

## ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MEL DE *APIS MELLIFERA* PRODUZIDO NA REGIÃO DO CERRADO – MT

Dayane Aparecida dos Santos<sup>1</sup>; Angela Kwiatkowski<sup>1,2\*</sup>; Marcos Vieira da Silva<sup>1</sup>; Dalany Menezes Oliveira<sup>2</sup>; Lucimar Peres de Moura Pontara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, PR.

<sup>2</sup>UEM - Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Bioquímica de Alimentos, PR.

**Resumo:** O acompanhamento da microbiologia do mel é necessário para garantir sua qualidade final. A contaminação microbiana representa um perigo à saúde pública, motivo de grande preocupação por parte dos órgãos de vigilância sanitária. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação microbiológica do mel produzido na região do cerrado, Mato Grosso. O apiário foi instalado no município de Conquista D'Oeste-MT, totalizando 30 caixas de mel cobertas com telha de amianto e exposta ao sol. O mel foi coletado em novembro de 2008. As análises físico-químicas realizadas foram: umidade, sólidos solúveis totais (SST) e pH; as análises microbiológicas foram: contagem de bactérias mesófilas aeróbias facultativas, bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase positiva, número mais provável (NMP) de coliformes a 35°C e a 45°C, e presença de *Salmonella* sp. As metodologias empregadas seguiram as indicações da Instrução Normativa nº. 62, de 23 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. O valor de pH resultou em 3,80, SST em 81,5 e umidade em 17%. A análise microbiológica não apresentou presença de *Salmonella* sp, *Staphylococcus* coagulase positiva e levedura. A contagem de mesófilos aeróbios facultativos foi de  $5,0 \times 10^1$ , os dois grupos de coliformes em NMP foi  $<3,0$ ; e bolores  $3,0 \times 10^1$ . O mel estudado apresentou qualidade microbiológica para um mel de mesa.

**Palavras-chave:** *Apis mellifera*. Mel. Cerrado. Microbiologia.

**Microbiological quality study of *Apis mellifera* honey produced in the cerrado – MT.** Monitoring the microbiology of honey is necessary to ensure its final quality. The microbial contamination is a danger to public health, a major concern for the surveillance agency. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of honey produced in the cerrado region, Mato Grosso State. The apiary was installed in the town of Conquista D'Oeste city, a total of 30 boxes of honey covered with asbestos tile and exposed to the sun. The honey was collected in November of 2008. The physical and chemical analysis were carried out: moisture, total soluble solids (TSS) and pH. Microbiological analysis were: mesophilic bacteria facultative aerobic, yeast and mold, *Staphylococcus*, the most probable number (MPN) of coliforms at 35 °C and 45 °C, and the presence of *Salmonella* sp. The methods used followed the directions of the Normative Instruction no. 62, August 23, 2003 of Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. The pH value resulted in 3.80, SST at 81.5 and humidity at 17 %. Microbiological analysis showed no presence of *Salmonella*, *Staphylococcus* and yeast. The count of facultative aerobic bacteria was  $5.0 \times 10^1$ , the two groups of coliforms in NMP was  $<3.0$ , and  $3.0 \times 10^1$  mold. The samples of honey studied showed appropriate microbiological quality.

**Keywords:** *Apis mellifera*. Honey. Cerrado. Microbiology.

### 1 Introdução

A criação racional de abelhas constitui-se de uma atividade em que se consegue obter bons resultados econômicos, ecológicos e sociais. Essa atividade, desenvolvida ao longo do tempo por pequenos e médios produtores, vem despertando o interesse de muitos criadores e instituições do Brasil. Dentro da Apicultura, o conhecimento sobre o mel já vem sendo estudado em várias regiões do Brasil. O Brasil possui reservas florais que podem proporcionar milhares de toneladas de mel, de primeira qualidade, aceito pelo mercado mais exigente do mundo (EVANGELISTA-RODRIGUES *et al.*, 2005).

