença de materiais estranhos: partículas suspensas, sedimentadas ou dispersas; sedimento; espuma, presença de fragmentos de abelhas ou insetos.
- forma física: líquido, fluido, semi-sólido, sólido, semi-cristalizado, cristalizado, heterogêneo, homogêneo, misto, com um ou mais fases;
- de acordo com a transparência: límpido, turvo, leve turvo.
- de acordo com a consistência: firme, denso, rígido, mole, fluido, dura, maleável.
- Outros: em favos, com pedaços de favos, cremoso.

Interpretação: Se houver partículas ou sedimentos visíveis, isso pode indicar a presença de impurezas ou que o mel não foi filtrado adequadamente. A textura deve ser homogênea e adequada ao tipo de mel. O mel pode cristalizar naturalmente com o tempo, mas uma cristalização excessiva ou irregular pode indicar que o mel foi armazenado de forma inadequada ou adulterado. A determinação do aspecto também é de grande valor, já que o mel cristalizado precisará passar por descristalização para ser beneficiado, o que significa que o mel deverá ser aquecido, enquanto o mel líquido pode ser processado com menos etapas de forma mais rápida incorrendo em menos riscos ao produto.

É também durante essa avaliação que é possível observar se a amostra de mel apresentar qualquer Indícios de fermentação: cheiro forte e característico, diferente do odor suave, pode apresentar espuma e apresentar gosto ácido ou azedo.

Cristalização: A cristalização é um processo natural que pode ocorrer ao longo do tempo em todo mel puro, desde que haja condições de temperatura favorável e depende da relação glicose/frutose/água. A cristalização do mel ocorre mais rápido quando o teor de glicose é mais elevado, pois é menos solúvel em água do que a frutose e é influenciada pela espécie da abelha, origem botânica, temperatura ambiente, sujidades, umidade.

Como Evitar a Cristalização?

Na colheita: apresentados no vídeo, evitar contaminação. Partículas suspensas no mel, como sujidades, grãos de areia, grãos de pólen, bolhas de ar, partículas de cera, influenciam no processo de cristalização, atuando como bases para a formação dos cristais, sendo chamados de núcleos de cristalização.

Origem floral. Ex. nabo forrageiro, cipo-úva: rápido / Laranjeira: demora mais.

No processamento: temperaturas de armazenamento e processamento: entre 12° e 15° favorece a formação de cristais grosseiros; entre 20° e 25°C há tendência de formar cristais mais finos; processo de descristalização: aquecimento controlado em torno de 40°C

Sabor e aroma: deve ter sabor e aroma característicos de acordo com a sua origem. O sabor do mel deve ser doce e característico da flor de origem. O gosto deve ser limpo e sem sabores estranhos ou amargos. O mel deve apresentar um odor característico, que pode variar de acordo com a origem floral. O aroma deve ser agradável e não deve apresentar odores estranhos ou desagradáveis. Aspectos organolépticos são bastante relativos e podem variar segundo o analista, porém, esta análise é muito significativa pois pode indicar alterações bastante importantes no mel, por exemplo, é possível identificar odor ou sabor desagradáveis, como cheiro de tinta, de agrotóxicos ou produtos de limpeza, que podem significar contaminação accidental ou manejo inadequado durante a produção de campo, ou até mesmo higienização inadequada das embalagens. Outro odor bastante fácil de detectar é o cheiro ácido, que pode indicar indícios de fermentação, ou sabor altamente amargo, que pode indicar uma florada desagradável. Outro aspecto importante que pode ser detectado com essa análise são as floradas, pois, várias floradas tem cheiro e sabor bastante característicos e a determinação correta do odor e sabor pode ajudar na sua confirmação.

Nos resultados, é indicado usar termos comuns de designação de sabores e aromas: Doce, salgado, azedo, ácido, picante, desagradável, etc.

Podendo ser utilizado termos de aproximação: Levemente, suave, forte, intenso, etc.

Aromas floral, cítrico, azedo, alcoólico, herbal, ácido, picante, etc. podendo ser utilizado termos de aproximação: Agradável, leve, suave, fraco, forte, repugnante, fétido, etc.

Interpretação: O sabor deve ser doce e condizer com a origem floral. Se o mel tem um gosto amargo, ácido ou qualquer outro sabor desagradável, isso pode sugerir problemas como fermentação ou contaminação. O aroma pode variar de acordo com a origem floral, mas qualquer odor fora do esperado pode indicar fermentação ou adulteração.

