



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO MEL DAS ABELHAS
AFRICANIZADAS (*Apis mellifera*) DA REGIÃO LESTE / RN –
BRASIL.**

ALTEVIR PAULA DE MEDEIROS

Biólogo

MOSSORÓ – RIO GRANDE DO NORTE – BRASIL
AGOSTO – 2011

ALTEVIR PAULA DE MEDEIROS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO MEL DAS ABELHAS
AFRICANIZADAS (*Apis mellifera*) DA REGIÃO LESTE / RN –
BRASIL.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
Rural do Semi Árido – UFRSA, Campus de Mossoró,
como parte das exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. D. Sc. Sidnei Miyoshi
Sakamoto - UFRSA

MOSSORÓ – RIO GRANDE DO NORTE – BRASIL
AGOSTO – 2011.

Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA

M488a Medeiros, Altevir Paula de.

Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do mel das abelhas africanas (*Apis Mellifera L.*) da região Leste/RN – Brasil / Altevir Paula de Medeiros -- Mossoró, 2011.

92f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal. Área de concentração: Produção e Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Orientador: Profº. D. Sc. Sidney Miyoshi Sakamoto.

Co-orientador: Profº. D. Sc. Jean Berg Alves da Silva.

1.Abelhas africanas. 2.Físico-química. 3.Qualidade. 4. Salmonella Sp. I.Título.

CDD:638.1

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB15 120



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 61/2011

Das **15:30** às **17:00** horas do dia **31** de **Agosto** do ano de dois mil e onze, no mini-auditório do CI-UFERSA da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, sob a presidência do Prof Doutor **Sidnei Miyoshi Sakamoto**, reuniu-se a Banca Examinadora de Defesa de Dissertação de Mestrado, de autoria de ALTEVIR PAULA DE MEDEIROS, aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal desta Universidade com o título: **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MEL DAS ABELHAS AFRICANIZADAS (*Apis mellifera*) DA REGIÃO LESTE / RN – BRASIL**. A Banca Examinadora ficou assim constituída: Prof. Dr. **Sidnei Miyoshi Sakamoto**, Presidente da Banca e Orientador, Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva e Prof. Dr. Patrício Borges Maracajá, como examinadores. Não foram registradas ocorrências. Concluída a defesa, foram realizadas as arguições e algumas sugestões feitas e acatadas. Em seguida procedeu-se o julgamento pelos membros da Banca Examinadora, tendo a dissertação sido **APROVADA**, com nota **9,0**. E, para constar, eu, **(Sidnei Miyoshi Sakamoto)**, Presidente da Banca Examinadora, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme, foi assinada por mim e demais membros da Banca Examinadora.

Mossoró, 31 de Agosto de 2011.



Prof. Dr. Sidnei Miyoshi Sakamoto



Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva



Prof. Dr. Patrício Borges Maracajá

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALTEVIR PAULA DE MEDEIROS - filho de Lúcia Helena Pinheiro Paula e Ciro Cunha de Medeiros Neto, nascido no dia 12 de fevereiro de 1976, na cidade de Mossoró no Estado do Rio Grande do Norte. Coursou todo seu ensino fundamental e médio no colégio Dom Bosco (em Mossoró-RN). Iniciou o ensino superior na Universidade Estadual do Rio Grande do Norte em julho 1999 e concluiu em 2004, (UERN), obtendo a graduação de licenciatura em Ciências Biológicas. Ainda durante a graduação teve a oportunidade de ministrar aulas no Ensino Médio em escolas pública e privada, sempre participou de núcleos de pesquisa, tendo feito parte da equipe de pesquisa da ictiofauna do rio Apodi-Mossoró, que rendeu uma tese de doutorado à uma professora da UERN e várias apresentações em congressos científicos. Essa experiência foi determinante na escolha em abraçar a carreira de pesquisador. Ingressando em março de 2009, no programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), seu orientador inicialmente foi o Dr. Patrício Borges Maracajá, mas como seu orientador passou a ser lotado no quadro da Universidade Federal da Paraíba (Pombal-PB), o colegiado transferiu a sua orientação para a Dr. Silvia Maria Mendes Ahid e depois para o professor Dr. Sidnei Miyoshi Sakamoto, sob a co-orientação dos professores Dr. Jean Berg Alves da Silva. Está hoje como Gerente da Qualidade do laboratório de análises Físico-químicas em alimentos do SENAI, onde realiza ensaios nos méis de todo o Estado do Rio Grande do Norte que será destinado à exportação. Finalmente defendeu a dissertação em 31 de agosto de 2011.

AGRADECIMENTOS

Nem todas as formas de agradecimento seriam suficientes para demonstrar o quanto realmente sou grato por ter tido o privilégio de ter essas pessoas fazendo parte da minha vida, mas como tenho que começar de alguma forma:

Ao meu orientador, Prof. D. Sc. Sidnei Miyoshi Sakamoto por ter abraçado juntamente comigo essa bandeira, por confiar em mim, um profissional de formação diferente, aceitando o desafio de explorar novos campos da ciência, demonstrando uma visão empreendedora e uma personalidade inquietante, qualidades raras de se encontrar reunidas em uma só pessoa. Por ter sempre me apoiado e tirado todas as dúvidas e buscado da melhor maneira a resolução dos problemas que surgiram. Por ser um orientador paciente e amigo, sempre disposto a mostrar uma luz, mesmo quando tudo parecia impossível. Acima de tudo posso dizer que mais que um orientador, o programa me deu um amigo, que terá sempre um lugar especial no meu coração.

Ao Prof. e co-orientador, D. Sc. Patrício Borges Maracajá, que primeiro me deu forças e incentivou à entrar no mestrado, vendo em mim um potencial que estava adormecido. Agradeço à você meu amigo e Irmão por sempre estar ao meu lado, mesmo que estejamos separados por quilômetros de estradas, estamos unidos por laços indissolúveis.

Ao professor, co-orientador e amigo D. Sc. Jean Berg Alves da Silva que sempre me apoiou me dando total liberdade no seu laboratório, não medindo esforços na busca da melhor forma de me atender e sendo sempre compreensivo quando o trabalho do SENAI exigia minha ausência do laboratório, pela sinceridade de suas palavras sempre me encorajando e orientando também na vida pessoal.

Ao Prof. D. Sc. Rogério Aparecido Pereira, (seu Albeví) que sempre mostrou-se pronto à me socorrer nos momentos mais difíceis e dando valiosas sugestões no decorrer do experimento, e como não podia deixar de mencionar, agradecer pelo seu constante bom humor e abraço acolhedor, mesmo quando a saudade de sua terra natal e de seus entes queridos lhe apunhalavam o coração.

A minha amiga Luciene Xavier de Mesquita que do começo ao fim esteve sempre ao meu lado, ajudando de todas as formas possíveis e até inimagináveis. Quando eu pensava em fraquejar me espelhava em você para continuar minha batalha. Que Deus lhe abençoe sempre e que você possa continuar fazendo parte do meu ciclo de amizades por toda eternidade da alma.

As sempre presentes e prestativas Rociene Abrantes, Manuela e Carol, minhas amigas que nunca mediram esforços para me ajudar na realização dos ensaios. Obrigado!

Aos meus alunos do curso técnico em Controle Ambiental da Escola Estadual Gilberto Rola que me ajudaram na digitação dos dados e em especial a Aline que sempre se mostrou disposta a contribuir e aprender.

Ao SENAI por ter permitido que eu desse esse tão importante passo na minha vida profissional, em especial a Srª Dilena Dantas que incondicionalmente me apoiou durante o mestrado com palavras de incentivo. A empresa e aos apicultores por terem disponibilizado as amostras de mel, sem vocês fica a certeza que não haveria projeto nem dissertação de mestrado. Meu muito obrigado.

A Universidade Federal Rural do Semi-árido, ao Programa de Pós - graduação em Ciência animal pela oportunidade de obter meu título de mestre.

A minha irmã Adriana Paula pelas palavras de coragem e força, e à meus cunhados Ricardo e César, minhas cunhadas Marta Maria (mamãe Marta), Macsheila (Sheilinha), meus sobrinhos Ricardo Júnior, Ana Luiza e Luan César, pelos momentos de descontração e cumplicidade.

A minha querida sogrinha, Luzia Simão que sempre foi uma mãe para mim, me apoiando em tudo.

A minha esposa Márcia Maria e a minha Filha Ana Beatriz que tiveram paciência de me suportar nos momentos mais estressantes, ou quando da minha ausência para realizar meus ensaios e estudos (que não foram poucos) o meu muito obrigado sem a presença de vocês tudo teria sido muito mais difícil e até, quem sabe impossível. Se hoje sou um homem completo é porque vocês me completam integralmente.

A toda minha família, por todo apoio.

Em especial à minha mãe amada por sempre ter sido pra mim exemplo de tudo quanto existe de mais honesto, amigo, sincero, corajoso e principalmente amável. Tudo que sou e serei é somente o espelho do pouco que consegui ver de seu reflexo. Obrigado por acreditar em mim e nunca demonstrar fraqueza, mesmo estando completamente sem forças pelas intempéries da vida. Te amo de montão, obrigado.

E a Deus que nos momentos mais difíceis me carregou em seus braços, me dando forças para retomar a caminhada.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho e meu título de mestre à minha mãe, minha filha e minha esposa.

AValiação DA QUALIDADE Físico-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MEL DAS ABELHAS AFRICANIZADAS (*Apis mellifera* L.) DA REGIÃO LESTE/RN – BRASIL.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Aviação da qualidade físico-química e microbiológica do mel das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) da região Leste/RN – Brasil.** 2011. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2011.

RESUMO GERAL: Foram verificados se méis produzidos por *Apis mellifera* L., na Mesorregião Leste Potiguar - RN – Brasil, cumprem as especificações determinadas pelas legislações. Foram analisadas 90 amostras determinando os parâmetros físico-químicos, testes qualitativos, microbiológicos e realizaram-se adulterações (adição de açúcar comercial e glucose de milho) para testar os limites de detecção dos testes de Lund e Lugol. As amostras foram coletadas por uma empresa exportadora de mel do Estado do RN e enviadas para análise em alíquotas de 500 ml e analisadas 48 horas após cada coleta. Foram coletas de janeiro a dezembro de 2009, obtendo os seguintes resultados: umidade ($15,23\pm0,56\%$), atividade de água ($0,61\pm0,02\%$), sólidos ($0,04\pm0,02\%$), cinzas ($0,19\pm0,09\%$), acidez ($31,55$ meq/kg $\pm6,67$), açúcares ($76,61\pm6,22$), sacarose ($4,72\pm0,87$), HMF ($14,16$ mg/kg $\pm8,86$), Lund ($2,96\pm0,99\%$) e atividade diastásica negativa. Os valores de umidade, HMF, açúcares, acidez livre, sólidos insolúveis e cinzas estiveram de acordo com os regulamentos do BRASIL (2000), Codex (2001) e o MERCOSUL (GMC 89/99). Os parâmetros microbiológicos analisados foram: presença de coliformes a 35°C e 45°C, *Salmonella sp*, quantificação de bolores e leveduras das 90 amostras de mel coletadas. 60 amostras apresentaram contagem de bolores e leveduras maiores que 10^2 UFC/g, acima do permitido pela legislação do MERCOSUL com limite de 1×10^2 UFC/g ou 100 UFC por grama. Amostras de mel analisadas tinham valores maiores que >1.100 NMP/g para coliformes a 35°C e 45°C e sete amostras com crescimento entre 15 e 3,6 NMP/g⁻¹ sendo estes valores bem elevados tendo como base a legislação do MERCOSUL o limite Máximo de <3 NMP/g. Duas amostras apresentaram *Salmonella sp*, o que sugere a necessidade de implementação das boas práticas em todos os níveis da cadeia produtiva, em especial no apiário e da necessidade de se conhecer a microbiota dos méis das regiões do Brasil);

Palavras Chave: Físico-Química, Adulteração, Qualidade, *Salmonella sp*

**EVALUATION OF THE PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL
QUALITY OF THE AFRICANIZED BEE'S HONEY (*Apis mellifera* L.) FROM THE
EAST REGION, RN IN BRAZIL.**

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Evaluation of the physical-chemical and microbiological quality of the Africanized bee's honey (*Apis mellifera* L.) from the East Region, RN in Brazil.** 2011. 87f. Thesis (Master in Animal Science: Animal Production and Sanitary) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, RN. 2011.

ABSTRACT: It has been verified the honey produced by *Apis mellifera* L. in the East Potiguar Mesoregion, RN, Brazil, to identify if they satisfy the specifications determined by the legislations. 90 samples have been analyzed determining the physical-chemical parameters, qualitative tests, microbiological and with some adulterations done (addition of commercial sugar and corn glucose) to check the detection limits of Lund and Lugol's tests. The samples were collected for a honey exporting company from RN and sent to UFERSA, in aliquots of 500ml and analyzed 48 hours after each collection. They were collected from January to February in 2009. The following results were obtained: moisture ($15,23\pm0,56\%$), water activity ($0,61\pm0,02\%$), solids ($0,04\pm0,02\%$), ashes ($0,19\pm0,09\%$), acidity ($31,55\text{ meq/kg}\pm6,67$), sugar ($76,61\pm6,22$), sucrose ($4,72\pm0,87$), HMF ($14,16\text{ mg/kg}\pm8,86$), Lund ($2,96\pm0,99\%$) and negative diastase activity. The values of moisture, HMF, sugar, free acidity, insoluble solids and ashes have been in accordance with the regulations of BRASIL (2000), Codex (2001) and MERCOSUL (CMG 89/99). The microbiological parameters analyzed were: coliform presence at 35°C and 45°C, *Salmonella* sp, mold and yeast quantification from the 90 samples of the collected honey. 60 samples presented a mold and yeast counting higher than 10^2 UFC/g above the permitted amount by MERCOSUL's legislation with the limit of 1×10^2 UFC/g or 100 UFC per gram. The honey samples analyzed had values higher than >1.100 NMP/g to coliforms at 35°C and 45°C and seven samples with growth between 15 and $3,6\text{ NMP/g}^{-1}$ which are considered so high, based on the legislation of MERCOSUL the maximum limit of <3 NMP/g. Two samples presented *Salmonella* sp that suggests the necessity of implementation of good practices in all the levels of the productive chain, especially in the apiary and the necessity of knowing the microbiota of honey in the regions of Brazil;

Key words: Physical-Chemistry, Adulteration, Quality, *Salmonella* sp

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 Mapa do Estado do Rio Grande do Norte e suas mesorregiões.....	39
Figura 2 Distribuição normal dos valores de acidez, utilizando o teste estatístico Shapiro-Wilk.....	51
Figura 3 Distribuição normal dos valores de açúcares redutores, utilizando o teste estatístico Shapiro-Wilk.....	52
Figura 4 Teste de Correlação de Spearman entre as variáveis açúcar reduzido e acidez,	53
Figura 5 Correlação da variável LUND com a variável adição de açúcar comercial em amostras de mel comercial.....	69
Figura 6 Correlação da variável LUND com a variável adição de glucose de milho comercial em amostras de mel comercial.....	70
Figura 7: Classificação da concordância segundo coeficiente <i>Kappa</i>	70

LISTAS DETABELAS

Tabela1: Exportação de mel por estado mês de janeiro a março 2010 e 2011.....	17
Tabela2: Valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais para méis produzidos por abelhas melíferas:.....	19
Tabela 3: Valores médios e intervalos de confiança encontrados nas análises físico-químicas das 90 amostras de méis produzidos por <i>Apis mellifera</i> na região Leste do Nordeste do Brasil comparada com os valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais.....	49
Tabela 4: Apresentação dos valores de correlação para variáveis físico-químicas nos méis da região Oeste do Rio Grande do Norte.....	50
Tabela 5: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “açúcar comercial” para a realização do teste de LUND.....	65
Tabela 6: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “glucose de milho” para a realização do teste de LUND.....	66
Tabela 7: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “Açúcar comercial” para a realização do teste de LUGOL.....	68
Tabela 8: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “Glucose de milho” para a realização do teste de LUGOL.....	68
Tabela 9: Concentrações de adulterantes aplicados no mel de <i>Apis mellifera</i> com os testes de adulteração e seus resultados verificados em mel da região semi-árida do nordeste do Brasil.....	69
Tabela 10: Concentrações de adulterantes aplicados no mel de <i>Apis mellifera</i> com os testes de adulteração e seus resultados verificados em mel da região semi-árida do nordeste do Brasil.....	70
Tabela 11: Valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais para méis produzidos por abelhas melíferas:	79
Tabela 12: Apresentação dos valores obtidos nas análises microbiológicas para bolores e leveduras e para coliformes totais e termotolerantes:.....	86
Tabela 13- Estatística descritiva para variáveis microbiológicas.....	87
Tabela 14- Valores de correlação entre as variáveis microbiológicas e físico-químicas.....	88

ABREVIATURAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

AW – Atividade de água

CAC - Codex Alimentarius Commission

CETEC - Centro Tecnológico de Apicultura do Rio Grande do Norte

CODEX - Alimentarius Standard

CT – Coliformes Totais

CTT– Coliformes Termotolerantes

EC- *Escherichia coli*

HMF – Hidroximetilfurfural

IAL – Instituto Adolfo Lutz

IDEMA - Instituto de desenvolvimento sustentável e meio ambiente do RN

LIPOA- Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal

LST- Caldo Lauril Sulfato Triptose

MAPA – Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

NMP – Número Mais Provável

pH – Potencial Hidrogeniônico

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFERSA – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

SUMÁRIO

Sumário

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	15
1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REGIÃO SEMI-ÁRIDA.....	16
1.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MEL	17
1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS E QUALITATIVAS DO MEL DE ABELHAS.....	19
1.4 FRAUDES NOS MÉIS DE ABELHA.....	25
1.5 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO MEL DE ABELHAS	26
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO 2 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUALITATIVAS DO MEL DE ABELHA (<i>Apis mellífera</i> L.) PRODUZIDO NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, NORDESTE DO BRASIL.	35
2.1 INTRODUÇÃO.....	37
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.2.1 Considerações sobre o local de estudo	39
2.2.2 Obtenção das amostras	40
2.2.3 Descrição das metodologias de análises físico - químicas e qualitativas realizadas nas amostras de mel.	41
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
2.3.1- Estatística dos resultados:	49
2.4- CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIA	55
CAPÍTULO 3 - Utilização dos testes Lund e Lugol na detecção da adulteração em amostras de méis de <i>Apis mellifera</i> L.	58
3.1 INTRODUÇÃO.....	60
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
3.4 CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIA	72
CAPÍTULO 4 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE MÉIS DE ABELHAS <i>Apis mellifera</i> L. PRODUZIDOS NO LESTE/RN – BRASIL.	75
4.1 INTRODUÇÃO.....	77
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	81
4.2.1 Obtenção das amostras	81
4.2.2 As análises microbiológicas realizadas nas amostras de mel	81
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
4.4 CONCLUSÃO.....	89

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

O mel é definido como 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 (MAPA-BRASIL, 2000). Já para Crane (1985) o mel é o resultado da desidratação e transformação do néctar das flores das plantas pelas abelhas, sendo de fundamental importância a caracterização dos méis visando à criação de padrões, segundo fatores edafoclimáticos e florísticos das regiões, estabelecendo critérios comparativos nas análises, e controlando possíveis fraudes desse produto.