O mel é um produto alimentício de grande valor nutritivo e terapêutico, muito utilizado em várias partes do mundo, o que demonstra seu grande potencial comercial. Para bom desempenho, entretanto, é necessária a garantia da qualidade do produto, bem como a manutenção de suas principais propriedades (MARTINS *et al.*, 2007).

A garantia da microbiológica da qualidade do mel se inicia

nos favos, sendo necessário o controle da umidade, garantindo níveis bons de teor de água para perfeita maturação. Méis com umidade superior a 18% podem sofrer fermentações indesejáveis. Há a necessidade, também, de controlar a contaminação no momento da colheita, pois tudo que entra em contato com o produto pode ser fonte de microrganismos deteriorantes. Fontes primárias de contaminação são o pólen, o aparelho digestivo das abelhas, ar, entre outros. Fontes secundárias seriam no momento da colheita, manipuladores, embalagens, equipamentos entre outros (SILVA, 2007). Para garantir a qualidade do mel de abelhas faz-se necessário realizar avaliações que garantam a qualidade microbiológica. A contaminação microbiana em alimentos representa um perigo à saúde pública, motivo de grande preocupação por parte dos órgãos de vigilância sanitária. A legislação estabelece que o mel, em relação aos contaminantes, deve estar de acordo com o Regulamento Técnico do Mercosul (BRASIL, 2000). O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade

\*e-mail: angelak.k@gmail.com

microbiológica do mel de *Apis mellifera* Africanizadas produzido na região do cerrado do Estado do Mato Grosso.

## 2 Materiais e Métodos

O apiário tido como unidade experimental foi instalado na região do cerrado brasileiro no município de Conquista D'Oeste-MT, com coordenadas geográficas de 59°54'55"W e 14°54'08"S, com temperatura média entre 24 a 38°C, totalizando 30 caixas de mel cobertas com telha de amianto e exposta ao sol. Foram escolhidos aleatoriamente 10 caixas para colheita do mel, em novembro de 2008 e embalado em potes de capacidade de 250g, sendo encaminhados três potes ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá-UEM, onde foram realizadas as análises físico-químicas, e ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Campus* Campo Mourão, para a execução das análises microbiológicas. As análises foram realizadas em triplicata.

### 2.1 Análises físico-químicas

#### 2.1.1 Umidade

A umidade foi determinada por meio do índice de refração em refratômetro de bancada, e leitura na Tabela de Chataway, segundo o Método nº 969.38b (AOAC, 1997) recomendado como metodologia oficial do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

#### 2.1.2 Sólidos Solúveis Totais

Realizado por refratômetro de bancada de Abbé, segundo ITAL (1990).

#### 2.1.3 pH

O pH foi determinado com auxílio de pHmetro digital, marca Labmeter, modelo PHS 3B.

### 2.2 Análises microbiológicas

A amostra de mel do cerrado foi submetida a análises microbiológicas de contagem de bactérias mesófilas aeróbias facultativas, bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase positiva, número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C, e presença de *Salmonella* sp. As metodologias empregadas seguiram as indicações da Instrução Normativa nº. 62, de 23 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003).

#### 2.2.1 Preparo da amostra e diluições seriadas

Foram pesados 25g de amostra em frasco estéril, e adicionados 225mL de solução salina peptonada 0,1%, compondo a diluição 10<sup>-1</sup>. Para o preparo da diluição 10<sup>-2</sup>, foi retirada uma alíquota de 1mL da diluição 10<sup>-1</sup> adicionando-a a um tubo de ensaio com 9mL de solução salina peptonada 0,1%, seguindo-se de homogeneização. A diluição 10<sup>-3</sup> foi feita da mesma forma, a partir da diluição 10<sup>-2</sup>.

#### 2.2.2 Mesófilos aeróbios facultativos

Foi realizado plaqueamento em profundidade, utilizando ágar padrão para contagem, procedendo a incubação a 35°C por 48 horas, e então a contagem das unidades formadoras de colônias, sendo expressos os resultados por grama de amostra (UFC/g).