Cor: é variável de quase incolor a pardo-escura. A cor pode variar dependendo da fonte floral, podendo ser de amarela clara a âmbar escuro. A cor é um parâmetros visual, para tanto basta olhar par o mel e designar sua cor, podendo descrever de várias formas como: branco, âmbar extra claro, âmbar claro, âmbar, âmbar escuro, avermelhado, amarelado, alaranjado, marrom, inclusive, é possível fazer uma comparação visual com amostras previamente analisadas as quais já tem suas designações de cor. Alguns mercado compradores fazem exigências com relação a cor exata que desejam comprar, assim, o cliente informa qual é a numeração máxima de cor que deseja, dessa forma, se faz necessário fazer as determinações colorimétricas exatas segundo metodologia para enviar o mel a este cliente.

Descrição visual par expressar os resultados:

Abaixo de 8	Branco d'água
De 8 a 17	Extra branco
De 17 a 34	Branco
De 34 a 50	Extra âmbar claro
De 50 a 85	Âmbar claro
De 85 a 114	Âmbar
Acima de 114	Âmbar escuro

para designação de cor 

“QUASE INCOLOR” / BRANCO / ÂMBAR MUITO CLARO / ÂMBAR CLARO / ÂMBAR / ÂMBAR ESCURO / ÂMBAR MUITO ESCURO / MARROM / AVERMELHADO / ESVERDEADO / AMARELADO / ETC.

Podendo ser utilizado termos de aproximação como: claro, escuro, leve, forte, amarelado, esverdeado, avermelhado. No caso de determinação por aparelhos, expressar os resultados por numeração e utilizar a tabela indicativa.

Interpretação: A cor do mel varia com a fonte floral e não deve ser usada isoladamente para determinar a qualidade.

Referente aos aspectos físico-químicos

As determinações avaliam a composição do mel e as substâncias que podem indicar sua qualidade, sendo interpretadas como análises de maturidade, pureza e deterioração. Vamos iniciar entendendo um pouco sobre maturidade:

O que é “Maturidade”?

MATURAÇÃO é transformação do néctar em mel que o corre basicamente por duas ações: desidratação do néctar (perda de água), ou seja, perda de umidade e processo químico, sob ação enzimática de transformação dos açúcares. O mel deve estar devidamente maduro para ser considerado de qualidade e estar apto a ser colhido e consumido. As análises que indicam o grau de maturação do mel são: Açúcares redutores, Umidade e Sacarose aparente.

Umidade: O teor de umidade do mel não deve exceder 20% (v/v). O conteúdo de água no mel é, sem dúvida, uma das características mais significante, podendo influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, palatabilidade, conservação e principalmente no tocante a degradação microbiológica. Segundo a Portaria 795 - Art. 24. ... É obrigatória a realização da análise de umidade do mel no próprio estabelecimento, sendo facultado o uso de laboratório terceirizado para as demais análises estabelecidas. Art. 74 Durante a recepção do mel previamente extraído, ou após a extração do mel, o estabelecimento deverá realizar a avaliação do teor de umidade, baseado em plano de amostragem validado por metodologia internacionalmente reconhecida.

Interpretação: Um valor mais alto pode indicar diluição ou fermentação. A umidade elevada pode comprometer a qualidade do mel e favorecer a proliferação de microrganismos e a fermentação. A fermentação é um processo bioquímico que transforma os açúcares em álcool e gás carbônico. O álcool na presença de oxigênio é convertido em ácido acético, por isso aumenta também a acidez.

Como Evitar Umidade Alta no Mel?

Na colheita: apresentados no vídeo, cuidados higiênicos e comportamentais: colher somente mel maduro, a recomendação é colher com mínimo de 90% operculado e evitar colheita em dias chuvosos, umidade ambiente alta.

No processamento: cuidado com a umidade ambiente, já que o mel é higroscópico: No momento do manejo, chuvas, evitar ambiente com muita umidade. No armazenamento, evitar locais muito úmidos, embalagens inadequadas. * Umidade ambiente acima de 60% já compromete a qualidade do mel.

E que tal desumidificar o mel?

Art. 2, XIV - desumidificação: etapa facultativa do beneficiamento, por meio de aquecimento controlado, com binômio tempo x temperatura, para reduzir o teor de umidade do mel, ou de outro produto apícola, recebido dentro dos padrões estabelecidos nos regulamentos técnicos específicos, ou no caso dos produtos das abelhas sem ferrão, quando recebido nos limites do padrão indicado em seu registro;

Art. 85. O uso do desumidificador no estabelecimento é proibido para fins de correção dos valores de umidade, para produtos que se encontrem fora dos padrões definidos pelos respectivos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade.