São conhecidas cerca de vinte mil espécies de abelhas, distribuídas praticamente por toda parte do mundo, em especial onde ocorram plantas angiospermas (Plantas produtoras de flores) cujo número de espécies é estimado em mais de 225 mil, dessas, boa parte atuam como plantas de interesse apícola, pois suas flores visitadas regularmente por abelhas melíferas na busca de pólen e néctar para fabricação do mel (ALMEIDA, 2007).

A apicultura é uma atividade de grande importância, pois apresenta uma alternativa de ocupação e renda para o homem do campo. É uma atividade de fácil manutenção e de baixo custo inicial em relação às demais atividades agropecuárias. O mel é considerado o produto apícola mais fácil de ser explorado, sendo também o mais conhecido e aquele com maiores possibilidades de comercialização. Além de ser um alimento, é também utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas, pelas suas conhecidas ações terapêuticas (FREITAS; KHAN; SILVA; 2004).

Os produtos apícolas são sensíveis às contaminações ambientais, pois o néctar e o pólen são oriundos das flores que estão permanentemente expostas às mais diversas fontes poluidoras. Constata-se hoje, em diversos países, a contaminação de produtos apícolas principalmente por inseticidas e metais pesados. Este risco potencial à saúde humana tem levado os órgãos de controle de qualidade de alimentos a um permanente estado de vigilância quanto à qualidade dos méis que são postos nos mercados consumidores. Segundo Pereira, 2010 e estudos que caracterizem os méis das mais distintas localidades de produção são importantes para a formação de um banco de dados que possibilite estabelecer padrões que sirvam de referência

para se inferir sobre aspectos de qualidade de tais produtos e, desse modo, proteger o consumidor contra produtos contaminados ou adulterados (Pereira, 2010).

Por conseguinte, o objetivo do presente trabalho foi analisar as características físicas (umidade, atividade de água, sólidos insolúveis e cinzas); químicas (acidez livre, açúcares redutores e sacarose); testes qualitativos (teste de lugol, fermento diastásico, HMF e prova de Lund) e microbiológicos (coliformes, *Salmonella*, bolores e leveduras) de amostras de mel de *Apis mellifera* da mesorregião Leste do Rio Grande do Norte, região Nordeste do Brasil, para diagnosticar se cumprem especificações de qualidade determinadas por órgãos fiscalizadores nacionais e internacionais.

1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REGIÃO SEMI-ÁRIDA

O Estado do Rio Grande do Norte está localizado no hemisfério sul ocidental, e seus pontos extremos são limitados pelos paralelos de 4° 49'53" e 6° 58'57" de latitude sul e pelos meridianos de 34° 58'03" e 38° 36'12" de longitude oeste de Greenwich. Por sua localização próxima ao Equador, o clima é semi-árido dominante, de forma quase contínua; todo o interior do Estado e parte do Litoral são caracterizados por sua baixa precipitação pluviométrica, em torno de 400 a 600 mm por ano, com chuvas distribuídas nos meses de janeiro a abril. A temperatura média anual do Estado está em torno de 25,5°C, com máxima de 31,3°C e mínima de 21,1°C; a umidade relativa do ar apresenta uma variação média anual entre 59 e 76%. São regiões sujeitas à seca e com maior influência dos ventos alísios secos do Nordeste, que incidem no Litoral Norte e se interiorizam pelo território potiguar. A vegetação é composta de espécies xerófilas e na sua maioria caducifólias, de porte pequeno, com estratificação arbórea arbustiva, espinhenta e, por ocasião das chuvas, apresenta um estrato herbáceo bastante desenvolvido, é a vegetação mais característica do Estado que é caatinga (RIO GRANDE DO NORTE, 2002).

A região Leste se destaca das outras regiões do estado por está inserida na costa potiguar o que lhe confere clima, umidade, precipitação pluviométrica, ventos, e vegetação diferenciada do interior do estado, tais características podem influenciar positiva ou negativamente na forma de produção e armazenamento do mel de *Apis*, uma vez que as condições ambientais interferem nas características do mel. O fato da mesorregião leste está voltada para o oceano, também influencia positivamente na economia, uma vez que o principal método de exportação do

produto é através de navios cargueiros, que transportam os mais variados tipos de produtos para países da Europa e da América do Norte.

1.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MEL

Para Oliveira (2006) o Brasil é uma potência que desperta e começa a desenvolver sua potencialidade de produção de mel. Produzido na vasta mata silvestre abundante no país, o mel é cultivado de modo selvagem e beneficiado de forma profissional, proporcionando qualidade muito próxima do mel orgânico. A flora nativa é diversificada somando qualidades particulares que o tornam um mel de alto valor no mercado. Apesar de sua extensa e diversificada flora, só recentemente o país está deixando sua tradicional apicultura artesanal voltada exclusivamente para seu mercado interno, para ingressar numa apicultura empresarial e produtiva. A sua mata nativa serve de matéria prima para a produção da própolis e está sendo utilizado a para um grande projeto de produção de mel convencional e mel orgânico.

Este avanço da apicultura brasileira com destaque para região do Rio Grande do norte pode ser observado na tabela 1,mostrando que em março de 2011 o maior exportador foi São Paulo, com US\$ 2.458.714,00. O segundo maior exportador foi o Rio Grande do Sul, com US\$ 2.131.670,00. O Piauí ficou em terceiro lugar, com US\$ 1.431.256,00. O Ceará foi o quarto maior exportador, com US\$ 990.219,00 e o sétimo foi o Rio Grande do Norte (US\$ 218.960,00).

Tabela02-Exportação de mel por estado mês de janeiro a março 2010 e 2011:

Estado	Ano de 2010			Anos de 2011			2011/2010	
	US\$	Kg	US\$/Kg	US\$	Kg	US\$/Kg	US\$	Kg
BA				237.153	71.535	3.32		
CE	2.277.854	761.520	2.99	1.805.441	521.481	3.46	-20,74	-31,52
MA	106.255	36.830	2.89					
MG	102.657	37.625	2.73	177.185	57.011	3,11	72,60	51,52
MS				741	96	7.72		
MT				29.640	10.545	2.81		
PI	1.615.469	587.115	2.75	2.214.801	681.754	3.25	37,10	16,12
PR	820.273	273.630	3.00	1.919.853	558.760	3.44	134,05	104,20
RJ				10.897	110	99.06		
RN	507.412	207.941	2.44	327.488	114.240	2.87	-35,46	15,06
RS	3.619.763	1.268.164	2.85	4.152.373	1.326.009	3.13	14,71	4,56
SC	1.678.506	569.593	2.95	707.291	215.237	3.29	-57,86	-62,21
SP	2.672.046	959.079	2.79	5.054.348	1.518.684	3.33	89,16	58,35
Consumo de Bordo				1.173.722	334.320	3.51		
TOTAL	13.400.235	4.701.497	2,85	17.810.933	5.409.782	3,29	32,92	15,07

Fonte: SEBRAE-UAGRO- julho de 2011.

Favero e Alves (2010) justificam e destacam que a produção de mel do Estado de São Paulo vista hoje como a maior do país, por apresentar o maior entreposto de comercialização de mel com volume de vendas bem superior ao da produção própria. Segundo os mesmos autores traders e empresas estabelecidas no Estado adquirem o produto em todo o país, em particular no Piauí e Ceará, e realizam a exportação. Outro fator responsável pelo bom desempenho paulista é a melhor estrutura da atividade apícola e melhores condições de logística em geral. A produção do Rio Grande do Norte não deve ser avaliada pelo volume de exportações pois em conversa com produtores e empresas exportadoras, que juntos respondem por boa parte da produção do Estado, o maior volume de mel é escoado para portos de outros estados, como o de Fortaleza no Ceará, que apresenta tarifas portuárias e alfandegárias mais baratas. Devido a essa peculiaridade as exportações não retratam o volume de mel produzido no Estado, devendo-se ter outros instrumentos avaliativos para quantificar a produção.

No mercado interno do Rio Grande do Norte, o mel está sendo incluído na merenda escolar de 45 mil estudantes das redes pública estadual e municipal de ensino dos municípios do Alto Oeste. A iniciativa beneficiou 50 pequenos produtores. Desde 2003 os apicultores potiguares contam com o apoio do Governo do Estado, por meio do Programa de Desenvolvimento Solidário, que garantiu investimentos de mais de R\$ 2 milhões na apicultura do Rio Grande do Norte. Organizados em 70 associações, os apicultores receberam financiamentos para a construção de 63 Casas do Mel, além de um entreposto em Mossoró. A decisão de investir na formação de apicultores surgiu a partir de um diagnóstico da cadeia produtiva do mel no estado, realizado em 2002, pelo SEBRAE e pela Embrapa. O estudo revelou que, apesar do forte potencial apícola, a atividade se encontrava desorganizada. Grande parte do mel era produzida de forma extrativista, com o uso de técnicas primitivas e com a derrubada de árvores e queimadas (SEBRAE-UAGRO, 2010).

Mesquita(2010) em sua dissertação de mestrado sugere que deve existir incentivo à profissionalização, desses apicultores, tanto por instituições públicas e privadas, com destaque para o SEBRAE e as universidades.Outro ponto importante que a autora elucida é a aprovação por parte dos governos de um programa para apoiar o desenvolvimento da apicultura e a importância da realização de estudos, pesquisas, diagnóstica e cursos de capacitação de técnicos, gerentes e apicultores, viagens de intercâmbios e participação em congressos e outros evento, no intuito de alavancar e fortalece a apicultura emergente deste estado, bem como proporcionar um melhor controle da qualidade do mel, com a aplicação das boas práticas.

1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS E QUALITATIVAS DO MEL DE ABELHAS.

A composição química do mel depende, em grande parte, das espécies vegetais visitadas pelas abelhas, natureza do solo, raça das abelhas e condições climáticas. Levando-se em conta a grande variedade do clima e da flora encontradas no Brasil, a produção de mel e sua composição merecem atenção. Características físico-químicas, tais como, consistência, cor, odor, sabor e aromas, geralmente se mantêm constantes e ocorrem somente em méis chamados monoflorais ou uniflorais, isto é, aqueles procedentes do néctar de uma espécie vegetal predominante, por exemplo, mel de laranjeiras, mel de eucalipto, etc. (LIANDA; CASTRO, 2008).

A legislação brasileira (MAPA - 2000) define os padrões para o mel de abelhas melíferas, estabelecendo os requisitos mínimos de qualidade que o mel floral destinado ao consumo humano deve possuir: açúcares redutores mínimo de $65\text{ g }100\text{ g}^{-1}$, umidade máxima de $20\text{ g }100\text{ g}^{-1}$; sacarose aparente para o máximo de $6\text{ g }100\text{ g}^{-1}$; sólidos insolúveis em água máximo de $0,1\text{ g }100\text{ g}^{-1}$; minerais (cinzas) máximo de $0,6\text{ g }100\text{ g}^{-1}$. Em relação à deterioração, o mel não deve ter indícios de fermentação, apresentar acidez máxima de 50 mil equivalentes por quilograma, teor de hidroximetilfurfural máximo de 60 mg.kg^{-1} ; a cor é variável de quase incolor a pardo-escuro. Existem ainda outros padrões que são utilizados pelo Brasil e por outros países associados, tais como o MERCOSUL e o CODEX ALIMENTARIUS, como pode-se observar na tabela 02, abaixo.

Tabela 02-Valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais para méis produzidos por abelhas melíferas:

Físico-Química. e Qualitativo.	Tolerância	MAPA	MERCOSUL	CODEX
Umidade (%)	Máximo	20	20	20
Açúcares. Redutores (g/100g)	Mínimo	65	65	60
Sacarose (g/100g)	Máximo	6	5	5
Sólidos Insolúveis (%)	Máximo	0,1	0,1	0,1
Cinzas (g/100g)	Máximo	0,6	0,6	0,6

Acidez (mEq/Kg)	Máximo	50	40	50
HMF (mg/kg)	Máximo	60	40	40
Atividade Diastásica	Negativo	-	-	-
Lund	Negativo	-	-	-
Lugol	Negativo	-	-	-

A qualidade do mel de abelhas *Apis mellífera* L. é determinada principalmente pelas características químicas, físicas e microbiológicas. Nos últimos anos, a caracterização do mel por meio das características citadas recebeu uma crescente atenção (Conti, 2000; Komatsu et al., 2002; Azeredo et. al., 2003; Terrab et. al., 2004; Barth et. al., 2005; Corbella; Cozzolino, 2006 e Zamora; Chirife, 2006).

Internacionalmente, os critérios de qualidade do mel estão especificados nos órgãos reguladores, compilados em um dos Codex Alimentarius Standard (2001). Regionalmente, o mel comercializado no Brasil deve estar adequado com o que é descrito pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel contido na Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, Brasil (MAPA - 2000); os padrões para a comercialização na América Latina são estabelecidos pelo MERCOSUL (GMC 89/99).

Fatores como: condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento, além do tipo de florada, interferem na qualidade do mel por causarem variações na sua composição física e química (Silva et. al., 2004). Nesse sentido, a caracterização do mel de abelhas melíferas proveniente de floradas é importante como parte de uma estratégia de valorização desse produto, de sua identidade regional, podendo agregar valor ao mesmo (BENDINI; SOUZA, 2008).

Mesmo após a colheita, o mel continua sofrendo modificações físicas, químicas e organolépticas, que gera a necessidade de produzi-lo dentro de níveis elevados de qualidade, controlando todas as etapas de seu processamento (Araujo et. al., 2006).

Várias análises são aplicadas ao mel no intuito de testar sua qualidade e legitimidade (mel sem adulterantes):

1.3.1- Lugol e Atividade diastásica:

Os testes qualitativos de Lugol e atividade diastásica são importantes ferramentas de diagnóstico da qualidade do mel. O teste de Lugol é um critério adotado e é positivo quando a coloração se apresentar na cor vermelha ou violeta, isso se dá quando tem açúcar comercial no mel, a intensidade da cor irá depender da qualidade e quantidade de dextrinas presentes no açúcar comercial e negativo quando não houver mudança na coloração. Quanto à atividade diastásica, o princípio do método fundamenta-se na hidrólise do amido pela ação das amilases existentes no mel. O critério adotado é de negativo quando a cor for castanho claro a castanho esverdeado ou verde oliva, nessas condições o mel está natural. E de positivo quando apresentar coloração azul, indicando que o mel foi adulterado (IAL, 2005).

1.3.2- Lund:

Outro teste qualitativo importante é o teste de Lund onde deve apresentar depósitos de proteínas, após 24 horas em repouso, variando entre 0,6 a 3,0 ml. Os valores de máximo e mínimo encontrados para proteína no trabalho de Mesquita (2010) com méis produzidos na região semi-árida do Oeste do estado do Rio Grande do Norte (Nordeste, Brasil) tiveram valores entre 1,31 - 1,45 g. cm⁻¹, próximos ao encontrado por Ouchemoukh; Louaileche; Schweitzer (2007) que variam 1,4009 – 1,4505 g. cm⁻¹. Para amostras de méis silvestres, o valor médio foi de 0,166%, (ARRUDA ET AL., 2004). Os valores de proteínas relatados para méis são bastante variados, não ultrapassam 1,00% (MENDONÇA ET AL., 2008). Embora a legislação brasileira não exija a análise de material protéico, este parâmetro pode ser utilizado na detecção de adulteração do mel (CRANE, 1985).