#### 2.2.3 Bolores e leveduras

A inoculação das diluições de amostra foi efetuada em profundidade com ágar batata-dextrose, acidificado com ácido tartárico a 10% até pH 3,5. A incubação foi feita a 25°C por cinco dias, e a contagem de bolores e de leveduras, separadamente, dada em UFC/g.

#### 2.2.4 *Staphylococcus* coagulase positiva

Diluições da amostra foram inoculadas na superfície do ágar Baird-Parker em placas que Petri, sendo incubadas a 35°C por 48 horas. As colônias características foram contadas, e 10 delas repicadas em caldo infuso-cérebro-coração e incubadas a 35°C por 24 horas, sendo então testadas quanto à produção de coagulase com plasma de coelho, nuclease termorresistente com ágar DNase azul de toluidina e catalase com peróxido de hidrogênio a 3%. As colônias que apresentam resultado positivo para essas provas bioquímicas foram confirmadas como sendo *Staphylococcus* coagulase positiva, e a porcentagem de confirmações multiplicada pela contagem de UFC nas placas de Baird-Parker, para compor o resultado final.

#### 2.2.5 Coliformes

Três séries de três tubos de ensaio contendo caldo lauril sulfato triptose (LST) e tubo de Durhan invertido foram inoculados com as diluições da amostra, e levados à estufa de cultivo a 35°C por até 48 horas. Os tubos positivos, que apresentaram formação de gás no tubo de Durhan, foram repicados simultaneamente em caldo verde brilhante bile 2% e caldo EC, sendo incubados por até 48 horas, respectivamente, em estufa a 35°C, e em banho-maria com agitação a 45°C. Os tubos positivos foram observados, e os resultados avaliados pela tabela de número mais provável, sendo expressos em NMP/g.

#### 2.2.6 *Salmonella* sp

Uma diluição a 10<sup>-1</sup> feita a parte em água peptonada 1% tamponada a partir de 25g de amostra, para a etapa de enriquecimento não-seletivo conduzido em estufa a 35°C por 24 horas. Na etapa seguinte, de enriquecimento seletivo, foi feita repicagem em caldo selenito-cistina e em caldo Rappaport Vassiliads, e incubação a 42°C por 24 horas, sob agitação constante. Então foram feitas estrias nos ágar verde brilhante, xilose lisina desoxicolato, e entérico de Hectoen. As colônias características foram submetidas às seguintes provas bioquímicas: Voges-Proskauer; vermelho de metila; desaminação da fenilalanina; fermentação de sacarose, glicose e lactose; descarboxilação da lisina; metabolização do citrato; motilidade; produção de indol, de sulfeto de hidrogênio e de urease. As colônias confirmadas foram testadas em prova com soro anti-Salmonella polivalente "O", caracterizando a presença ou ausência do micro-organismo na amostra.

### 3 Resultados e Discussão

Os resultados das determinações do teor de umidade, SST e pH são apresentados na Tabela 1. O valor encontrado de umidade está de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000) e de acordo com o regulamento técnico n.º 56, de 1999 do Mercosul. A umidade dos méis é influenciada pela origem botânica, por condições climáticas, pela época de colheita e pelo grau de maturação do mel, sendo um parâmetro de grande importância durante o armazenamento do produto (SODRÉ *et al.*, 2007).

Tabela 1: Determinações físico-químicas de mel produzido na região do cerrado – MT, 2008.

Avaliações	Mel	Brasil	Mercosul
Umidade (%)	17,0 ± 0,50	Max. 20	Max. 20
SST* (° Brix)	81,5 ± 0,00	-	-
pH	3,90 ± 0,01	-	-

\* SST – Sólidos Solúveis Totais

Trabalhos realizados por Araújo *et al.* (2006), avaliando a qualidade de méis comercializados no estado do Ceará, encontraram valores de que variaram de a 17 a 21%, sendo encontrado três amostras acima do padrão da legislação brasileira e do Mercosul. Segundo este autor o teor de umidade é o principal fator determinante da viscosidade e fluidez do mel, além de ser um indicativo importante da tendência à fermentação. O mel maduro geralmente apresenta teor de umidade de 18% (VENTURINI *et al.*, 2007). O teor de SST determinado auxilia na determinação do teor de umidade.