Açúcares: O mel deve conter uma quantidade mínima de açúcares redutores, geralmente medidos como glicose e frutose e uma quantidade máxima de sacarose, garantindo o equilíbrio natural entre os açúcares. A proporção e a quantidade podem variar de acordo com o tipo de mel, mas deve atender aos limites da norma.

Você sabia que: A relação glicose/frutose está diretamente ligada a tendência da cristalização do mel?

Interpretação: Uma quantidade baixa de açúcares redutores ou uma quantidade muito alta de sacarose pode indicar adulteração com açúcares ou que o mel foi processado de forma inadequada.

O que pode causar alterações dos açúcares?

- Mel verde (não maduro, colhido antes de completar as reações enzimáticas);
- Adulteração – por adição de açúcar comercial no mel que é considerado adulteração.

Um dos aspectos mais relevantes quando se falar em comercialização e consumo de mel é sobre sua pureza. É a pergunta mais recorrente que ouvimos: **Esse mel é puro de verdade?**

Na legislação, “pureza” se refere a ausência de contaminação física e a presença de grão de pólen, o que, em tese, garante que esse “mel é das abelhas de verdade”. As análises indicadas para determinação da pureza do mel são Sólidos Insolúveis, Minerais e Pólen, vamos falar sobre cada uma delas:

Minerais (cinzas): máximo 0,6 g/100 g. / Melato: se tolera até 1,2 g/100g. Cinzas incluem minerais, sais e outros compostos inorgânicos presentes no mel.

Fatores: origem floral, condições ambientais, processamento do mel e manejo. Para evitar altos teores a recomendação é manter os melhores cuidados higiênicos, mas ainda assim, alguns méis apresentam altos teores naturalmente.

Sólidos insolúveis em água: máximo 0,1 g/100 g., Mel prensado: que se tolera até 0,5 g/100 g.,

*Unicamente em produtos acondicionados para sua venda direta ao público.

- Representa cera, grãos de pólen, pedaços de madeira, pedaços de insetos, grãos de areia, etc.
- Para evitar teores acima da legislação, se recomenda executar corretamente as etapas de decantação e filtração.
- A filtração deve ser feita em peneiras / filtros entre 40 e 80 Mesh.

Mesh (peneira)	Abertura in	Abertura mm
18	0,0394	1,00
20	0,0331	0,841
25	0,0278	0,707
30	0,0234	0,595
35	0,0197	0,500
40	0,0165	0,420
45	0,0139	0,354
50	0,0117	0,297
60	0,0098	0,250
70	0,0083	0,210
80	0,0070	0,177
100	0,0059	0,149
120	0,0049	0,125
140	0,0041	0,105
170	0,0035	0,088
200	0,0029	0,074
230	0,0025	0,063
270	0,0021	0,053
325	0,0017	0,044
400	0,0015	0,037

Memorando-Circular nº 16/2018/DIPOA/MAPA/SDA/MAPA
 4.1. Para mitigar o risco de transmissão da infestação pelo besouro Aethina tumida, risco para a sanidade do plantel apícola nacional, é necessário que o mel seja filtrado em malha não superior a 0,42 mm, capaz de reter possíveis ovos de Aethina tumida.

→ Mesh 40 - a abertura é 0,42mm

Tamanho dos Grão de pólen: (variável)
 5µm 25µm 32µm 46µm 61µm

→ Mesh 80 - a abertura é 0,177 mm
 = 177 µm

Portaria 795/2023
 Art. 26. Para o beneficiamento do mel...:
 II - filtro ou peneira, com medidas de 40 (quarenta) a 80 (oitenta) mesh, de material tecnologicamente e sanitariamente adequado;

OU SEJA:

- a abertura deve ser menor do que 0,42mm
- a malha não pode ser maior que 80 mesh (malhas superiores tem abertura menores)

POR TANTO:

A MALHA DEVE TER MESH ENTRE 40 E 80.
 A ABERTURA DEVE SER ENTRE 0,177mm e 0,42mm

Designação de cor 

Presença de Pólen: O mel deve necessariamente apresentar grãos de pólen. A presença de grãos de pólen pode ser usada para verificar a origem floral do mel de forma a garantir sua autenticidade.

Interpretação: A presença de pólen é usada para verificar a autenticidade e a origem floral do mel. A ausência de pólen ou uma quantidade muito baixa pode indicar que o mel foi filtrado excessivamente ou adulterado.

Tão ou mais importante que as análises anteriores, são as avaliações para detectar se o mel está em condições higiênicas ou se apresenta algum indício de deterioração. Quatro análises de grande relevância são indicadas para se determinar o grau de deterioração do mel.