1.3.3- Hidroximetilfurfural (HMF):

Um importante parâmetro de qualidade dos méis de abelha é o HMF, onde é fortemente influenciado por fatores ambientais de variação de temperatura que explica alterações no HMF dos méis, o HMF é um parâmetro de qualidade determinante no preço a ser pago ao mel e existem duas hipóteses para explicar o alto índice de HMF no mel: ou os méis são aquecidos, o que teria provocado formação do HMF, ou o mel foi armazenado por um tempo mais longo em ambiente com alta temperatura, uma vez que o HMF é um indicador de superaquecimento, armazenamento prolongado ou adulteração com açúcar invertido (MORETI, ET AL. 2009). Além desses fatores o HMF também pode ser afetado pela acidez, pH, conteúdo de água e sais minerais (WHITE, 1976 apud. SOUZA et. al., 2009).

Mesquita (2010) concluiu, sobre o HMF em seu trabalho, ser possível verificar que as amostras de méis da região semi-árida brasileira apresentaram adequado conteúdo de HMF, indicando o uso de boas práticas pelos apicultores. Para alguns autores, regiões de clima semi-árido podem ter valores elevados de HMF naturalmente, mesmo que o mel não tenha sido superaquecido ou adulterado, devido às altas temperaturas que este alimento irá ser exposto no ambiente, no entanto, é essencial quantificar este componente, a fim de verificar a qualidade do produto, uma vez que o mel mesmo em condições adversas mantém uma alta qualidade.

1.3.4- Acidez:

A acidez total acentuada e a quantidade de aminoácidos, ou seja, os teores de proteínas (Lund) relativamente altos possam, juntamente com outros parâmetros, como o polínico e sensorial, ser características importantes na denominação da origem geográfica deste mel (BENDINI; SOUZA, 2008). Os métodos para a determinação da acidez livre podem ser por titulação com hidróxido de sódio com o eletrodo inserido na solução de mel titulando até alcançar o pH 8.3 ou uma equivalência ao ponto de viragem (BOGDANOV et. al., 1999). A acidez fornece um dado valioso na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício, pois no processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, a concentração dos íons de hidrogênio, apresenta-se quase sempre alterada, revelando assim, na medição dessa concentração, seu estado atual de conservação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL, 2005).

1.3.5- Cinzas:

Barthet et. al., (2005) constatou que em seu trabalho a maioria das amostras analisadas estão dentro dos limites fixados pela legislação brasileira para o valor de cinzas e apenas algumas das amostras analisadas possuem valor acima do que é determinado na legislação, o autor descreve que estas amostras referem-se ao mel de melato, que é um mel escuro, sendo méis com riquezas minerais e conseqüentemente maior teor de cinzas. O teor de cinzas é obtido por calcinação das amostras de mel, a 600°C, em mufla, até a obtenção de uma massa constante (MACHINE et. al., 2004). A porcentagem de cinzas presente no mel expressa a riqueza do material mineral, e se constitui em parâmetro bastante utilizado nas determinações que visam verificar a qualidade do mel (MACHINE et. al., 2005).

1.3.6- Umidade:

No que diz respeito a composição do mel, a água constitui o segundo componente em quantidade, podendo apresentar variações entre 15 e 21%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação. O conteúdo de água no mel é, sem dúvida, uma das características mais importantes, por influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (SEEMANN E NEIRA, 1988 apud MARCHINI et. al., 2004 in MENDES et. al., 2009).

A umidade é um parâmetro relacionado com a capacidade de deterioração do mel, ou seja, méis de *Apis mellifera* com teor de umidade superior a 20%, pode proporcionar deterioração do produto e facilidade de entrar em cristalização, diminuindo o seu tempo de prateleira e consequentemente diminuição do valor de mercado. Em méis coletados no Piauí-PI nordeste do Brasil no trabalho de Silva et. al. (2004) apenas uma amostra não apresentou teor superior a 18% mas, dentre as amostras com percentuais de umidade maior que 18%, três foram coletadas nos meses de janeiro a abril, período em que se concentram as chuvas na região de coleta das amostras. É provável que os méis produzidos durante a época chuvosa apresentem maior umidade em função da saturação do ar e do grande fluxo de néctar que ocorre logo após as chuvas. Já Moreti et. al., (2009) possui outra justificativa para as amostras de mel de abelha que ultrapassaram o limite máximo permitido pela legislação brasileira de 20%, desclassificando-as como mel de mesa. Provavelmente, os méis tenham sido colhidos antes da operculação total dos favos, o que explicaria a alta umidade do produto final.

1.3.7- Atividade de Água:

A determinação da atividade de água pode ser realizada pelo emprego do equipamento Testo, modelo 650, à temperatura constante ($24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$), que é um medidor de atividade de água adequado para controle de qualidade em alimentos (TESTO, 2009).

Para Zamora; Chirife; Roldán (2006) a maioria dos méis é uma solução supersaturada por soluções de glicose, esse açúcar pode cristalizar espontaneamente na temperatura ambiente sob a forma de mono-glicose. A cristalização de mel, comumente chamada de granulação, reduz o teor de glicose (soluto) onde razão glicose/água (G/A) é alterada, portanto, aumenta a granulação liberando moléculas de água e aumentando a atividade de água que pode permitir que células de leveduras naturalmente multipliquem-se, causando fermentação do mel. Quase todos os tipos de mel, que se cristalizam no ambiente, formam uma granulação uniforme, enquanto outros vão deixar uma porção líquida no topo e outra granulada mais abaixo

favorecendo a multiplicação de microorganismos.

O mel é uma solução concentrada de dois monossacarídeos: D-frutose e D-glicose. Para entender a origem desses monossacarídeos nos méis florais é necessário conhecer a composição dos glicídios do néctar. Geralmente, as abelhas preferem coletar o néctar como matéria-prima, utilizando outras fontes no período de baixa disponibilidade de néctar, um exemplo de mel produzido pelas abelhas ou outros insetos utilizando outras fontes de açúcares da planta que não é o néctar é o mel de Melato: é o mel obtido principalmente a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (MAPA-BRASIL, 2000). Os méis de melato só apresentam valor de mercado na Europa Central; em outras regiões são considerados inferiores, do ponto de vista estético, aos méis florais (MOREIRA; DE MARIA, 2001). Para estes autores o mel é considerado maduro quando, geralmente, possui mais do que 50% dos opérculos totalmente fechados e o conteúdo de umidade e sacarose, geralmente, não excede a 18% e 5%, respectivamente. Os dados obtidos no trabalho Barthet al., 2005 para o teor de açúcares redutores foi de 67,4 a 83,2% e o de dissacarídeos e oligossacarídeos de zero a 23%. A glicose, por exemplo, é o monossacarídeo responsável pela granulação do mel. O maior problema resultante dessa precipitação de glicose é o aumento do teor de umidade propiciando a deterioração do mel (ZAMORA E CHIRIFE, 2006).

1.3.8- Sólidos Insolúveis:

O teor de sólidos insolúveis em água e em méis é considerado no controle de qualidade como um índice de pureza, de acordo com a legislação vigente estabelecida pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000); quanto aos aspectos macroscópicos e microscópicos, o mel deve ser isento de substâncias estranhas de qualquer natureza, tais como: insetos, larvas, grãos de areia e outros. Para Mendes et. al., (1998) o teor de sólidos insolúveis em água, é uma fração de partículas em suspensão que representa cera e/ou insetos detritos vegetais e no mel.

1.3.9- Açúcares Redutores:

Os principais componentes do mel são a água e os açúcares, sendo os monossacarídeos frutose e glicose os principais representantes com 80% e os dissacarídeos sacarose e maltose correspondendo com 10% da quantidade total (WHITE, 1975). Campos considera que os diferentes teores desses açúcares podem provocar alterações físicas como viscosidade, densidade, higroscopicidade e cristalização no mel (CAMPOS, 1987).

Normalmente a frutose é predominante, sendo um dos fatores responsáveis pela doçura do mel e sua alta higroscopicidade (CRANE, 1985). Para Horn os méis com altas taxas de frutose podem permanecer líquidos por longos períodos ou nunca cristalizar (HORN, 1996).

1.3.10- Sacarose:

O teor elevado deste açúcar significa, na maioria das vezes, uma colheita prematura do mel, isto é, um produto em que a sacarose ainda não foi totalmente transformada em glicose e frutose pela ação da invertase (AZEREDO et. al., 1999). A concentração de sacarose constitui um bom critério para diferenciar os méis monoflorais dos poliflorais (CARILLO MAGANA, 1998).

1.4 FRAUDES NOS MÉIS DE ABELHA

Para Bogdanov, (2004) a autenticidade do mel de abelhas, é uma grande preocupação no intuito de garantir a qualidade do mel e que essa autenticidade possua uma relação direta com os requisitos legais de qualidade. De acordo esse mesmo autor a definição do Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 2001) e outras normas internacionais referentes à qualidade do mel (2001/110/CE, do Conselho da EU, 2002) o mel não deve ter nenhum ingrediente alimentar (adulterante) e nem deve ter nenhum constituinte removido dele, com exceção de galhos, areia, restos de insetos, ou similares, ou seja, o mel não deverá ter qualquer matéria indesejável, aroma, sabor ou odor e matéria estranha adicionado durante o processamento e armazenamento. O mel não deve ter começado a fermentar ou efervescer. Nem o pólen ou outro componente especial ao mel pode ser removido, exceto quando tal for inevitável a remoção. Um exemplo disso é na hora da filtração do mel onde partículas inorgânicas (areia e cerrapilho madeiras entre outros) e orgânicas (cera de abelha e pedaços dos insetos entre outros) estranhas a composição do mel são filtradas para evitar a deterioração do produto quando armazenado. O mel não deve ser aquecido ou transformado a tal medida em que a sua composição essencial seja alterada e ou a sua qualidade prejudicada.

Sendo um produto natural, de sabor muito palatável e de um preço relativamente alto, o mel tem sido alvo de adulterações. Os seguintes açúcares já foram detectados em méis adulterados: xaropes de açúcar invertido, melaço e enzimas a partir do milho, cana de açúcar, beterraba sacarina e xaropes de origem natural, como “Maple Tree” (xarope de *Acer saccharum* ou xarope de bordo). Recentemente, tem havido um problema de grandes adulterações,

Predominantemente sobre mel do extremo Oriente (WHITE, 2000). Segundo o mesmo autor a adição de alimentação artificial a base de adoçantes na alimentação das abelhas durante a falta de flores e consequentemente escassez de néctar, pode funcionar como um promovedor de adulteração do mel.

Existem alguns testes que são utilizados como ferramentas para averiguar a autenticidade dos méis de abelha, como análises microscópicas, físico-químicas e organolépticas, análise de pólen, determinação da umidade, HMF, teste de lugol, fermento diastásico, açúcar redutor, condutividade elétrica e Lund são usados para controle da qualidade em análises de rotina de mel. Eles são adequados para uso como ferramentas de triagem para detectar méis adulterados, outra técnica seria a análise da relação de carbono isótopo estável. Atualmente a determinação de cada parâmetro exige a utilização de métodos de análises em sua maioria demorados. No futuro os parâmetros de rotina para controle de qualidade do mel poderão ser medidos em minutos por espectroscopia de infravermelho (LICHTENBERG-KRAAG et. al., 2002).

A autenticidade do mel tem dois aspectos diferentes: Autenticidade em relação à produção de mele autenticidade em relação a descrições como origem geográfica, botânica e físico-química. Examinar as questões de autenticidade e diferentes métodos utilizados para provar a legitimidade do mel, a fim de permitir um teste de autenticidade de sucesso, é uma importante ferramenta que evidenciará a qualidade do mel (BOGDANOV, 2002).

1.5 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO MEL DE ABELHAS

Novas tecnologias de uso do mel estão ampliando as oportunidades de mercado. No entanto, novos requisitos microbiológicos relacionados à qualidade e segurança podem ser associados com essas oportunidades. Uma compreensão mais abrangente das características microbiológicas do mel é necessária, para que o mel seja utilizado em novas formas de consumo (SNOWDON; CLIVERB, 1996).

É comum encontrar variações nas características, dos méis tendo em vista que variados fatores interferem na sua qualidade, como condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento, além do tipo de florada (SILVA; QUEIROZ; FIGUEIREDO, 2004).

Os microorganismos de interesse para a indústria de processamento de mel são aqueles que resistem às altas concentrações de açúcar, acidez, baixa atividade de água. Estes microorganismos podem ser colocados em duas categorias: a primeira categoria

microorganismos que são comumente encontrados no mel (certas estirpes de leveduras e bactérias formadoras de esporos), a segunda categoria são os microorganismos capazes de indicar a qualidade sanitária e comercial (coliformes ou leveduras), estes poderiam causar doenças aos consumidores (Snowdon; Cliverb, 1996). Estes autores também descrevem as prováveis fontes primárias e secundárias de contaminação microbiana do mel que são:

1.5.1- Fontes primárias de contaminação:

As fontes primárias de contaminação microbiana do mel incluem o pólen, o trato digestivo das abelhas melíferas que possuem fungos responsáveis pela digestão das abelhas (*Penicillium e Mucor*), poeira, ar, terra e flores.

1.5.2- Fontes secundárias de contaminação:

As fontes secundárias de micróbios no mel são susceptíveis a serem as mesmas que para outros alimentos. Possíveis rotas de transmissão em mel extraído incluiriam ar (na casa de mel ou quando o mel está sendo embalado), manipuladores de alimentos (a partir de infecções cutâneas, espirros ou contaminação fecal), contaminação cruzada (em grande parte de animais ou produtos de origem animal), e equipamentos (incluindo os resíduos de comida e água). Pisos e paredes também podem ser reservatórios de micróbios que entram nos alimentos. Milhares de UFC (Unidade Formadora de Colônia) de micróbios vegetativo (que não são esperados no mel e não pode crescer em mel) por grama pode indicar recente contaminação do mel por meio de uma fonte secundária. As fontes secundárias de contaminação são controladas por padrão e saneamento nas boas práticas de fabricação. Numerosos textos e manuais foram escritos sobre este assunto. Estas medidas de controle foram desenvolvidas pelos alimentos processados, produtos da indústria e também são aplicáveis aos produtos que recebem pouco ou nenhum processamento.

1.5.3- Os microorganismos:

1.5.3.1- Bolores e leveduras:

Fisiologicamente, bolores e leveduras adaptam-se a sobrecargas mais severas que a maioria dos microrganismos, podendo crescer em substratos com concentrações de açúcares intoleráveis para as bactérias, já que não são tão sensíveis às altas pressões osmóticas. Podem também tolerar e crescer em concentrações altas de ácidos, suportando variações de pH entre 2 e

9, embora o ótimo para a maioria das espécies esteja situado em torno de 5,6 (LACAZ-RUIZ, 2000).

Martins *et. al.* (2003), realizaram um estudo utilizando 80 amostras de mel multifloral colhidas aleatoriamente do comércio na cidade de Lisboa e identificou três gêneros de bolores: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Mucor*. Estas espécies são potencialmente patogênicas e a contaminação por toxinas (micotoxinas) constituem um perigo a saúde humana.

As leveduras podem estar envolvidas em atividades de deterioração do mel pela produção de enzimas, produção de toxinas, conversão metabólica do alimento, produção de fatores inibitórios para microrganismos competidores, além disso o mel com contagem elevada de leveduras não é palatável nem vendável o que tem repercussões desfavoráveis economicamente. (ALMEIDA, 2010).

A fermentação é o maior problema relacionado com a presença de bolores e leveduras é pois resulta do consumo dos açúcares pelas leveduras, com produção de vários subprodutos que podem alterar o paladar e o aroma do mel. Os fungos são trazidos pelas abelhas para a colméia, grudados em seu corpo, sendo o seu habitat normal os nectários das flores. Muitos deles não sobrevivem quando se eleva a concentração dos açúcares à medida que o néctar é transformado em mel, mas outros podem resistir e se multiplicar (HOOPER, 1976).

1.5.3.2- Coliformes:

O grupo coliforme, encontrado com maior abundância são os coliformes a 35°C (coliformes totais), compostos por bactérias gram-negativas não esporuladas, fermentadoras de lactose, com produção de ácido e gás em faixa de temperatura que varia entre 32° e 37°C. Por sua vez, os coliformes a 45°C (coliformes fecais) constituem um subgrupo dos coliformes totais, cujo habitat natural é o trato intestinal dos animais homeotérmicos e que, do ponto de vista sanitário, funcionam como indicadores capazes de evidenciar com uma maior probabilidade que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal (SILVA *et. al.*, 2007).

Para White Júnior os microorganismos podem estar presentes e serem transportados no próprio nos corpos das abelhas, ou estar no néctar, no solo, nas áreas de extração e ainda encontradas durante o armazenamento do mel (WHITE JÚNIOR, 1978). A simples presença de *E. coli* em uma amostra de mel, de acordo com BRASIL, (2000), desqualifica o mel para consumo humano. Abreu *et. al.* (2005), trabalhando com amostras de mel não inspecionados no Estado do Rio de Janeiro, observaram presença de coliformes a 35°C, estando impróprio para o consumo. A presença de enterobactérias totais no mel é indício de contaminação fecal originada de condições deficientes de extração e beneficiamento e da própria comercialização

(SALAMANCA et. al., 2001). Além disso, segundo Oliveira, (2003), algumas bactérias como a *Escherichia coli*, podem gerar toxinas termorresistentes, o que representa um risco considerável à saúde pública (Oliveira, 2003).