Não há indicação de análise de pH como obrigatória para avaliação da qualidade do mel, esta, no entanto foi realizada para se ter um parâmetro de acidez. O pH resultou em valor acima do determinado por Araújo *et al.* (2006), onde encontraram variação de 3,45 a 3,70 em méis comercializados no estado do Ceará. Já Evangelista-Rodrigues *et al.* (2005) encontraram valores entre 3,85 a 4,66 em amostras de méis do estado da Paraíba. O pH é um fator muito importante em alimentos, pois está relacionado com a conservação microbiológica.

Os resultados da avaliação microbiológica são visualizados na Tabela 2. Os valores encontrados para mesófilos, coliforme a 35 e 45°C e bolores estão de acordo com a legislação (BRASIL, 2000).

Tabela 2: Valores microbiológicos do mel de da região do cerrado-MT, produzido por *Apis mellifera* Africanizadas, em 2008.

Microrganismos	Valores
Mesófilos aeróbios facultativos (UFC*/g)	5,0 x 10 <sup>1</sup>
Coliformes 35°C (NMP*/g)	<3,0
Coliformes 45°C (NMP/g)	<3,0
Bolores (UFC/g)	3,0 x 10 <sup>1</sup>
Leveduras (UFC/g)	Ausência
<i>Salmonella</i> sp (25 g)	Ausência
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Ausência

\*UFC – Unidade formadora de colônia;

\* NMP – Número mais provável.

O mel analisado não apresentou presença de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus coagulase positiva* e levedura. Certas leveduras denominadas osmofílicas realizam esta fermentação. As leveduras osmofílicas são as principais

responsáveis pela perda do mel estocado (LORENZETTI *et al.*, 2009). Silva (2007) encontrou valores de coliformes de méis da região de Viçosa iguais a deste trabalho. Para bolores e leveduras o mesmo obteve valores de 2,9 x 10<sup>4</sup>, que se comparado ao mel analisado neste experimento, está com maior número de unidade formadora de colônia, ou seja, está com índice de contaminação.

### 4 Conclusão

O mel analisado encontra-se dentro dos parâmetros de qualidade microbiológica exigidos, ou seja, mel apto ao consumo de mesa.

### 5 Referências

- ARAÚJO, Dyalla R.; SILVA, Roberto H. D.; SOUSA, Jonas S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, 2006.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa n.º. 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 de outubro de 2000. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 mar. 2009.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa n.º. 62, de 23 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 18 de setembro de 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 mar. 2009.
- EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; SILVA, Eva M. S.; BESERRA, Ennio M. F.; RODRIGUES, Marcelo L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1166-1171, 2005.
- LORENZETTI, Emi R.; MARQUES, Paloma; CALDAS, Rafael G. **Microbiologia do mel**. Disponível em: [br.geocities.com/horticultura1/Microbiologiamel.pdf](http://br.geocities.com/horticultura1/Microbiologiamel.pdf). Acesso em 26 jun. 2009.
- SILVA, Mariana B. L. **Diagnóstico do sistema de produção e qualidade do mel de *Apis mellifera***. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Disponível em: <[http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=815](http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=815)>. Acesso em 26 jun. 2009.
- SODRÉ, Geni S.; MARCHINI, Luis Carlos; MORETI, Augusta C. C.; OTSUK, Ivani P.; CARVALHO, Carlos A. L. Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1139–1144, 2007.
- VENTURINI, Katiane S.; Sarcinelli, Miryelle F.; Silva, Luis Carlos. Características do mel. **Boletim Técnico**. Espírito Santo: UFES, p. 1–8, 2007.