A observação direta da presença de indícios de fermentação já foi discutida juntamente com as análises sensoriais, outros critérios são a Acidez, a diástase e o HMF.

O que é “Deterioração”?

Deterioração é o estado alterado para pior; danificação, decomposição, estrago. O MEL pode sofrer algumas modificações nas suas propriedades físico-químicas, comprometendo sua qualidade, podendo perder sua sanidade ou suas propriedades nutricionais.

Acidez: máxima de 50 mil equivalentes por quilograma, medida como acidez livre.

Interpretação: O mel naturalmente é ácido porque ele contém vários ácidos orgânicos como o ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, lático, málico, piroglutâmico, succínico e glucônico, porém valores elevados podem indicar fermentação ou deterioração. A acidez é um indicativo da qualidade do mel e do seu estado de conservação. Um alto teor de acidez pode indicar fermentação ou adulteração por sacarose.

Atividade diastásica: como mínimo, 8 na escala de Göthe. Os méis com baixo conteúdo enzimático devem ter como mínimo uma atividade diastásica correspondente a 3 na escala de Göthe, sempre que o conteúdo de hidroximetilfurfural não exceda a 15mg/kg.

Interpretação: A diástase (α -amilase) é uma das enzimas presentes no mel, cuja função é digerir a moléculas de amido, estando, possivelmente, envolvida na digestão do pólen. Existe uma perfeita correlação entre a quantidade de pólen no mel e a atividade da diástase. A diástase é muito sensível ao calor, portanto, sua ausência pode ser um indicativo de superaquecimento ou adulterações: o uso de temperatura muito alta durante o beneficiamento; Adulteração por adição de açúcar invertido; Condições de armazenamento inadequadas.

HMF (Hidroximetilfurfural): O teor de HMF no mel não deve exceder 40 mg/kg.

Interpretação: O HMF é um indicador de deterioração térmica e processamento inadequado. Valores altos de HMF indicam que o mel foi submetido a altas temperaturas ou que está deteriorado ou já foi colhido a algum tempo.

HMF: Esta análise é usada como indicador de aquecimento e modificação decorrentes de armazenamento incorreto do mel. É formado pela quebra da frutose em presença de ácido e o aquecimento acelera a velocidade da reação. O HMF ocorre naturalmente no mel e não é uma substância tóxica. Em níveis elevados demonstra a presença de adulteração por açúcar comercial ou aquecimento indevido. As adulterações no mel são feitas com o emprego de xarope de milho, de beterraba e xarope invertido.

O xarope invertido é obtido por hidrólise ácida do xarope de milho e contém teores altos de hidroximetilfurfural (HMF). O mel das abelhas contém pequena quantidade de HMF, mas com o armazenamento prolongado em temperatura ambiente alta e/ou com o superaquecimento, há um aumento no teor de HMF no mel. Assim, a pesquisa deste composto é feita no mel para se verificar a adulteração com açúcar comercial, estocagem inadequada ou se este foi superaquecido. Caso isso ocorra, o mel terá seu valor nutricional alterado. O HMF servirá como um indicador da qualidade do mel, pois quando este é formado, provavelmente, já poderá ter ocorrido perda de algumas enzimas, como por exemplo, a glicose- oxidase. A determinação quantitativa consiste na verificação do HMF, utilizando-se método espectrofotométrico a 284 e 336 nm. O valor de HMF tende a subir com o envelhecimento e com o aquecimento do mel, portanto, caso o mel esteja novo e fresco, a tendência é que o resultado de HMF seja bem baixo, mas, conforme o tempo vai passando, ou conforme se faz necessário o aquecimento do mel, a tendência é que esse HMF aumente. Muitas vezes o apicultor armazena seu mel em barracões onde não existe um controle de temperatura, e, em regiões mais tropicais, com temperaturas médias acima de 30 graus como nordeste, ou mesmo o Sudeste em tempos de verão, esse mel pode ter o HMF muito aumentado. Vários fatores afetam a produção de HMF no mel e outros produtos alimentares. Portanto, determinar como prevenir ou reduzir a formação de HMF continua a ser um desafio.

Curiosidade sobre HMF: encontra-se presente vários alimentos cozidos por ação de calor, é formado via reações de Maillard e nos processos de caramelização, HMF é um bom marcador do tempo e das condições de armazenamento do vinho, café torrado possui entre 300-2900 mg/kg de HMF, o pão: 14,8 mg/kg (5 min) aumenta até 2.024,8 mg/kg (60 min de cozimento); ameixas secas: até 2.200 mg/kg de HMF; Cerveja preta: em torno de 13,3 mg/kg de HMF.