Bogdanov, (2006) descreve de forma bem clara a importância do conhecimento das fontes de contaminação do mel e a importância da prevenção dessas fontes; para este autor o mel é um dos produtos apícolas que têm a imagem de ser natural saudável e limpo. No entanto, produtos da abelha são hoje produzidos em um ambiente, poluído por diferentes fontes de contaminação. No passado recente, as notícias sobre "O mel contaminado" foi distribuído pelos meios de comunicação de massa. Os exemplos mais recentes foram as notícias sobre méis contaminados com antibióticos. Essas mensagens prejudicam a imagem do bom mel. Assim, é de extrema importância para os apicultores localizar e excluir as diferentes fontes de contaminação.

REFERÊNCIAS

- ABREU B. X., ROMANO V. P., RISTOW A. M. & CAVALLO E. G. 2005. Avaliação microbiológica de méis não inspecionados no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar** 19 (128): 109-112.
- ALMEIDA, C. M. V. de B. **Detecção de contaminantes no mel**. Dissertação (mestrado)- - Faculdade de Medicina Veterinária. 94 p. Lisboa. 2010.
- ARAÚJO, D. R.; SILVA, R. H. D; SOUSA, J. S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade do Crato, CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 51-55, 2006.
- ARRUDA, C.M. F. DE; MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. DA S.; MORETI, A. C. DE C. C. Características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará. **Boletim da Indústria Animal**, v.61, n.2, p.141-150, 2004.
- AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.
- AZEREDO, L. DA C.; AZEREDO, M. A. A; SOUZA, S. R. V; DUTRA, M. L. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. **Food Chemistry**. v. 80, n.2, p.249-254, 2003.
- BARTH, M. O.; MAIORINO, C.; BENATTI, A. P. T.; BASTOS, D. H. M. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem Botânica de méis indicados monoflorais do Sudeste do Brasil. **Ciência Tecnologia Alimentar**, n. 25, p.229-233, 2005.
- BENDINI, J. N.; SOUZA, D. C. Caracterização físico-química do mel de abelhas proveniente da florada do cajueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 565-567, mar./abr. 2008.
- BOGDANOV, S. and Ruoff, Kaspar. Authenticity of honey and other bee products. **APIACTA**, v. 38, p.317-327, 2004. Disponível em www.culturaapicola.com.ar/apuntes/miel/26_autenticidad_miel.pdf . Acesso em 20 de maio de 2011.
- BOGDANOV, S.; LULLMANN, C.; MARTIN, P.; OHE, W. von der; RUSSMANN, H.; VORWOHL, G.; PERSANO-ODDO, L.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; PIRO, R.; FLAMINI, C.; MORLOT, M.; LHÉRITIER, J.; BORNECK, R.; MARIOLEAS, P.; TSIGOURI, A.; KERKVLIT, J.; ORTIZ, A.; IVANOV, T.; D'ARCY, B.; MOSSEL, B.; VIT, P. **Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission**. Bee World, Bucks, v. 80, p. 61-69, 1999.
- BRASIL. 2000. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 11, de 20 de outubro/2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. (Available at: <http://www.Agricultura.gov.br/sda/dipoa/anexo>).
- CAMPOS, M.G.R. Contribuição para o estudo do mel, pólen, geleia real e própolis. **Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra**, Coimbra, v.11, n.2, p.17-47, 1987.

CARILLO MAGANA, F.A. **Meliponicultura: el mundo de las abejas nativas de Yucatán**. Mérida, México. 1998.

CODEX ALIMENTARIUS (2001), Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, **Standards and Standard Methods, Volume 11**, disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acessado em 14 Junh. 2009.

CONTI, M. E. Lazio region (central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. **Food Control**. v.11, n.6, p.459-463, 2000.

CORBELLA, E.; COZZOLINO, D. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. **LWT – Food Science and Technology**. v. 39, n.5, p.534-539, 2006.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2. ed. 1 reimpressão. São Paulo: Nobel, 1985. 226p

FAVERO, L. A.; ALVES, R. S. Desenvolvimento Regional Sustentável. Série cadernos de propostas para atuação em cadeias produtivas. Capítulo 5 - **Apicultura**. 52p.2010. Disponível em: [http://www.bb.com.br/docs/pub/inst/dwn/Volume5 Apicultura.pdf](http://www.bb.com.br/docs/pub/inst/dwn/Volume5%20Apicultura.pdf). Acesso em julho 2011.

FLAMINI, C.; MORLOT, M.; LHÉRITIER, J.; BORNECK, R.; MARIOLEAS, P.; TSIGOURI, A.; KERKVLIT, J.; ORTIZ, A.; IVANOV, T.; D'ARCY, B.; MOSSEL, B.; VIT, P. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. **Bee World**, Bucks, v. 80, p. 61-69, 1999.

FREITAS, D. G. F.; KHAN, A. S.; SILVA, L. M. R. Nível tecnológico e rentabilidade de produção de mel de abelha (*Apis mellifera*) no Ceará. **Rev. Econ. Sociol.Rural**, v. 42, n. 1, p. 171-188, 2004.

HOOPER, T. Guia do Apicultor. [S.1]: Publicações Europa-América, 1976, p223-266.

HORN, H. Méis Brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. In: **XI Congresso Brasileiro de Apicultura**, Teresina, PI, 1996. p. 403-429.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. v. 1, 4^aed. Brasília, 2005. 1018p.

KOMATSU, S.; MARCHINI, L. C. e MORETI, A. C. de C. C. Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera* L; 1758 (Hymenoptera, Apidae) no Estado de São Paulo. 2. **Conteúdo de açúcares e de proteína**. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n.2, p. 143-146, 2002.

LACAZ-RUIZ, R. **Manual prático de microbiologia básica**. São Paulo: EDUSP, 2000. 136 p.

LAMAR, F. SEBRAE-UAGRO. Exportações - Preço do mel em março bate recorde de 2011, março de 2010. Disponível em: http://www.sebrae.com.br/setor/apicultura/sobreapicultura/mercado/exportacoes/integra_bia?ident_unico=17600. Acesso em julho 2011.

LIANDA, R. L. P.; CASTRO, R. N. Isolamento e identificação da morina em mel brasileiro de *Apis mellifera*. **Química Nova**. 2008, vol.31, n.6, p. 1472-1475.

LICHTENBERG-KRAAG B., HEDTKE C., BIENEFELD K. Infrared spectroscopy in routine quality analysis of honey. **Apidologie**, v. 33, n.3, p. 327-337, 2002.

MARCHINI, L. C. SODRÉ, G. S. E MORETI, A. C. C. C. et al. **Mel brasileiro**: Composição e Normas. A. S. Pinto, Ribeirão Preto-SP. 2004. p.111.

MARTINS, H.M., MARTINS, M.L., BERNARDO, F.M.A. (2003). *Bacillaceae* spores, Fungi and aflatoxins determination in honey, **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 98, 85-88.

MENDES, C.G.; ALVES DA SILVA, J. B.; MESQUITA, L. X.; BORGES MARACAJÁ, P.. AS ANÁLISES DE MEL: REVISÃO. **Revista Caatinga**, vol. 22, 2009n. 2, p.07-14.

MENDES, E; PROENÇA, E. B; FERREIRA, I. M. P. L. V. O; & FERREIRA M. A. Quality evaluation of Portuguese honey. **Carbohydrate Polymers**. v. 37, n. 3, p. 219–223, 1998.

MENDONÇA, K. ; MARCHINI, L. C.; SOUZA, B. DE A.; ALMEIDA-ANACLETO D. DE; MORETI, A. C. DE C. C.. Caracterização físico-química de amostras de méis produzidas por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1748-1753, set, 2008

MERCOSUL/GMC/RES nº 15/94. Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1994-015.pdf. > Acesso em: 04 fev 2011.

MESQUITA, L. X. DE. **Características de qualidade do mel de abelha (*Apis mellifera* L.) da mesoregião oeste potiguar do estado do Rio Grande do Norte – Mossoró, RN**. 2010. p. 78. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal. Área de concentração: Produção e Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação. Mossoró, RN.

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

MORETI, A. C. de C. C.; SODRE, G. da S.; MARCHINI, L. C.; OTSUK, I. P. Características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. do estado do Ceará, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**. 2009, vol.33, n.1, p. 191-199.

OLIVEIRA C.A.F. de. 2003. Qualidade do leite no processamento de derivados, p. 91-102. In: GERMANO P.M.L. & GERMANO M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2ª ed. Editora Varela, São Paulo.

OLIVEIRA, F. M. J. DE. **Gestão agroindustrial: um estudo sobre o modelo "SEBRAE-RN" de produção de mel de abelha no Rio Grande do Norte- Natal, RN**. 2006. 45p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Natal-RN.

OUCHEMOUKH, S; LOUAILECHE, H; & SCHWEITZER, P. Physico Chemical Characteristics and Pollen Spectrum of Some Algerian Honeys. **Food Control**, v. 18, n. 1, p. 52 – 58, 2007.

PEREIRA, L. L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e *Meliponíneos***. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de

concentração: Entomologia. Piracicaba 2010. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz. 84p.

RIO GRANDE DO NORTE (RN- Estado). Instituto de Defesa do Meio Ambiente (IDEMA). Perfil do Estado do Rio Grande do Norte. Aspectos Físicos. Natal, 2002. 86 p. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/governo/secretarias/idema/perfilm/Aspectos-fisicos.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2010.

SALAMANCA G., ROJAS C.A.H., MORENO G.I. & LUNA A. 2001. Características microbiológicas de lãs mieles tropicales de *Apis mellifera*. Capturado em 21 de Nov. 2007. Online. Disponível na internet http://www.beekeeping.com/_menu_sp/articulos.htm. Acesso em 28 out. 2011.

SEBRAE-UAGRO. Exportações - Considerações sobre a conjuntura do mercado internacional. SEBRAE-UAGRO, março de 2010. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/setor/apicultura/sobre-apicultura/mercado/exportacoes/>. Acesso em maio 2010.

SILVA, C. L. DA; QUEIROZ, A. J. DE M. & FIGUEIREDO, R. M. F. de. Caracterização físico-química de méis produzidos no estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.8, n.2, p.260-265, 2004.

SILVA, C. L. DA; QUEIROZ, A. J. DE M; & FIGUEIRÊDO, R. M. F. DE. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado de Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2/3, p. 260-265, 2004.

SILVA, N. DA; JUNQUEIRA, V. C. A.; JUNQUEIRA, N. F. A.; TANIWAK, M. H.; SANTOS, R. F. S. DOS; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo. Livraria Varela, 2007, Ed. 3ª, p.552.

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

SOUZA, B. DE A.; MARCHINI, L. C.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L. DE; ALVES, OLIVEIRA, R. M. DE. Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (*Apidae: meliponini*) da região nordeste do Brasil: Características físico-químicas. **Química Nova**. 2009, vol.32, n.2, pp. 303-308.

TERRAB, A; RECAMALES, A. F; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. J. Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p. 537-542, 2004.

TESTO. Texto 650 AW - **Water active meter. Operator's Manual**. [S.l.] Testo AG; 2009. p. 36.

WHITE, J.W. Physical characteristics of honey. In: CRANE, E. **Honey a comprehensive survey**. London: Heinemann, 1975. Cap.6, p.207-239.

WHITE JÚNIOR, J. W. Honey. **Advances in Food Research**, v. 22, p.287-374, 1978.

WHITE J.W. Isotoperatio testing of honey: Demystifying the internal standard test, **American Bee Journal**, 140, p.318-321, 2000.

ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. **Food Control**. v. 17, n.1, p. 59–64, 2006.

CAPÍTULO 2 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUALITATIVAS DO MEL DE ABELHA (*Apis mellifera* L.) PRODUZIDO NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, NORDESTE DO BRASIL.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Características físico-químicas e qualitativas do mel de abelha (*Apis mellifera* L.) produzido no Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil.** 2011. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2011.

RESUMO: Foram analisados 90 amostras de mel de *Apis mellifera* L., da Mesorregião Leste Potiguar - RN – Brasil, para verificar se cumprem as especificações determinadas pelas legislações. Para este objetivo, foram analisados parâmetros físico-químicos, através de testes qualitativos, e quantitativos. As amostras utilizadas foram coletadas por uma empresa exportadora de mel do Estado do RN, envasadas e enviadas a UFERSA, em duas alíquotas de 250ml e analisadas 48 horas após cada coleta. As amostras foram coletas e analisadas de janeiro a dezembro de 2009 obtendo-se os seguintes resultados: umidade ($15,23\% \pm 0,56\%$), atividade de água ($0,61 \pm 0,02\%$), sólidos ($0,04 \pm 0,02\%$), cinzas ($0,19 \pm 0,09\%$), acidez ($31,55 \text{ meq/kg} \pm 6,67$), açúcares redutores ($76,61\% \pm 6,22$), sacarose ($4,72\% \pm 0,87$), HMF ($14,16 \text{ mg/kg} \pm 8,86$), Lund ($2,96 \pm 0,99\%$) e atividade diastásica negativa. Os valores de umidade, HMF, açúcares, acidez livre, sólidos insolúveis e cinzas estiveram de acordo com os regulamentos do BRASIL (2000), Codex (2001) e o MERCOSUL (GMC 89/99);

Palavras Chave: Físico-Química, *Apis mellifera* L., Qualidade.

CHAPTER 2 – PHYSICAL-CHEMICAL AND QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF THE HONEY OF BEE (*Apis mellifera* L.) PRODUCED IN RIO GRANDE DO NORTE, NORTHEAST OF BRAZIL.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Physical-chemical and qualitative characteristics of the honey of bee (*Apis mellifera* L.) produced in Rio Grande do Norte, Northeast of Brazil.** 2011. 87 f. Thesis (Master in Animal Science: Animal Production and Sanity) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, RN. 2011.

ABSTRACT: 90 samples of honey of *Apis mellifera* L. from the East Potiguar Mesoregion, RN, Brazil, were analyzed in order to verify if they were in accordance to specifications determined by the legislations. The test were performed for determining the physical-chemical parameters, through qualitative and quantitative tests. The samples were collected for a honey exporting company from RN, potted and sent to laboratory, in two aliquots of 250ml and analyzed 48 hours after each collection. They were collected from January to December in 2009 and the following results were obtained: moisture ($15,23\pm0,56\%$), water activity ($0,61\pm0,02\%$), solids ($0,04\pm0,02\%$), ashes ($0,19\pm0,09\%$), acidity ($31,55\text{ meq/kg}\pm6,67$), reducing sugar ($76,61\pm6,22$), sucrose ($4,72\pm0,87$), HMF ($14,16\text{ mg/kg}\pm8,86$), Lund ($2,96\pm0,99\%$) and negative diastase activity. The values of moisture, HMF, sugar, free acidity, insoluble solids and ashes have been in accordance with the regulations of BRASIL (2000), Codex (2001) and MERCOSUL (CMG 89/99);

Key words: Physical-Chemistry, *Apis mellifera* L., Quality.

2.1 INTRODUÇÃO

O mel é um produto semi-líquido (15-18% aproximadamente de água) e que contém uma mistura complexa de carbonos hidratados, sendo principalmente de glicose e frutose; outros açúcares apresentam em menor quantidade, dependendo da origem floral. Além disso, ácidos orgânicos, lactonas, aminoácidos, minerais, vitaminas, enzimas, pólen, cera e pigmentos estão presentes. O mel pode ser produzido partir de muitas flores ou de uma única flor. A origem monofloral deve garantir uma melhor qualidade do produto, no aspecto de garantir um sabor e aroma bem específico (FALLICO et. al., 2004).

As análises físico-químicas e qualitativas indicadas pela Legislação Brasileira para a identidade e qualidade do produto mel são a umidade, a sacarose aparente, os açúcares redutores, os sólidos insolúveis em água, os minerais, a acidez, a atividade diastásica e o hidroximetilfurfural (BRASIL-MAPA, 2000).

No Brasil, o mel comercializado deve estar adequado com o que é descrito pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel contido na Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); já os padrões para a comercialização no MERCOSUL (Mercado Comum do Sul) que engloba os países: Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai são estabelecidos pela resolução GMC/RES nº 15/94. O capítulo 1 deste trabalho possui toda a descrição de todos os padrões para as físico-químicas e qualitativas do mel de abelhas *Apis mellífera* determinado pela legislação brasileira.

Já as especificações de qualidade no MERCOSUL (GMC 89/99) e do Codex (2011) respectivamente definem os padrões para o mel de abelhas melíferas, estabelecendo os requisitos mínimos de qualidade que o mel destinado ao consumo humano deve possuir: açúcares redutores mínimo de $65\text{g } 100\text{g}^{-1}$ e $60\text{g } 100\text{g}^{-1}$, para o mel floral, umidade máxima de $20\text{ g } 100\text{g}^{-1}$; os parâmetros de sacarose aparente para o mel floral máxima de $5\text{ g } 100\text{g}^{-1}$; sólidos insolúveis máximo de $0,1\text{g } 100\text{g}^{-1}$; cinzas de no máximo de $0,6\text{ g } 100\text{g}^{-1}$ para o mel floral são os mesmos para as duas legislações. Em relação à deterioração, o mel não deve ter indícios de fermentação, deve apresentar acidez máxima entre 40 e 50 mil equivalentes por quilograma, teor de hidroximetilfurfural máximo de 40mg.kg^{-1} (para ambas as legislações) (MAPA- Brasil, 2000; CODEX, 2011; MERCOSUL GMC 89/99).

As características físico-químicas, microbiológicas e polínicas do mel ainda são relativamente pouco conhecidas, principalmente nas regiões tropicais onde existe uma flora apícola bastante diversificada associada a taxas elevadas de umidade e temperatura. No Brasil devido a grande diversidade na flora apícola torna-se necessária uma caracterização

e, posteriormente, criação de padrões do mel levando em considerações os fatores vegetais, edáficos climáticos das respectivas regiões onde são produzidas (SODRÉ, 2005).

O mel de abelhas tem se tornado uma importante fonte alimentar nos últimos anos. Prova disso é que em alguns locais do Brasil já é componente básico da merenda escolar de crianças que estão no ensino fundamental. Por outro lado, além de alimento, é bastante utilizado como fonte medicamentosa no combate a algumas enfermidades do corpo humano. É um produto biológico muito complexo, cuja composição varia notavelmente em função da flora visita pelas abelhas e das condições climáticas e edáficas da região onde foi produzido. Nesse cenário, estudos que caracterizem os méis das mais distintas localidades de produção são importantes para a formação de um banco de dados que possibilite estabelecer padrões que sirvam de referência para se inferir sobre aspectos de qualidade de tais produtos e, desse modo, proteger o consumidor contra produtos contaminados ou adulterados (PEREIRA, 2010).

A apicultura no Rio Grande do Norte é bastante nova, porém está sendo muito difundida nos últimos anos, graças principalmente ao grande incentivo que vem sendo dado ao setor do agronegócio apícola pelo SEBRAE-RN, e de grande importância social, envolvendo cerca de 5.000 famílias, que cuidam de mais de 100.000 colméias. Já existe um mercado interno para os produtos apícolas no Rio Grande do Norte, e o Estado potiguar já vem inclusive aparecendo, nos últimos três anos, no cenário internacional como exportador de mel, embora ainda em pequena escala, porém promissora. No entanto, o mel da região ainda é pouco valorizado devido à falta de melhor qualificação do produto, uma vez que até recentemente não havia laboratórios de análises de produtos apícolas na região que pudessem auxiliar e orientar os apicultores para melhorar a qualidade de seus produtos. Em 2007, graças a uma ação integrada do SEBRAE-RN, UFRSA e MCT foi fundado o Centro Tecnológico de Apicultura do Rio Grande do Norte (CETEC), com instalações na Fazenda Experimental da UFRSA, em Mossoró-RN, cujas instalações contemplam, entre as várias facilidades e laboratórios disponíveis, um Laboratório de Análises de Produtos Apícolas, o qual já vem realizando vários tipos de análises de méis da região. Essas análises são de extrema necessidade para se determinar quais parâmetros precisam ser corrigidos para que os produtores da região consigam uma melhor colocação de seus produtos no mercado (PEREIRA ET AL., 2010).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi determinar as características físico-químicas e qualitativas de amostras de mel produzido por abelhas *Apis mellifera* L. produzidos no Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil, contribuindo com informações para a caracterização desse alimento e garantir o controle da qualidade deste produto.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Considerações sobre o local de estudo

O Estado do Rio Grande do Norte está localizado no hemisfério sul ocidental, e seus pontos extremos são limitados pelos paralelos de 4° 49'53" e 6° 58'57" de latitude sul e pelos meridianos de 34° 58'03" e 38° 36'12" de longitude oeste de Greenwich. O clima dominante é o semi-árido, de forma quase contínua, todo o interior do estado e parte do litoral, caracterizado por sua baixa precipitação pluviométrica, em torno de 400 a 600 mm por ano, distribuídas as chuvas nos meses de janeiro a abril. A temperatura média anual do estado está em torno de 25,5°C, com máxima de 31,3° e mínima de 21,1°, umidade relativa do ar apresenta uma variação média anual entre 59 e 76%. São regiões sujeitas à seca e com maior influência dos ventos alísios secos do Nordeste, que incidem no Litoral Norte e se interiorizam pelo território potiguar. A vegetação é composta de espécies xerófilas e na sua maioria caducifólias, de porte pequeno, com estratificação arbórea arbustiva, espinhenta e, por ocasião das chuvas, apresenta um estrato herbáceo bastante desenvolvido. É a vegetação mais característica do estado que é caatinga. (RIO GRANDE DO NORTE, 2002).

O Rio Grande do Norte esta dividido estatisticamente em quatro mesorregião (Figura 01), o Leste Potiguar é uma das quatro mesorregiões do estado e é formada pela união de vinte e cinco municípios agrupados em quatro microrregiões, onde se destaca a capital do estado, sendo assim a mais populosa, reunindo mais de 40% da população potiguar.



Fonte: IDEMA - Instituto de desenvolvimento sustentável e meio ambiente do RN- 2006
 Figura 1 Mapa do Estado do Rio Grande do Norte e suas mesorregiões

A Mesorregião do Leste Potiguar é uma das quatro mesorregiões do estado brasileiro do Rio Grande do Norte, sendo a mais populosa do estado, já que nela está a capital, Natal. Cidades importantes dessa mesorregião são Natal, Parnamirim, São Gonçalo do Amarante, Macaíba, Ceará - Mirim, Touros, São Miguel do Gostoso, Canguaretama e Tibau do Sul (RIO GRANDE DO NORTE, 2002). Por ser uma região litorânea apresenta características importantes para a produção e a comercialização do mel, uma vegetação típica litorânea, umidade elevada e temperaturas mais amenas podem influenciar nas características físico-químicas dos méis produzidos nessa região.

Quanto ao comércio, destaca-se por ter portos apropriados e funcionais para o embarque do mel para o mercado exterior.

Outros trabalhos já foram feitos na porção Oeste do Rio Grande do Norte, o que corrobora com a importância de estudar a região Leste do Estado.

2.2.2 Obtenção das amostras

Foram analisadas 90 amostras de mel de abelhas *Apis mellifera* L. enviadas por uma empresa exportadora de mel do Estado do Rio Grande do Norte ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), situado no Departamento de Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), campus Mossoró-RN. O período de recebimento das amostras foi de janeiro a dezembro de 2009, sendo recebidos em torno de 500 ml por lote em frascos de Polietileno estéreis, esses méis foram analisados 48 horas após o recebimento de cada lote.

Os frascos foram identificados com um número próprio e único constando na ficha de recebimento de amostra do laboratório, essa ficha possuía a seguinte descrição, informação sobre o local de produção, data de recebimento, identificação da origem (local e nome do produtor) e análises a serem realizadas.

As análises físico-químicas e qualitativas realizadas foram: açúcares redutores, sacarose, umidade, atividade de água, HMF, Lund (proteínas), teor de cinzas, sólidos insolúveis, acidez e atividade diastásica. As análises físico-químicas e qualitativas foram em parte realizadas no Laboratório de Análises Físico-Químicas Dr. Paulo Fernandes, localizado no Centro de Educação e Tecnologias Ítalo Bologna e outra parte no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), situado no Departamento de Ciências Animais da Universidade

Federal Rural do Semi Árido (UFERSA). Foram realizadas três repetições por amostra para cada parâmetro.

2.2.3 Descrição das metodologias de análises físico - químicas e qualitativas realizadas nas amostras de mel.

2.2.3.1 Atividade de água:

A determinação da atividade de água foi realizada pelo emprego do equipamento Testo, modelo 650, à temperatura constante ($24^{\circ}\text{C} \pm 2$), em triplicata, esse equipamento é um medidor de atividade de água adequado para controle de qualidade em alimentos, seguindo as recomendações do fabricante (TESTO, 2009).

2.2.3.2 Umidade:

No que diz respeito a composição do mel, a água constitui o segundo componente em quantidade, podendo apresentar variações entre 15 e 21%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação. O conteúdo de água no mel é, sem dúvida, uma das características mais importantes, por influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (SEEMANN E NEIRA, 1988 apud MARCHINI et. al., 2004 in MENDES et. al., 2009). A umidade foi determinada logo após o recebimento das amostras pelo laboratório por refratômetro manual ATAGO HONEY (ATAGO Co; 2007), que é um aparelho específico para determinar a umidade do mel (luz natural, temperatura ambiente). O referido aparelho foi adaptado do refratômetro Abbé conforme o método nº 969.38 (AOAC, 1995) recomendado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000). Para o seu funcionamento e necessário apenas colocar uma pequena alíquota de mel sobre a superfície do prisma do aparelho, pressiona a tecla START e o valor da medição será exibido em 3 segundos.

2.2.3.3 Acidez:

Os ácidos orgânicos presentes nos méis são causadores da acidez juntamente com as diferentes fontes de néctar e a ação da enzima glicose – oxidase sobre a glicose que origina o ácido glicônico. A ação desta enzima se mantém mesmo durante o armazenamento, pois permanece em atividade no mel mesmo após o processamento, influenciando o flavor de forma acentuada. (NOGUEIRA–NETO, 1997; PEREIRA, et. al., 2003).

A legislação aceita acidez máxima de 50 mEq/Kg de mel (BRASIL, 2000).

O método aplicado para análise de acidez livre foi determinado de acordo com o método nº 962.19 da AOAC (1995), que se baseia na titulação da amostra, com solução de NaOH 0,1N, para tanto mediu-se a massa de aproximadamente 10g de mel, em seguida dissolveu-se em 80ml de água reagente, transferiu-se para um erlenmeyer de 250ml, acrescentou-se 1ml de fenolftaleína, titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 e anotou o volume gasto. Calculou segundo a formula Acidez em m.e.q./kg = $V \times f \times 10$, onde o V = ml de solução de NaOH 0,1 N gastos na titulação e o f = fator da solução de NaOH 0,1 N.

2.2.3.3.1- Cálculo:

Acidez = Volume gasto X Massa do mel X Fator de correção do Hidróxido de sódio.

2.2.3.4- Açúcares Redutores:

Na determinação dos açúcares redutores, seguiu-se a metodologia de Marchini et. al., (2004), para tanto titulou-se colocando-se em um erlenmeyer 10ml da solução de Fehling adicionando 40ml de água reagente, aquecer até ebulição, adicionar 1ml de azul de metileno a 0,02%, titular com a glicose até coloração vermelha. Anotar o volume da titulação, sendo este valor responsável pela padronização da solução, depois de padronizada a solução de Fehling, pesar 2g da amostra de mel, transferir para um balão de 100ml com o auxílio de 50ml de água destilada ou deionizada, completar o volume com água reagente, filtrar com papel filtro (só utiliza o filtrado); coloca-se em um erlenmeyer de 250ml 10ml das soluções de Fehling e 40ml de água reagente, aquecer até ebulição e adicionar 1ml de azul de metileno, titular com o filtrado até coloração vermelha e anotar o volume e realizar o cálculo (multiplicou-se 100 vezes N° de ml da solução de mel (100) multiplicou por (volume. Glicose gasto multiplicou por 0,01) dividiu-se pelo N° de gramas da amostra e multiplicou-se pelo volume da solução da amostra gasto na titulação) para se obter o valor dos açúcares redutores no mel.

2.2.3.4.1- Cálculo:

$$\% \text{ Açúcar invertido} = \frac{100 \times \text{N}^\circ \text{ de ml da solução de mel (100)} \times \text{a (Vol. Glicose gasto} \times 0,01)}{\text{N}^\circ \text{ gramas da amostra} \times \text{Vol. da solução da amostra gasto na titulação}}$$

2.2.3.5- Sacarose:

Para análise de sacarose, colocou-se em um balão de 100ml ou em um béquer de 250ml 30 ml do filtrado obtido na determinação de açúcares invertidos, adicionou-se 3 gotas de ácido clorídrico PA, colocou-se em banho Maria a 80°C por 30min, retirou-se do banho Maria, resfriou a temperatura ambiente e neutralizou-se com solução de NaOH 1N (usando papel tornassol para verificar a neutralização), avolumou-se para 100ml com água destilada (esta solução foi utilizada para titulação subsequente), colocou-se em um erlemeyer de 250ml, 10ml das soluções de Fehling 40ml de água reagente, aqueceu-se até ebulição e adicionou-se 1ml de azul de metileno a 0,02%, titulou-se com a solução neutralizada e já avolumada citada anteriormente, mantendo sempre em ebulição até coloração vermelha. Anotou-se o volume e foi realizado o cálculo (multiplicou-se 70 vezes pelo N° de ml da solução de mel (30) multiplicou (o volume de glicose gasto na titulação por 0,01)) subtraiu (Valor de açúcar invertido) multiplicou por 0,95 dividiu-se N° gramas da amostra na inversão (0,6) vezes Vol. da solução da amostra gasto na titulação) para se obter o valor da sacarose no mel.

2.2.3.5.1- Cálculo:

$$\% \text{ Sacarose} = \frac{(70 \times \text{N}^\circ \text{ de ml da solução de mel (30)} \times \text{a (Vol. Glicose gasto } \times 0,01)) - (\text{Valor de açúcar invertido}) \times 0,95}{\text{N}^\circ \text{ gramas da amostra na inversão (0,6)} \times \text{Vol. da solução da amostra gasto na titulação}}$$

Ou,

$$\% \text{ Sacarose} = \frac{((70 \times 30 \times \text{a}) - (\text{Valor de açúcar invertido})) \times 0,95}{0,6 \times V \text{ (gasto na titulação)}}$$

2.2.3.6- Hidroximetilfurfural (HMF)

Para determinar o teor de Hidroximetilfurfural (HMF) do mel, as amostras foram tratadas com um agente de clarificação (Carrez), o volume foi completado para 50 ml, e a solução foi filtrada. A absorbância da solução filtrada foi medida em 284 e 336 nm em espectrofotômetro tratado com alíquota de bissulfito de sódio (branco) adaptação da metodologia do método padrão da AOAC (1995) Método Oficial 980.23.

2.2.3.6.1- Cálculos:

$$\text{Mg de HMF/100g de mel} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 10}{\text{Peso da amostra (g)}}$$

2.2.3.7- Cinzas:

O teor de cinzas fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado até no máximo 600°C, com destruição da matéria orgânica sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda por volatilização pelo método da AOAC Official Methodo 920.181. Para isso pesou-se em torno de 2g de mel em cadinho previamente aquecido em forno mufla por 30 minutos (600°C) e esfriado em dessecador por 30 minutos e pesado, calcinou-se até cinzas brancas, esfriou-se em dessecador e repetiu-se a pesagem até peso constante. O cálculo foi realizado com base na massa do cadinho com amostra, subtraído da massa do cadinho sem amostra, dividido pela massa do mel e multiplicado por 100 (cem).

2.2.3.7.1- Cálculo:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{\text{Massa do cadinho com amostra} - \text{Massa do cadinho sem amostra}}{\text{Massa do mel}} \times 100$$

2.2.3.8- Sólidos Insolúveis:

A análise de sólidos insolúveis fundamenta-se na insolubilidade na água da cera, grãos de pólen e outros componentes normais do sedimento do mel. Para determinação pesou-se 20g da amostra e diluiu-se em água aquecida a 60 °C. Filtrou em papel de filtro previamente seco em estufa a 100°C por 1 hora, esfriando em dessecador e pesando. Lavou-se o papel filtro com água morna até ausência de açúcares. Secou-se em estufa a 80°C até peso constante. O cálculo realizado foi % insolúveis = P x 100 dividido pelo P', onde o P = peso dos insolúveis em gramas e o P' = peso da amostra em gramas. Esta análise foi realizada segundo o método CAC (1990), determinou-se o teor de sólidos insolúveis em mel, por gravimetria, de acordo com a recomendação do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 2000).

2.2.3.8.1- Cálculo:

$$\% \text{ Insolúveis} = \frac{\text{Peso dos insolúveis}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

2.2.3.9- Lund:

Para prova Lund Pesou-se 2g da amostra diluiu-se em água reagente, adicionou uma solução de 5 ml ácido tânico a 0,5% e agitou-se vigorosamente, transferindo-se para um cone graduado de 50 ml e deixou em repouso por 24 horas. Na presença de mel puro formou-se um depósito dentro da faixa de 0,6 a 3,0ml e na presença de mel adulterado não haverá a formação de depósito ou este será desprezível (IAL, 2005).

2.2.3.10- Fermento Diastásico:

Quanto ao fermento diastásico, o principio do método fundamenta-se na hidrólise do amido pela ação das amilases existentes no mel. O critério adotado é de negativo (não adulterado) quando a cor for castanho claro a verde oliva, nessas condições o mel está natural, e de positivo quando apresentar coloração azul, indicando que o mel foi adulterado (IAL, 2005).