Indicador de Fraude no Mel

O RTIQ-mel estabelece que “o produto não poderá ser adicionado de açúcares e/ou outras substâncias que alterem a sua composição original”. A adulteração de mel por adição de sacarose, seja diretamente no produto final, seja por superalimentação de abelhas, com sacarose hidrolisada, configura fraude ao consumidor conforme Art. 504 do RIISPOA. Quais análises podem servir como indicadores de fraude? O CONJUNTO de várias análises realizadas podem indicar fraude e adulteração; O próprio doseamento de açúcares pode ser um indicativo de adulteração; O teor de HMF também pode indicar adulteração; E existe também as análises de C3 e C4.

Análise de C4, também chamado C13, é aceito internacionalmente Sistema de espectrometria de massa isotópica (LC-IRMS), e por princípio é realizada pelo isolamento a proteína do mel; separação dos açúcares e identificação dos ISÓTOPOS 13C, assim se obtém vários resultados que permitem avaliar o teor de C4 e a diferença entre os 13C da proteína isolada e do mel, indicando a possível origem daquele açúcar, de forma a indicar se aquele açúcar é proveniente de alguma florada ou se é proveniente de açúcares de adulteração.

Mas tem alguma análise mais fácil de executar para detectar fraude?

Fraude:

Apesar de não obrigatórios pela legislação atual, existem alguns testes rápidos que podem ser realizados para indicar possíveis fraudes.

A reação de Lugol é uma reação colorimétrica qualitativa que se baseia na reação da solução de Lugol com os polímeros provenientes da hidrólise do amido, contidos no xarope de amido de milho hidrolizado. Mas é só um “indicativo, pois não é totalmente conclusiva!

Reação de Fiehe: O teste de Fiehe é uma reação qualitativa que detecta a presença de HMF no mel. A análise baseia-se na identificação de um composto, do grupo dos aldeídos (hidroximetilfurfural – HMF). O HMF está presente em quantidades mínimas no mel recém colhido e sua formação se dá naturalmente, com o envelhecimento do mel, pela desidratação das hexoses, em especial a frutose. Porém, quando o mel é exposto à elevada temperatura, seja por aquecimento ou local inadequado de acondicionamento (incidência direta de raios luminosos ou temperatura elevada), a produção de HMF é acelerada e a velocidade de sua formação dependerá da temperatura e do tempo de exposição à mesma. O hidroximetilfurfural (HMF) é um indicador da qualidade que auxilia na identificação de um produto fresco quando apresenta baixas concentrações, a presença de HMF, em níveis elevados no mel, pode representar, ainda, um indicativo de que o mel foi adulterado com açúcar invertido a partir da sacarose também promove a formação do composto. Inicialmente faz-se a extração do HMF com um solvente orgânico (éter etílico). A identificação é feita por meio da resorcina em ácido clorídrico, dando um composto de coloração vermelho-cereja.

Critérios Macroscópicos e Microscópicos: O mel não deve conter substâncias estranhas, de qualquer natureza, tais como insetos, larvas, grãos de areia e outros, observáveis a olho nú ou com a observação usando um microscópio.

Outras análises, não constantes no Regulamento técnico, também podem ser realizadas como formas adicionais de determinar a qualidade do mel. Outras análises são realizadas no mel para auxiliar na determinação de sua qualidade. Podem incluir a detecção de contaminantes, como resíduos de pesticidas e metais pesados, que devem estar dentro dos limites seguros estabelecidos. A detecção de contaminantes como resíduos de pesticidas e metais pesados deve estar dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA para garantir a segurança do mel. A presença de contaminantes fora dos limites seguros pode comprometer a qualidade e a segurança do produto.

Gravidade Específica / densidade: Apenas com fins informativos, é interessante saber a densidade do mel para sua assegurar um melhor beneficiamento. A densidade do mel deve estar dentro de um intervalo especificado, geralmente entre 1,410 e 1,420 a 20°C aproximadamente. Interpretação: Se for muito baixa, pode indicar adulteração com xaropes ou mel de baixa qualidade. Se for muito alta, pode ser um sinal de mel concentrado ou adulterado.

pH: Analise não obrigatória, mas que pode ser realizada com fins complementares. O pH do mel normalmente varia entre 3,2 e 4,5. Interpretação: O pH do mel deve estar entre 3,2 e 4,5. Um pH abaixo desse intervalo pode indicar que o mel está excessivamente ácido, e acima pode indicar presença de contaminantes, em especial pesticidas e agrotóxicos. Um pH fora desse intervalo pode sugerir alterações na qualidade ou deterioração.