Para realizar essa análise mediu-se 10ml de mel numa proveta de 50ml, com tampa esmerilhada; Adicionou 20ml de água destilada e agitou-se para dissolver o mel; Transferiu-se 10ml com o auxílio de uma pipeta, para um tubo de ensaio e adicionar 1ml da solução de amido a 1% deixando em repouso. (funcionará como um branco); Transferiu-se 10ml com o auxílio de uma pipeta, para um outro tubo de ensaio e adicionou-se 1ml da solução de amido a 1% e levou-se ao banho-maria à 45°C por 60min. Após os 60min. Retirou-se o tubo e deixou-se esfriar à temperatura ambiente; Acrescentou-se à ambos os tubos 1ml da solução de Iodo e observou-se a coloração apresentada.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito à atividade de água dos méis analisados, foi encontrada uma média de $0,61 \pm 0,02$, cujos valores de máximo e mínimo foram, respectivamente, 0,640 e 0,555 (Tabela 03). Não existe padrão definido para atividade de água no Codex Alimentarius, MAPA ou MERCOSUL o que dificulta o trabalho dos agentes fiscalizadores e dos consumidores. Para Gleiter, Horn & Isengard, (2006) a atividade de água do mel está dentro de um intervalo de 0,50 - 0,65 e é suficiente para o desenvolvimento dos microorganismos como bolores e leveduras (que deve estar em torno de 0,70) e 0,80 a 0,99 para bactérias. O mel em estudo possui atividade de água que não favorece o crescimento de microorganismos, o que se torna um fator importante para o armazenamento, pois permitirá que o produto possua um maior tempo de prateleira. Os autores supracitados constataram que a atividade de água do mel cristalizado é superior aos dos méis líquidos com o mesmo teor de umidade, ou seja, o mel pode ter uma atividade de água baixa e umidade alta, fato também observado neste trabalho, pois nas amostras de méis analisadas tiveram para umidade um intervalo entre 14,90 a 16,50 % (Tabela 3) e a média observada, foi de $15,23 \pm 0,56\%$, a qual se encontra dentro do limite permitido pela instrução normativa vigente no Brasil, (MAPA, 2000) e pelo Codex Alimentarius Standard, (2001) e MERCOSUL que é de 20%. A água constitui o segundo componente em quantidade no mel, geralmente, variando de 15 a 21%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação. Normalmente, o mel maduro tem menos de 18,5% de umidade (MARCHINI et. al., 2004).

A acidez livre baseia-se na neutralização da solução ácida de mel, mediante uso de uma solução de hidróxido de sódio na presença de um indicador interno, a fenolftaleína, algumas das amostras excederam o limite de acidez permitido pela legislação nacional que é de 50 meq/kg e os regulamentos internacionais que são de 50 meq/kg para Codex e 40 meq/kg para MERCOSUL, onde os resultados encontrados apresentaram valores mínimos e máximos de 14,64 a 49,74 indicando a grande variação da composição dos méis brasileiros. Além disso, o valor médio de 31,55 meq/kg (Tabela 03), também observado nesta pesquisa, pode ser tomado como indicativo do frescor do mel. Para Filona et. al., (2007) a acidez livre pode ser explicada levando em conta à presença de ácidos orgânicos em equilíbrio com os seus correspondentes lactonas, ésteres e alguns íons inorgânicos, como o fosfato.

O valor médio encontrado para os açúcares redutores foi de 76,61g/100g com variação de 65,50–93,97g/100g, os quais estão dentro do que o Codex Alimentarius Standard, (2001)

sugere, no entanto, ficando um pouco abaixo do que exige a legislação do MERCOSUL (GMC/RES nº 15/94) e Brasil (2000). Para Terrab et. al., (2004), o teor de açúcar é um parâmetro onde os valores anômalos podem ser um índice confiável de adulteração.

Com relação à sacarose, o valor medio encontrado foi de 4,72 g/100g com valores de mínimo e máximo 1,85 - 6 g/100g. Segundo Mendes et. al. (1998), os açúcares redutores, principalmente frutose e glicose, representam a maior parte da composição do mel, mas pequenas quantidades de outros açúcares também estão presentes, tais como a sacarose, maltose, trealose, melizitose e outros. Já de acordo com Azeredo et. al., (2003), um maior teor de sacarose poderia ser o resultado de uma colheita precoce de mel, ou seja, a sacarose não foi convertida em frutose e glicose.

O hidroximetilfurfural (HMF) é amplamente reconhecido como uma avaliação do frescor do mel e/ou superaquecimento, essa característica do mel está relacionada à sua qualidade de processamento, ou seja, se sofreu superaquecimento ou adição de xarope de milho, ou teve condições inadequadas de armazenamento ou de colheita (BARONI, 2009). No presente estudo, nenhuma das amostras ultrapassou os limites estabelecidos nas legislações vigentes para este parâmetro, cujos valores encontrados foram 14,16 com variação de 2,08 – 58,16. Verificou-se também neste estudo, que o conteúdo do HMF, foi sempre inferior a 40 mg / kg demonstrando que não tinha sofrido grandes variações de temperatura pós-colheita mesmo sendo produzido em uma região semi-árida, ou seja, estes baixos valores demonstram que o mel era realmente fresco e que não tinha sofrido tratamento térmico (BOGDANOV, 2002).

Outro parâmetro que deve ser considerado como medida geral de qualidade é frequentemente utilizada como critério na identificação dos alimentos, diz respeito ao teor de cinzas. Nas amostras analisadas, verificou-se que o teor de cinzas dos méis variou de 0,010 a 0,400% valor médio $\pm$ desvio padrão, foi igual a $0,19 \pm 0,09\%$, valores estes, semelhantes aos encontrados por Filona, (2007) que variaram de 0,02 a 0,18 % (valor médio $\pm$ desvio padrão = $0,063 \pm 0,036$ g%). Para ele, o teor de cinzas dos méis analisados foi baixo, característica de mel floral. Segundo o autor, a alta dispersão observada no conteúdo do mel de cinzas pode indicar que os processos de colheita e/ou as técnicas da apicultura utilizadas pelos produtores não são uniformes. Outros autores têm proposto que o teor de cinzas de mel depende do material coletado pelas abelhas durante o forrageamento sobre a flora (RODRÍGUEZ et. al., 2004).

O valor médio do teor de sólidos insolúveis encontrado neste trabalho foi de $0,3289 \pm 0,3110$ g/100g com variação 0,00 – 0,09 g/100g. Para Mendes et. al., (1998) o teor de sólidos insolúveis em água, é uma fração de partículas em suspensão que representa cera e/ou insetos detritos vegetais e no mel. Todas as amostras estavam acima do limite de 0,1% como determina

as legislações do Brasil (MAPA, 2000), MERCOSUL (GMC/RES nº 15/94) e Codex Alimentarius Standard, (2001).

Além das características físico-químicas dos méis, um parâmetro de grande importância que comprova a veracidade do mel, tem relação com o Prova de Lund (ou teste de Lund). No presente estudo, os valores médios encontrados para tal prova, foi de $2,96 \pm 0,99$ variando de 1,00 –6,00, segundo a interpretação adotada pelo IAL, (2005). O teste de Lund deve apresentar depósitos de proteínas, após 24 horas em repouso, variando entre 0,6 a 3,0 ml.

Para todas as amostras analisadas apresentaram resultados negativos para o fermento diastásico indicando que não foram submetidas a condições severas de aquecimento, nem sofreram adição de xaropes açucarados e nem indicando que o produto não foi adulterado com amido.

Os resultados da análise dos aspectos físicos (umidade e atividade de água), químicos (sólidos insolúveis, acidez livre, açúcares redutores, sacarose, hidroximetilfurfural (HMF) e prova de Lund.) são mostrados na Tabela 3.

2.3.1- Estatística dos resultados:

Os dados foram expressos em média e desvio padrão avaliados pelo programa estatístico Statistical Package for Social Science (SPSS), versão 17.0 (SPSS. Inc, Chicargo, IL, EUA). De acordo com o resultado da normalidade, os dados foram submetidos ao teste de correlação de Spearman., seguido pela montagem do modelo de regressão linear. A comparação das técnicas de diagnostico foi efetuada pelos testes de Mc Nemar e indicador Kappa de concordância. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Tabela03:Valores médios e intervalos de confiança encontrados nas análises físico-químicas das 90 amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* na região Leste do Nordeste do Brasil comparada com os valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais.

Variável	Media + DP	Mín***.	Max***.	*Brasil (2000)	*CODEX	*MERCOSUL
Atividade de água	0,61±0,02	0,550	0,640	NNN	NNN	NNN
Umidade (máxima %)	15,23±0,56	14,00	16,50	20	20	20
CINZAS (máxima g/100g)	0,19±0,09	0,02	0,40	0,6	0,6	0,6
Acidez Livre (meq/kg)	31,55±6,67	14,64	49,74	50	50	40
HMF (máximo - mg/kg.)	14,16±8,86	2,08	58,16	60	40	40
Sólidos Insolúveis (Máximo g/100g)	0,04±0,02	0,00	0,09	0,1	0,1	0,1
Açúcares (Mínimo - g/100g)	76,61±6,22	65,50	93,97	65	60	65
Sacarose (Máxima g/100g)	4,72±0,87	1,85	6,00	6	5,0	5,0
Lund	2,96± 0,99	1,00	6,00	NNN	----	NNN

*Especificações da norma brasileira (Brasil, 2000); CODEX - Codex Alimentarius (2001), MERCOSUL/GMC/RES no 15/94.

**Especificação das normas internacionais intervalo de confiança a 5% de probabilidade. NNN- parâmetro não presente.

*** Min= valor mínimo e Max= valor Maximo.

Tentando entender a forma como os valores estão se comportando, bem como o quanto cada propriedade do mel interfere ou influencia outra, montou-se uma tabela de correlação das variáveis físico-químicas (tabela 04), onde cada característica é cruzada com as demais, demonstrando estatisticamente a força de correlação e a significância entre os testes

Tabela 04-Apresentação dos valores de correlação para variáveis físico-químicas nos méis da região Oeste do Rio Grande do Norte

	Ativ. Água	Umidade	Cinza	Acidez	HMF	Sol. Ins	Açuc. Red.	Sacarose
Ativ. Água	-							
Umidade	0,499**	-						
Cinza	-0,030	-0,156	-					
Acidez	0,107	0,184	0,230*	-				
HMF	-0,048	-0,064	-0,039	0,372**	-			
Sol. Ins	0,047	0,123	-0,012	-0,206	-0,219*	-		
Açuc. Red.	0,182	0,009	-0,079	0,283**	0,137	-0,046	-	
Sacarose	-0,118	-0,187	-0,026	0,081	0,106	-0,009	-0,440**	-
Lund.	0,195	0,219*	-0,054	0,488**	0,215*	-0,059	0,117	-0,015

* Significa diferença estatística a $p < 0,05$

** Significa diferença estatística a $p < 0,01$

2.3.1.1-Análise dos dados da tabela3:

2.3.1.1.1 –Atividade de água:

Como pode-se observar os valores indicam que há uma forte correlação positiva entre umidade e atividade de água, com um nível de significância aumentada ($p < 0,01$), demonstrando que o aumento da umidade faz aumentar a quantidade de água disponível no mel, o que pode ser um fator de importância para o crescimento de microorganismos, diminuindo o tempo de prateleira do produto e alterando suas características organolépticas.

Para os demais ensaios físico-químicos os testes mostraram uma fraca correlação entre os mesmos,

2.3.1.1.2- Umidade:

A umidade apresentou uma forte correlação com a atividade de água, como explicado no item anterior e uma correlação de moderada a baixa para o teste de LUND. Sendo o teste de LUND um método que utiliza-se da decantação das proteínas polínicas presentes no mel a adição de água, em substituição ao mel deverá ocasionar uma diminuição nos valores de leitura.

2.3.1.1.3- Cinzas:

Apresentou correlação de fraca a moderada com a acidez, indicando que o aumento no teor de cinzas acarretará um discreto aumento na acidez. Para os demais ensaios não apresentou correlação significativa.

2.3.1.1.4- Acidez:

O teor de acidez demonstrou uma forte correlação positiva e uma alta significância com o HMF (Hidroximetilfurfural) sinalizando que o aumento da acidez realmente interfere no HMF fazendo subir os seus valores.

Quando correlacionado com os sólidos insolúveis apresentou baixa correlação negativa, sinalizando que méis que não passaram pelo correto processo de filtração e decantação, permanecendo com partes de insetos ou cera em sua constituição teriam sua acidez diminuída, o que na prática não se observa.

Quando comparada com os açúcares redutores, demonstrou um baixa correlação mas com uma alta significância, fato esse que pode ser explicado pela presença de ácidos enzimáticos que atuam no processo de maturação do mel. (Figura 04).

De todos os testes correlacionados com a acidez o teste de LUND foi o que obteve maior correlação (Forte), com um alto índice de significância corroborando com a ação das enzimas no processo de maturação do mel em detrimento a quebra das proteínas polínicas.

É importante observar que os valores para acidez demonstrados na tabela 03 apresentam distribuição normal conforme (Figura 02)

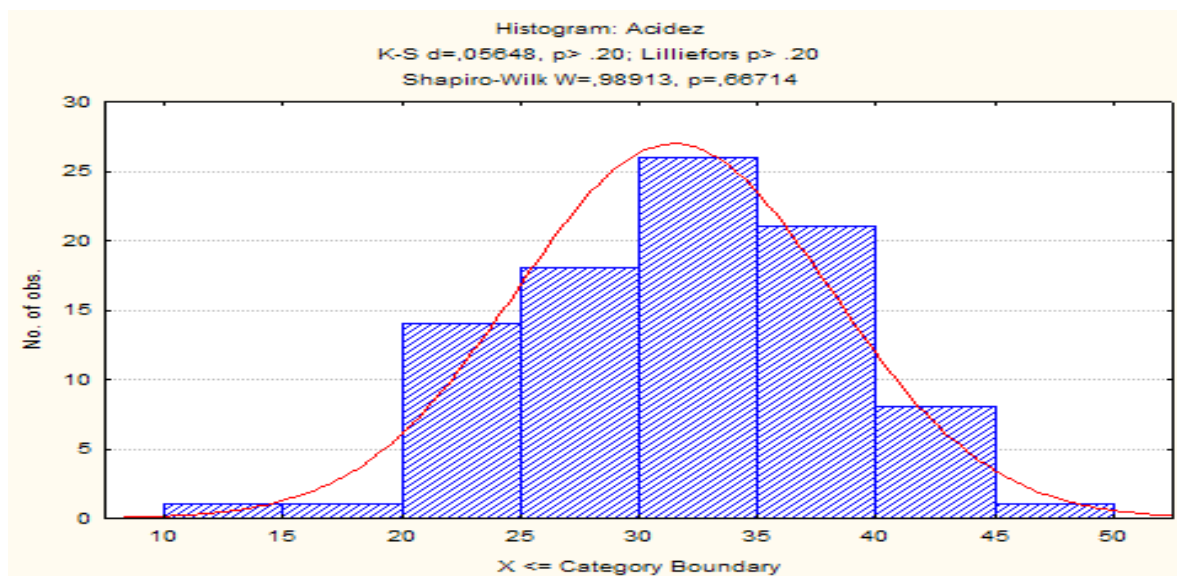


Figura 2 Distribuição normal dos valores de acidez, utilizando o teste estatístico Shapiro-Wilk..

2.3.1.1.5- HMF:

Observou-se uma fraca correlação negativa entre o HMF e os sólidos insolúveis. Tal fato pode ser explicado pela metodologia do ensaio de HMF que utiliza espectrofotometria para leitura com comprimentos de onda variando entre UV (Ultra Violeta) e UV visível e a quantidade de partículas em suspensão na amostra dificulta a passagem do raio do espectrofotômetro desviando-o do prisma interferindo na leitura.

Também observou-se uma discreta correlação com o teste de LUND.

2.3.1.1.6- Sólidos Insolúveis:

Apresentou baixa correlação com o HMF e com a acidez, já comentado anteriormente.

2.3.1.1.7- Açúcares redutores:

É importante observar que os valores para açúcares redutores demonstrados na tabela 03 apresentam distribuição normal conforme (Figura 03)

Apresentou uma baixa correlação com a acidez (Figura 4), como descrito acima, mas o que realmente chama a atenção é a forte correlação entre os açúcares e a sacarose, correlação essa negativa com forte significância, demonstrando que o aumento dos açúcares invertidos ocorre inversamente proporcional ao da sacarose.

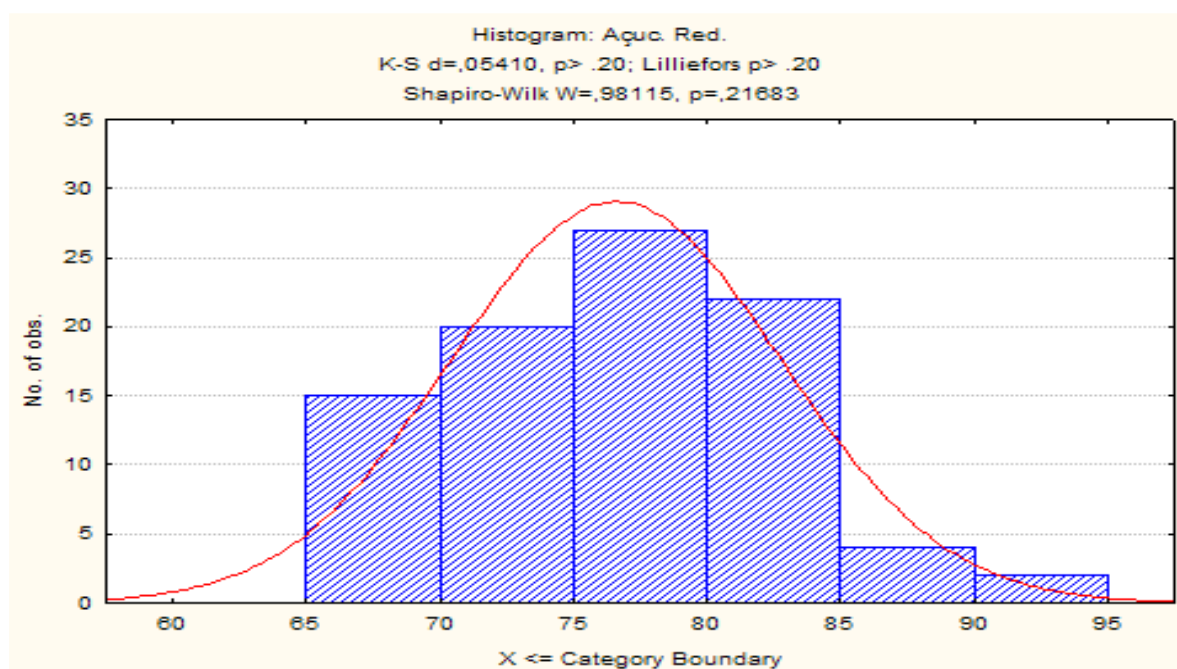


Figura 3 Distribuição normal dos valores de açúcares redutores, utilizando o teste estatístico Shapiro-Wilk.