Condutividade Elétrica: analise comum para alguns países importadores.

Interpretação: A condutividade elétrica pode ajudar a identificar a origem floral do mel. Cada tipo de mel tem uma faixa específica de condutividade, e valores fora do esperado podem indicar adulteração ou mistura de diferentes tipos de mel.

Bibliografia Consultada

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: . Acesso em: 27 jan. 2017

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005.

Legislação: Identidade e qualidade de mel.



Legislação: Identidade e Qualidade de Mel

Fabricia Soriani

Para quem gosta ou tem afinidade, é uma satisfação abordar o tema legislação voltada para identidade e qualidade do mel, mas não se espera muita coisa diferente do que regrinhas geralmente difíceis de cumprir. Porém, as normas são escritas para disciplinar um determinado tema e tornar viável uma atividade de forma harmônica e equilibrada. Nos anos de experiência pode-se perceber que conhecer e atender corretamente as normas e regulamentos são cruciais para a manutenção e crescimento da atividade, e dessa forma, quase que por uma necessidade, vamos aprimorando o conhecimento sobre o tema e que agora temos a oportunidade de compartilhar com nossos alunos. Vamos juntos mergulhar nesse mundo e entender melhor quais são as legislações pertinentes e que devem ser consideradas para a identidade e qualidade do mel.

O que é Legislação?

- Conhecer nossos direitos
- Cumprir nossos deveres

Leis, decretos, portarias, regulamentos, normas técnicas; Federais, Estaduais, Municipais, RIISPOA; Ministério da Agricultura, Ministério da Saúde, ANVISA; Meio ambiente, IBAMA, INMETRO, ABNT; Alimentos, Saúde pública; Código Defesa do Consumidor; Regulamentos, Rotulagem, RISPOA; Selo Arte, Orgânicos, Meliponicultura, etc.

Mas, vamos falar de mel - O que é o mel, de onde ele vem e como é regulamentado no Brasil

Origem Animal: Como o mel é produzido pelas abelhas, ele é classificado como um produto de origem animal - POA, assim como o leite, a carne e os ovos e por isso é regulado pelo MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento, no departamento chamado DIPOA – Departamento de Inspeção de produtos de origem animal .

Regulamentação: Dentro do MAPA e do DIPOA, são publicadas várias normas que regulamentam o mel e demais produtos das abelhas, e ainda existem diversas outras normas e regulamentos, nos âmbitos federais, estaduais e municipais. Além do quem, ainda existem legislações transversais, ou seja, legislações de outros órgãos que também se relacionam a identidade e qualidade do mel.

Dentre todas as legislações pertinentes ao tema, a nível federal temos a principal norteadora dos Produtos de origem animal, o famoso RIISPOA:

RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal Decreto nº 9.013/2017 e Decreto nº 10.468/2020

Que rege sobre estabelecimentos, condições gerais de instalações, condições de higiene, as obrigações, as inspeções, os produtos e derivados, registro, embalagens, rotulagem, carimbos, análises laboratoriais (oficiais), trânsito, certificados, infrações, penalidade e processos administrativos de quaisquer matérias-primas e produtos de origem animal.

- I - Carnes e derivados;
- II - Pescado e derivados;
- III - Ovos e derivados;
- IV - Leite e derivados;
- V - Produtos de abelhas e derivados;
- VI - Armazenagem;
- VII - Produtos não comestíveis

Especificamente sobre o mel, a norma que representa integralmente a identidade e qualidade do mel é o RTIQ do mel de abelhas melíferas (*Apis mellifera*):

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel de *Apis mellifera*
INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 11/2000

Legislações gerais para os estabelecimentos e Identidade e qualidade do mel

Segue a lista de leis, normas e orientações que devem ser observadas / legenda:

- RDC = Resolução da Diretoria Colegiada.
- IN = Instrução Normativa
- POA= PRODUTO DE ORIGEM ANIMAL

Meliponicultura e abelhas sem ferrão - MAPA:

Ao que se efere ao mel de abelhas sem ferrão, não há uma norma específica publicada, porém, atualmente tem sido consideradas algumas publicações disponíveis:

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel de abelhas sem ferrão características físico químicas dos principais produtos Meliponícolas Publicação do Ministério da Agricultura de forma complementar, seguem as principais legislações vigentes em até agosto/2024

Proposta de RTIQ do Mel de Abelhas-Sem-Ferrão do Brasil – ainda em avaliação. Existe uma série de leis, normas e regulamentos estaduais para produtos de abelhas sem ferrão em vigor no país. A complexidade é grande exigindo um trabalho de especialistas, envolvendo principalmente, os Ministérios (Agricultura, Meio Ambiente, Saude)no minimo, as universidades, instituições de pesquisa, associações, cooperativas representantes dos produtores de abelhas sem ferrão, Camara Nacional,Estaduais, Setorial do Mel.