A figura abaixo apresenta a dispersão dos valores quando cruzado os dados de açúcares redutores e acidez.

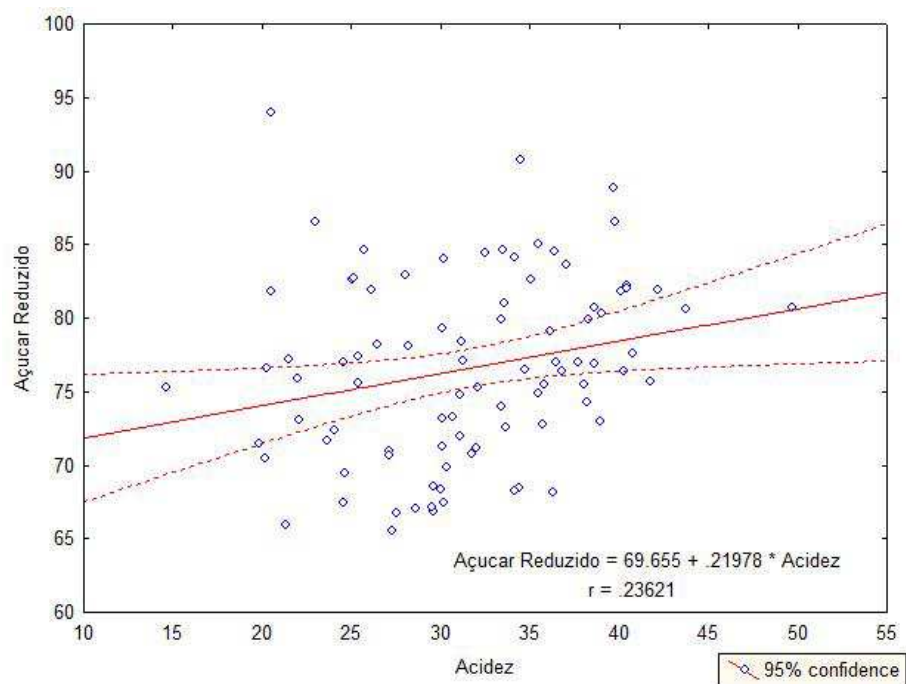


Figura 4 Teste de Correlação de Spearman entre as variáveis açúcar reduzido e acidez.

2.4- CONCLUSÃO

Todas as características estiveram dentro dos limites determinados pela legislação Brasileira para identidade do mel (Brasil, 2000). Foi possível verificar que as amostras de méis da região semi-árida brasileira apresentaram adequado conteúdo de HMF, indicando o uso de boas práticas pelos apicultores. Para alguns autores, regiões de clima semi-árido podem ter valores elevados de HMF naturalmente, mesmo que o mel não tenha sido superaquecido ou adulterado, devido às altas temperaturas que este alimento irá ser exposto no ambiente, no entanto, é essencial quantificar este componente, a fim de verificar a qualidade do produto, uma vez que o mel mesmo em condições adversas mantém uma alta qualidade.

Todas as amostras analisadas apresentaram resultados negativos para teste de Fermento diastásico indicando que não foram submetidas a condições severas de aquecimento, nem sofreram adição de xaropes açucarados e - indicando também que o produto não foi adulterado com amido. Os valores médios HMF, acidez livre, cor, cinzas estão de acordo com o que determina a legislação Brasileira para identidade do mel (2000), Codex Alimentarius Standard (2001) e no MERCOSUL (GMC 89/99).

É necessário acrescentar, na legislação Brasileira para identidade do mel, os parâmetros de atividade água e prova de Lund. Além disso, algumas dessas características, como a atividade de água e Lund não estão regulamentadas no Codex Alimentarius Standard, (2001) e nem no MERCOSUL (MERCOSUL GMC 89/99), estas características ajudarão os analistas de alimentos a determinarem a composição química e a qualidade do mel analisado.

REFERÊNCIA

AOAC – Association of Official Analytical Chemists Sugar and sugar products. In AOAC (Ed). **Official Methods of Analysis**. Arlington, VA, USA, p.44.20, 1995.

ATAGO Co. Easy guide to refractometers. USA: Atago Co. Disponível em: <<http://www.atago.net>>. Acesso em: 25 jan. 2010.

AZEREDO, L. DA C.; AZEREDO, M. A. A; SOUZA, S. R. V; DUTRA, M. L. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. **Food Chemistry**. v. 80, n.2, p.249-254, 2003.

BARONI, M. V.; ARRUA, C.; NORES, M. L.; FAYÉ, P; DÍAZ, M. D. P; CHIABRANDO, G. A; & WUNDERLIN, D. A. Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. **Food Chemistry**. v. 114, n. 2, p. 727–733, 2009.

BOGDANOV S.; MARTIN P. Honey authenticity. **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**. v. 93, p. 232-254, 2002.

BOGDANOV, S; RUOFF, K.; PERSANO, O. L. Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: a review. **Apidologie (Special issue)**, v. 35, p.4 – 17, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial**, Brasília, 20 de outubro de 2000. (Available at: <http://www.Agricultura.gov.br/sda/dipoa/anexo>). Disponível em: <<http://www.atago.net>>. Acesso em: 25 jan. 2010.

CAC - Codex Alimentarius Commission. **Official methods of analysis**. v.3, Supl.2, 1990. p.15-39.

Codex Alimentarius (2001), Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, **Standards and Standard Methods, Volume 11** , disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acessado em 14 Junh. 2009.

Farmacopéia Brasileira 4. ed; Ed. Atheneu, São Paulo. p.v.2.5; v.2.9; v.2.10, v.2.19, 1988.

FALLICO, B.; ZAPPALA, M.; ARENA, E.; VERZERA, A. The Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. **Food Chemistry**. v. 85, n.2, p. 305–313.2004.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M. C; & MARIOLI J. M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649-1653, 2007.

GLEITER, R. A; HORN, H; & ISENGARD, H. D. Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. **Food Chemistry**, v.96, n.3, p.441-445, 2006.

GULER, A; BAKAN, A; NISBET, C; & YAVUZ, O. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum*L.) syrup. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1119–1125, 2007.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, V.1, São Paulo 2005.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S. E MORETI, A. C. C. C. et. al. **Mel brasileiro**: Composição e Normas. A. S. Pinto, Ribeirão Preto-SP. 2004. p.111.

MENDES, Carolina de Gouveia; ALVES DA SILVA, Jean Berg; MESQUITA, Luciene Xavier de y BORGES MARACAJÁ, Patrício. AS ANÁLISES DE MEL: REVISÃO. **Revista Caatinga** [en línea] 2009, vol. 22 [citado 2011-11-14]. Disponível na Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=237117600039>. ISSN 0100-316X.

MENDES, E; PROENÇA, E. B; FERREIRA, I. M. P. L. V. O; & FERREIRA M. A. Quality evaluation of Portuguese honey. **Carbohydrate Polymers**. v. 37, n. 3, p. 219–223, 1998.

MERCOSUL/GMC/RES nº 15/94. Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1994-015.pdf. > Acesso em: 04 fev 2010.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão – São Paulo Nougierapis, 1997. 446p.

RIO GRANDE DO NORTE (RN- Estado). Instituto de Defesa do Meio Ambiente (IDEMA). Perfil do Estado do Rio Grande do Norte. Aspectos Físicos. Natal, 2002. 86 p. Disponível em: <http://www.idema.rn.gov.br/governo/secretarias/idema/perfilrn/Aspectos-fisicos.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2010. PEREIRA, F. de M.; Lopes, M. T. do R.; Camargo, R. C. R. de; Vilela, S. L. de O. **Produção de mel**. Embrapa Meio-Norte, versão virtual. 2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fontes_HTML/Mel/SPMel/index.htm. Acesso em : 29outubro de 2011.

PEREIRA, L. L. Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e Meliponíneos. **Piracicaba, 2010. 84 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.**

PEREIRA, R. A.; MESQUITA, L. X. ;GONCALVES, L. S.;DE JONG, D.; GRAMACHO, K. P.. O Rio Grande do Norte já analisa o seu mel para exportação. **Mensagem doce** (Associação Paulista de Apicultores, Criadores de Abelhas Melíficas Européias), v. 106, p. 17-25, 2010.

RODRÍGUEZ, G. O. DE, FERRER, S. B. DE, FERRER, A; & RODRÍGUEZ, B. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, v.84, n. 4, p. 499–502.

SERRANO, S; VILLAREJO, M; ESPEJO, R; & JODRAL, M. (2004). Chemical and physical parameters of Andalusian honey: Classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. **Food Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 619-625, 2004.

SODRÉ, G. da S. **Características físico-químicas, microbiológicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L; 1758 (Hymenoptera : Apidae) nos Estados do Ceará e Piauí da Bahia**. Piracicaba, 2005. 127 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2005.

SILVA, E. M.S.da; BESERRA, E. M. F. Análise físico –química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *melipona scutellaris*, Paraíba, 2001. Disponível em : <http://www.agronline.com.br>. Acesso em: 29 de outubro 2011.

SILVA, C. L. DA; QUEIROZ, A. J. DE M; & FIGUEIRÊDO, R. M. F. DE. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado de Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2/3, p. 260-265, 2004.

TERRAB, A; RECAMALES, A. F; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. J. Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p. 537-542, 2004.

TESTO. Texto 650 AW - **Water active meter. Operator's Manual**. [S.l.] Testo AG; 2009.36 p.

CAPÍTULO 3 –UTILIZAÇÃO DOS TESTES LUND E LUGOL NA DETECÇÃO DA ADULTERAÇÃO EM AMOSTRAS DE MÉIS DE *Apis mellifera* L.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Utilização dos testes Lund e Lugol na detecção da adulteração em amostras de méis de *Apis mellifera* L.** 2011. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2011.

RESUMO: Verificaram-se os limites de detecção dos testes de Lund e Lugol aplicados à análise de mel de *Apis mellifera* L., para identificar se cumprem as especificações determinadas pelas legislações para adulteração. Foi utilizada uma amostra de mel produzido na Mesorregião do Oeste Potiguar - RN – Brasil, adquirida no comércio local e testada, sendo em seguida fracionada e adulterada com açúcar comercial e glucose de milho em diferentes concentrações, logo em seguida submetidas ao teste qualitativo de Lugol e ao teste quantitativo de Lund. As análises foram realizadas sempre em triplicata, onde tirou-se uma média aritmética dos resultados. As amostras contaminadas, propositadamente, com açúcar comercial não foram percebidas pelo teste de Lund com concentrações até 60%. Com glucose de milho não detectou até 50%. Para o teste de Lugol os méis foram adulterados com concentrações de 1% a 5% de glucose de milho, só conseguindo perceber adulteração a partir de 2% e para o teste com açúcar comercial o método só detectou adulteração após concentração de 40%. Com os seguintes resultados pode-se concluir que isoladamente os testes mostraram-se falhos necessitando de outras análises para determinar o padrão de qualidade do mel.

Palavras Chave: Autenticidade, Adulteração, Qualidade.

CHAPTER 3 – UTILIZATION OF LUND AND LUGOL’S TESTS ON THE ADULTERATION DETECTION IN HONEY SAMPLES OF *Apis mellifera* L.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Utilization of Lund and Lugol’s tests on the adulteration detection in honey samples of *Apis mellifera* L.** 2011. 87f. Thesis (Master in Animal Science: Animal Production and Sanity) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2011.

ABSTRACT: The limits of detection of Lund and Lugol’s tests, applied to the analysis of the honey of *Apis mellifera* L., have been verified to identify if they satisfy the specifications determined by the legislations for adulteration. For this, it has been used a honey sample produced in the West Potiguar Mesoregion, RN, Brazil, bought at the local market and tested, being shattered and adulterated with commercial sugar and corn glucose in different concentrations, just after they were subjected to Lugol’s qualitative test and Lund’s quantitative one. The analyses were always done in third copy, using an arithmetic mean from the results. The contaminated samples with commercial sugar were not noticed for Lund’s test with concentrations up to 60%. With the corn glucose it did not detect up to 50%. To Lugol’s test the honey was adulterated with concentrations from 1% to 5% of corn glucose, the adulteration was only noticed just from 2% and in the test with the commercial sugar the method only detected the adulteration after a concentration of 40%. Through these results it may be concluded that the tests proved themselves to be faulty singly which needs other analyses to determine the standard of quality of the honey.

Key words: Authenticity, Adulteration, Quality

3.1 INTRODUÇÃO

O mel é um alimento apreciado por seu sabor característico e pelo seu considerável valor nutritivo. A sua matéria-prima é o néctar das flores ou exsudados sacarídeos das partes vivas das plantas, coletado pelas abelhas melíferas, desidratado e armazenado em alvéolos nas suas colméias (ARAUCO, 2001).

A diversidade da flora brasileira, associada à extensão territorial e a variabilidade climática existente, possibilita ao país um grande potencial apícola, com colheitas durante praticamente todo o ano, o que acaba por diferenciar o Brasil de outros países produtores que, normalmente, colhem mel uma única vez por ano (MARCHINI, 2004). O mel no Brasil pode ser produzido durante todo o ano devido a uma flora diversificada, como consequência do vasto território do país e a variabilidade climática (MARCHINI, 2007). Já o Nordeste do Brasil tem aparecido com grande potencial, sendo considerada a região com a flora mais rica do país. Seu mel pode ser avaliado como puro já que é oriundo de plantas nativas livre de agrotóxico e produzido por abelhas africanizadas, mais resistentes a doenças, e que dispensa o uso de antibióticos na alimentação (CARNEIRO, 2006).

Internacionalmente, os critérios de qualidade do mel estão especificados nos órgãos reguladores, compilados em um dos Codex Alimentarius Standard (CODEX, 2001). No Brasil, o mel comercializado deve estar adequado com o que é descrito pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel contido na Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); já os padrões para a comercialização no MERCOSUL (Mercado Comum do Sul) que engloba os países: Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai são estabelecidos pela resolução GMC/RES nº15/94 (MERCOSUL, 1994)

O mel é um dos mais antigos produtos naturais e desde os primórdios vem sendo utilizado como fonte de açúcares para as populações. Lamentavelmente, durante o transcorrer dos tempos, esse alimento vem sofrendo adulterações mediante a mistura com açúcar de cana ou glicose, por falsificadores que, à procura de lucros fáceis, comprometem a saúde dos consumidores e a qualidade do mel (WIESE, 2000).

O conteúdo total do mel quanto a composição de açúcar influencia na sua doçura. Os dois açúcares principais do mel são a frutose e a glicose havendo uma ligeira predominância da frutose, contudo existem méis excepcionais com mais glicose que frutose, por exemplo, os de nabo e de dente-de-leão. A frutose é ligeiramente mais doce que a sacarose e a glicose é um

pouco menos doce que a maltose, outro dissacarídeo presente no mel. O sabor do mel está relacionado com seu aroma e ambas as características dependem de quantidades diminutas de substâncias complexas no mel, derivadas das suas fontes vegetais (PÉREZ, 2007). Talvez por esse motivo a glicose (açúcar comercial) seja o principal adulterante encontrado nos méis, juntamente com a água.

Gouveia et. al., 2009 em seu trabalho “As análises de mel: Revisão”, também enfatizam a importância das análises físico-químicas e qualidade para atestar a qualidade do mel. A adulteração do mel por açúcares pode elevar a acidez, sendo esse um parâmetro que também auxilia na avaliação do nível de deterioração do mel. Em níveis normais a acidez é devida principalmente ao ácido glicônico, que é produzido durante a maturação do mel, e tende a reduzir com o amadurecimento e participação na conversão da sacarose em açúcar invertido. Valores baixos significam que o mel foi colhido na maturidade certa e/ou não apresenta fermentação por contaminação microbiana (CRANE, 1983; ANDRADE, 2006).