Produtos de Origem Animal - MAPA

LEI nº 1.283/1950 - Institui a Inspeção de Produtos de Origem Animal carnes; pescado; ovos; leite; produtos de abelhas; armazenagem; produtos não comestíveis

Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

RIISPOA - Decreto nº 30.691/1952: Institui o RIISPOA – já foi revogada

RIISPOA - DECRETO N° 9.013, DE 29 DE MARÇO DE 2017

RIISPOA - DECRETO N° 10.468, DE 18 DE AGOSTO DE 2020

ESTABELECIMENTOS DE PRODUTOS DE ABELHAS - MAPA

PORTARIA SDA N° 795, DE 10 DE MAIO DE 2023

REGULARIZAÇÕES DOS ESTABELECIMENTOS - MAPA:

PORTARIA N° 393, DE 9 DE SETEMBRO DE 2021 – Registro e reformas de estabelecimentos

IN N° 5, DE 14 DE FEVEREIRO DE 2017 – Agro industrias de pequeno Porte

Boas Práticas na Indústria POA e geral

PORTARIA N° 368, DE 04 DE SETEMBRO DE 1997 - MAPA

RDC N° 512, DE 27 DE MAIO DE 2021 – BP laboratório

RDC N° 44, DE 17 DE AGOSTO DE 2009 – BP Farmácias e drogarias

IN N° 9, DE 17 DE AGOSTO DE 2009 – produtos que pode comercializar em farmácias:

Art. 11. Além dos alimentos citados nos artigos anteriores, fica permitida a venda de mel, própolis e geléia real.

Autocontroles e Inspeção - MAPA

LEI N° 14.515, DE 29 DE DEZEMBRO DE 2022 – Lei do autocontrole
DECRETO N° 12.126, DE 31 DE JULHO DE 2024 – Regulamentação da lei do

Auto Controle

NORMA INTERNA DIPOA/SDA N° 01, DE 08 DE MARÇO DE 2017 – PACs
NORMA INTERNA N° 02/DIPOA/SDA, DE 06 DE NOVEMBRO DE 2015

Risco Estimado

IN SDA/MAPA n° 139, de 24 de maio de 2022 – Modelos dos formulários de inspeção e do Plano de ação.

IN N° 49, DE 14 DE SETEMBRO DE 2006 – Formulário entrada e o uso de produtos nos estabelecimentos

PORTARIA SDA N° 431, DE 19 DE OUTUBRO DE 2021 – Trânsito, exportação, CSI, CSN, DCPOA, etc.

MANUAIS DE ACESSO AO PGA-SIGSIF

MANUAL DE LANÇAMENTO DOS MAPAS ESTATÍSTICOS

Água

PORTARIA GM/MS N° 888, DE 4 DE MAIO DE 2021 - MINISTÉRIO DA SAÚDE – água potável

OFÍCIO-CIRCULAR N° 15/2022/CGI/DIPOA/SDA/MAPA – MAPA - Inspeção da água nos estabelecimentos

RTIQ - Regulamentos técnicos de POA - MAPA:

IN N° 11, DE 20 DE OUTUBRO DE 2000 – MAPA - Mel

IN N° 3, DE 19 DE JANEIRO DE 2001 – MAPA - Demais produtos das abelhas

PORTARIA N° 57, DE 1º DE JULHO DE 2015 – MAPA - consulta pública Mel Industrial

PORTARIA N° 52, DE 15 DE MARÇO DE 2021 – MAPA – Orgânicos

Composto de Mel - MAPA

existem vários Ofícios Circulares n.03 n.4 / n.04 / n.11 / n.15 / n.1, etc..

Resolução N.º 01 e N.º 02 de 19 de junho de 2001 - consulta pública - nomes dos compostos / já mudou! Ou seja, não existe nada de concreto hoje em dia, somente o que consta no RIISPOA e a na 795.

Regularizações dos produtos POA - MAPA:

PORTARIA SDA Nº 558, DE 30 DE MARÇO DE 2022 – MAPA – Registro de produtos

MANUAIS DE ACESSO AO PGA-SIGSIF

PORTARIA Nº 289, DE 13 DE SETEMBRO DE 2021 – Selo arte para produtos das abelhas no contexto do SISP artesanal – Estado de SP

Regularizações de alimentos e embalagens ANVISA:

RDC N° 843, DE 22 DE FEVEREIRO DE 2024 – Regularização de Alimentos e embalagens , Comunicado de Início de Fabricação, notificação, registro, tec..

IN N° 281, DE 22 DE FEVEREIRO DE 2024 – anexos / tabelas, etc..

RDC N° 727, DE 1º DE JULHO DE 2022 – Rotulagem dos alimentos ANVISA

*Somando -se aos Regulamentos técnicos dos alimentos que tem várias RDCs e muitas atualizadas em 2022.

Regularizações de cosméticos ANVISA:

RDC N° 752, DE 19 DE SETEMBRO DE 2022 – Registros cosméticos Grau 1 (notificação) e Grau 2 (registro)

RESOLUÇÃO N° 481, DE 23 DE SETEMBRO DE 1999 – padrões microbiológicos de cosméticos

- RDC N° 773, DE 15 DE FEVEREIRO DE 2023 – lista de ingredientes em português e outras tantas publicações sobre ingredientes.

Rotulagem de produtos POA - MAPA:

IN N° 22, DE 24 DE NOVEMBRO DE 2005.

PORTARIA N° 240, DE 23 DE JULHO DE 2021 – MAPA Atualização da 22

PORTARIA N° 449, DE 15 DE JUNHO DE 2022 – MAPA – Atualização da 22

Considerar o RIISPOA e os RTIQ dos produtos.

Tabelas nutricionais ANVISA / MAPA:

RDC N° 429, DE 8 DE OUTUBRO DE 2020 incluindo-se a retificação

IN N° 75, DE 8 DE OUTUBRO DE 2020 incluindo-se a retificação

Adicionais Rotulagem:

DECRETO-LEI N° 986, DE 21 DE OUTUBRO DE 1969 – geral alimentos do Brasil

LEI N. 10.674, DE 16 DE MAIO DE 2003 – lei do glúten

PORTARIA INMETRO N° 249, DE 9 DE JUNHO DE 2021- conteúdo nominal,

* Transgênicos

* Nova fórmula

* Materiais em contato com alimentos (agenda regulatória 2024/25)

Aditivos Aromatizantes - ANVISA

RDC Nº 778, DE 1º DE MARÇO DE 2023 – aditivos / conservantes / estabilizantes / corantes / etc..

IN Nº 211, DE 1º DE MARÇO DE 2023 – anexos / tabelas, etc..

RESOLUÇÃO - RDC Nº 725, DE 1º DE JULHO DE 2022 – aromatizantes / lista básica / referencias / compêndios / etc...

Adicionais ANVISA:

RDC Nº 4, DE 18 DE JANEIRO DE 2012 – resíduos de agrotóxicos.

RDC Nº 722, DE 1º DE JULHO DE 2022 – contaminantes / contaminantes inorgânicos

IN Nº 160, DE 1º DE JULHO DE 2022 – LMT – limites máximos tolerados

RDC Nº 623, DE 9 DE MARÇO DE 2022 – matérias estranhas

RDC Nº 724, DE 1º DE JULHO DE 2022 – limites microbiológicos

IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022 – anexos / tabelas, padrões micro

RDC Nº 243, DE 26 DE JULHO DE 2018 – Suplementos alimentares

IN Nº 28, DE 26 DE JULHO DE 2018 – Lista de suplementos alimentares

RDC Nº 622, DE 9 DE MARÇO DE 2022 – prestadores de serviço para controle de pragas

RDC Nº 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 – Gestão de Resíduos

Sac e Recall:

PORTARIA Nº 618, DE 1º DE JULHO DE 2019 – MINISTÉRIO DA JUSTIÇA

PORTARIA Nº 20, DE 22 DE JUNHO DE 2020 - SENACON/MINISTÉRIO DA JUSTIÇA

RDC Nº 655, DE 24 DE MARÇO DE 2022 – ANVISA – Recolhimento de produtos

Concluindo

Para o pequeno produtor, trabalhar transitando nessa quantidade de leis, decretos, portarias, normativas, realmente é algo desafiador e podemos dizer o mesmo sobre as pequenas e médias empresas. Espera-se que se encontre formas de se agilizar a inclusão a acessibilidade de todos, para ao se combater a clandestinidade os verdadeiros produtores apícolas possam oficializar suas micro, pequenas e médias empresas Apícolas, principalmente pelos mesmos, representarem 80% da produção que é exportada neste país, conforme estudos da fundação Banco do Brasil.

Bibliografia Consultadas

BRASIL 2024 Sistema de Consulta a Legislação -SISLEGIS Disponível em
<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/loginAction.do?method=exibirTela>
(Pagina consultada 10/7/24).