O mel pode sofrer alterações naturais ou provocadas. As alterações provocadas podem ser por desconhecimento dos produtores, nesse caso o mel recebe a denominação de contaminado, ou por adulteração proposital passando a ser denominado de mel adulterado, isso ocorre principalmente nos entrepostos de venda. De acordo com Vidal (1984), as alterações naturais podem ser aquelas decorrentes do excesso de umidade, calor ou envelhecimento. (VIDAL, 1984). Em decorrência do excesso de umidade o mel pode ser fermentado por vários microorganismos, especialmente os *Zigosaccharomyces* e outros (*Sacchamycerouxii*; *S. mellis*; *Leucomostocdextranicum*; *Aerobacteraerogines*), que existem nas flores e no solo e que conseguem se desenvolver em altos teores de açúcar (TERRAB, 2002). Os principais adulterantes utilizados em méis são o xarope de açúcar, a glucose de milho, a água e o amido de milho, este último para aumentar a viscosidade dos méis.

A necessidade de fixar a identidade e qualidade do mel destinado ao consumo humano é discurso de muitos autores; mas outro ponto de fundamental importância é a harmonização dos regulamentos técnicos, ou seja, a padronização dos valores para características avaliadas que levem em consideração as diferenças regionais. A obtenção de parâmetros físico-químicos de méis é de grande importância para sua caracterização (SERRANO, 2004), bem como é primordial para garantir a qualidade desse produto.

A falta dessas análises podem incorrer em erros grosseiros na avaliação do mel, deixando de identificar adulterações ou atestando fraude em méis que não sofreram tal prática ilícita. A adição de adulterantes ao mel pode implicar em contaminações por agentes químicos, físicos ou microbiológicos, podendo se tornar um risco iminente aos consumidores, além de causar perdas na indústria causa ainda uma maior perda de produtos por contaminação e diminui de forma drástica os lucros das mesmas.

Além das características físico-químicas dos méis, um parâmetro de grande importância que comprova a veracidade do mel, tem relação com a prova de Lund para detecção de adulteração do mel por adição de água e adulterantes ricos em proteínas. Esse método compreende a precipitação protéica polínica através do ácido tânico adicionado que sofre precipitação e deposição das proteínas. O teste de Lund deve apresentar depósitos de proteínas, após 24 horas em repouso, variando entre 0,6 a 3,0ml. (KOMATSU, 2002). Essa margem de aceitação do limite de detecção abre precedentes para que adulterações pequenas passem despercebidas pelo método, levando o consumidor ao erro ao comprar um produto que julgava ser puro. Segundo a legislação brasileira os valores de substâncias albuminóides em amostras de méis devem estar na faixa de 0,6 ml a 3,0 ml, essa faixa estabelecida de precipitado não permite acusar adulterações grosseiras propositais (AZEREDO et. al., 1999).

Esses fatos indicam a necessidade de uma caracterização detalhada dos méis brasileiros e maior atenção nos testes de adulteração, testando diferentes taxas de adulteração na busca de se conhecer os limites de detecção desses métodos.

O objetivo do presente trabalho foi analisar os testes de Lund e de Lugol, através de concentrações diferentes dos adulterantes mais utilizados e mais acessíveis no mercado para averiguar a que concentrações desses adulterantes, separadamente os testes conseguiam identificar.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho foi adquirida uma amostra comercial de mel contendo 1000 ml do mel de abelha (*Apis mellifera* L.) que foi acondicionada em caixa de isopor, para evitar grandes elevações de temperatura enquanto a amostra era transportada até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), situado no Departamento de Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), campus Mossoró. Após chegar ao laboratório a amostra foi aclimatada por um período de uma hora sobre a bancada para igualar a temperatura da mesma com a temperatura ambiente.

Para a detecção de adulterações por açúcar comercial e por glucose de milho foram realizadas três repetições da amostra de mel puro, nos testes de LUND e de LUGOL a fim de confirmar a pureza do mel nesses ensaios. A amostra mostrou-se livre de adulterantes nas triplicatas para os testes de LUND e de LUGOL.

Em seguida foram retiradas alíquotas desse mel em béqueres de 500ml acrescido açúcar comercial, com concentrações diferentes para cada um, sendo as concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70% e 100%, respectivamente. Também foram retiradas mais nove amostras em béqueres de 500ml que foram acrescentadas de glucose de milho, também nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20% e 50%, respectivamente. Após a homogeneização de todas as amostras contendo adulterantes, foram realizados os testes de LUND para cada adulterante (ver tabelas 04 e 05) e LUGOL (ver tabelas 06 e 07), atentando-se para preparar sempre uma amostra controle ou teste (mel sem adulteração). Para as amostras adulteradas foram preparadas três repetições de cada concentração, para os dois testes.

Para a realização do teste de LUND todas as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de duas casas decimais após a vírgula utilizando-se um béquer de vidro de 100ml. As amostras contendo 2g de mel (independente do teor de adulteração) foram diluídas em 20ml de água destilada e transferidos para tubos para centrífuga graduados, com resolução de 0,1ml e capacidade de 50ml. Após a transferência adicionou-se 5ml de ácido tânico preparado a uma concentração de 0,5%, avolumou-se a amostra para 40ml, tampou-se e agitou-se vigorosamente, deixando em seguida em repouso por 24 horas. Procedeu-se a leitura dos tubos anotando o valor de cada triplicata separadamente. Para evitar que algumas amostras tivessem um tempo menor de descanso padronizou-se o tempo a contar do preparo da última amostra, desta forma todas as amostras permaneceram por um período mínimo de vinte

e quatro horas em repouso. Essa metodologia foi adaptada do Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1995).

O teste de Lugol tem por finalidade detectar adulteração nas amostras por adição de amido, o procedimento adotado para confecção das amostras também utilizou diferentes concentrações para cada uma das adulterações, sendo para adição de açúcar comercial 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, e 100%, (ver tabela 06) e para a glucose de milho as concentrações 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20% e 50% respectivamente (ver tabela 07). Em seu trabalho Wiese (2000) constata que ao utilizar o iodo e iodeto de potássio (lugol), o mel adulterado apresenta reação colorida característica em função da presença de amido e dextrina, o que não ocorre no mel puro. Por se tratar de uma análise puramente qualitativa o teste visava diagnosticar presença ou ausência de adulterantes, as análises foram realizadas de acordo com as metodologias descritas no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1995).

Os resultados obtidos foram comparados às regulamentações técnicas de identidade da qualidade do mel de abelhas propostas pelas especificações da norma Codex Alimentarius (CODEX, 2001), MERCOSUL/GMC/RES nº 15/94 (MERCOSUL, 1994) e por artigos de referência.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de Lund não conseguiu detectar adulteração no mel por adição de açúcar comercial nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 35%, 40%, 45%, 50%, ou 60% (Ver tabela 04) nem por adição de glucose de milho nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20% e 50% (Ver tabela 05). Seria de se esperar que quando adicionado outro adulterante ao mel que não apresentasse valor protéico a deposição da proteína polínica sofresse uma diminuição de volume se comparado com um experimento tipo TESTE, previamente realizado, o que não se observou nos ensaios em nenhuma porcentagem de adulteração (1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 35%, 40%, 45% e 50%) para adição de açúcar comercial nem para adição de glucose de milho nas concentrações 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20% e 50%. O referido teste conseguiu detectar açúcar nas concentrações de 60%, 70% e 100% (Ver tabela 05), não ficando nessa última nenhuma deposição de proteína, como seria de se esperar. No presente estudo, os valores médios encontrados para Lund, mesmo com adulteração de até 50% (cinquenta por cento), mantiveram-se dentro dos limites adotados pela normativa brasileira para méis puros (BRASIL, 2000).

Tabela 5: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “açúcar comercial” para a realização do teste de LUND.

Concentrações das amostras	Açúcar Comercial (g)	Glucose de Milho (g)	Mel (g)	LUND Média
Padrão *	---	---	100	2,3
Amostra _{AC} 1%	1	---	99	2,3
Amostra _{AC} 5%	5	---	95	2,5
Amostra _{AC} 10%	10	---	90	2
Amostra _{AC} 15%	15	---	85	1,7
Amostra _{AC} 20%	20	---	80	1,8
Amostra _{AC} 35%	35	---	65	2,3
Amostra _{AC} 40%	40	---	60	2,5
Amostra _{AC} 45%	45	---	55	2,3
Amostra _{AC} 50%	50	---	50	1,3
Amostra _{AC} 60%	60	---	40	1
Amostra _{AC} 70%	70	---	30	0,4 **
Amostra _{AC} 100%	100	---	---	0

*Amostra sem adição de adulterantes.

**Fora das especificações da norma brasileira (Brasil, 2000);

Tabela 6: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “glucose de milho” para a realização do teste de LUND.

Concentrações das amostras	Açúcar Comercial (g)	Glucose de Milho (g)	Mel (g)	LUND Média
Padrão *	---	---	100	2,3
Amostra _{GC} 1%	---	1	99	2,5
Amostra _{GC} 2%	---	2	98	2
Amostra _{GC} 3%	---	3	97	1,8
Amostra _{GC} 4%	---	4	96	2
Amostra _{GC} 5%	---	5	95	2,2
Amostra _{GC} 10%	---	10	90	2
Amostra _{GC} 15%	---	15	85	1,7
Amostra _{GC} 20%	---	20	80	1,8
Amostra _{GC} 50%	---	50	50	1,7

*Amostra sem adição de adulterantes.

O teste de Lund (teste qualitativo para proteínas) mostrou não ser conclusivo, quando aplicado isoladamente a uma amostra de mel. Estatisticamente ao aplicar o teste de correlação de Pearson para verificar a correlação existente entre o aumento das concentrações de açúcar e os resultados de Lund, com um intervalo de confiança de 95%, foi possível observar uma forte correlação negativa entre as concentrações de açúcar e o teste de Lund, demonstrando que quanto maior for a concentração de açúcar (adulterante) presente no mel, menor será o valor de Lund. Contudo a faixa estabelecida de 0,6 a 3,0ml de precipitado não permite acusar até mesmo adulterações grosseiras propositais (RIBEIRO, 2006). Como pode ser observado na figura 03 a adição de até 60% de açúcar comercial no mel manteve-se dentro dos padrões estabelecidos para mel puro. O teste de correlação de Pearson ($p=0,0003$) realizado entre as amostras com açúcar comercial e o teste de LUND mostrou uma correlação negativa forte ($-0,82$, com intervalo de confiança 95% entre $-0,95$ e $-0,50$); Regressão linear, r^2 foi de $0,65$. Logo quanto maior a quantidade de açúcar comercial adicionada, menor será o valor apresentado pelo método.

Azeredo, 1999 ao utilizar a mesma metodologia também não conseguiu detectar adulteração em méis após adição de até 70% de calda de açúcar refinado a algumas amostras de mel essas amostras mostraram depósitos dentro da faixa estabelecida pelos métodos oficiais aplicados no Brasil, o que levaria a uma interpretação errônea, quando da avaliação do teste, indicando ser mel genuíno, mesmo com somente 70% de amostra adulterada.

Dessa forma, o teste de Lund não pode ser utilizado isoladamente, como teste que comprove a qualidade do mel (AZEREDO, et. al., 1999).

Para a adulteração do mel com glucose de milho (figura05), a correlação entre o valor calculado no teste de Lund e a quantidade de glucose adicionada ao mel foi significativa ($p=0,0269$) com correlação negativa média ($r= -0,62$ para um intervalo de confiança 95% entre $-0,90$ e $0,01$). Na regressão linear, o r^2 calculado foi de $0,22$. Embora haja alteração detectada no teste de Lund quando da adição de glucose, o gráfico mostra que não é possível utilizar este teste para indicar quantitativamente esta adulteração. Como o teste de LUND não apresenta-se como um teste específico para detecção de adulteração por adição de amido a reprodutibilidade do erro no teste foi significativa, contudo a adição de um adulterante ausente de proteína polínica deveria ter reduzido a quantidade de proteína decantada no teste e mesmo assim a quantidade polínica manteve-se dentro da faixa de aceitação do método, segundo o manual de normas do Adolfo Lutz. (IAL, 1995).

Nas adulterações com açúcar comercial (no mel puro) com concentrações 1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 35% apresentaram resultados negativos para o teste de Lugol (ver tabela 07), indicando que as mesmas não foram submetidas a condições severas de aquecimento, nem sofreram adição de xaropes açucarados e mostrando que o produto não foi adulterado com adição amido. As amostras analisadas que foram submetidas à adulteração por açúcar comercial, nas concentrações de 40%, 45%, 50%, 60%, 70% e 100% apresentaram resultado positivo para este teste, indicando adulteração.

Na análise da adição glucose de milho ao mel o teste de lugol conseguiu identificar adulteração (mudança na coloração do mel para vermelho) em concentrações a partir de 2%, variando a coloração da solução para um vermelho escuro (Ver tabela 08). No seu artigo Garcia, 2007, afirmou que nas reações de Lugol feitas por ele, todas as amostras deram resultados negativos (cor castanha), indicando que o produto não foi adulterado com amido. Quando há adição de amido ocorre uma reação que apresenta mudança na coloração, o amido aprisiona o iodo formando um complexo vermelho-violeta indicando adulteração no mel (OPUCHKEVICH, 2008). Esta reação colorimétrica é qualitativa e conforme metodologia indicada pelo Instituto Adolfo Lutz, considera-se positiva quando a coloração final for violeta ou azul (BERA, 2007). No presente trabalho não observou-se tal coloração, nem mesmo com as maiores concentrações de adulterantes, ou seja 50% de glucose de milho, ou 100% de açúcar comercial limitando-se a coloração à uma cor avermelhada.

Tabela 7: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “Açúcar comercial” para a realização do teste de LUGOL.

Concentrações das amostras	Açúcar Comercial (g)	Glucose de Milho (g)	Mel (g)	LUGOL
Padrão *	---	---	100	ND*
Amostra _{AC} 1%	1	---	99	ND
Amostra _{AC} 5%	5	---	95	ND
Amostra _{AC} 10%	10	---	90	ND
Amostra _{AC} 15%	15	---	85	ND
Amostra _{AC} 20%	20	---	80	ND
Amostra _{AC} 35%	35	---	65	ND
Amostra _{AC} 40%	40	---	60	Positivo **
Amostra _{AC} 45%	45	---	55	Positivo
Amostra _{AC} 50%	50	---	50	Positivo
Amostra _{AC} 60%	60	---	40	Positivo
Amostra _{AC} 70%	70	---	30	Positivo
Amostra _{AC} 100%	100	---	---	Positivo

*ND= Não Detectado

** POSITIVO= Adulterado

Tabela 8: Tabela com valores das concentrações e diluições em mel do adulterante “Glucose de milho” para a realização do teste de LUGOL.

Concentrações das amostras	Açúcar Comercial (g)	Glucose de Milho (g)	Mel (g)	LUGOL
Amostra _{GC} 1%	---	1	99	ND
Amostra _{GC} 2%	---	2	98	Positivo
Amostra _{GC} 3%	---	3	97	Positivo
Amostra _{GC} 4%	---	4	96	Positivo
Amostra _{GC} 5%	---	5	95	Positivo
Amostra _{GC} 10%	---	10	90	Positivo
Amostra _{GC} 15%	---	15	85	Positivo
Amostra _{GC} 20%	---	20	80	Positivo
Amostra _{GC} 50%	---	50	50	Positivo

*ND= Não Detectado

** POSITIVO= Adulterado

Concentrações de adulterantes aplicados no mel de *Apis mellifera* com os testes de adulteração e seus resultados verificados em mel da região semi-árida do nordeste não foram percebidas (tabela 09). A capacidade de detecção de adulteração por açúcar e por glucose de milho nos testes de lugol expõe claramente a necessidade da utilização de outros testes para identificação de adulterantes no mel.

Tabela09: Concentrações de adulterantes aplicados no mel de *Apis mellifera* com os testes de adulteração e seus resultados verificados em mel da região semi-árida do nordeste do Brasil.

Concentrações das Amostras (%)	Açúcar Comercial (g)	Glucose de Milho (g)	Mel (g)	LUGOL	LUND Média
Padrão*	---	---	100	ND****	2,3
Amostra _{AC} ** 1%	1	---	99	ND	2,3
Amostra _{AC} 5%	5	---	95	ND	2,5
Amostra _{AC} 10%	10	---	90	ND	2,0
Amostra _{AC} 15%	15	---	85	ND	1,7
Amostra _{AC} 20%	20	---	80	ND	1,8
Amostra _{AC} 35%	35	---	65	ND	2,3
Amostra _{AC} 40%	40	---	60	Positivo*****	2,5
Amostra _{AC} 45%	45	---	55	Positivo	2,3
Amostra _{AC} 50%	50	---	50	Positivo	1,3
Amostra _{AC} 60%	60	---	40	Positivo	1,0
Amostra _{AC} 70%	70	---	30	Positivo	0,4
Amostra _{AC} 100%	100	---	---	Positivo	0,0
Amostra _{GC} *** 1%	---	1	99	ND	2,5
Amostra _{GC} 2%	---	2	98	Positivo	2,0
Amostra _{GC} 3%	---	3	97	Positivo	1,8
Amostra _{GC} 4%	---	4	96	Positivo	2,0
Amostra _{GC} 5%	---	5	95	Positivo	2,2
Amostra _{GC} 10%	---	10	90	Positivo	2,0
Amostra _{GC} 15%	---	15	85	Positivo	1,7
Amostra _{GC} 20%	---	20	80	Positivo	1,8
Amostra _{GC} 50%	---	50	50	Positivo	1,7

*Mel sem adição de adulterantes; **Amostra com concentrações de açúcar comercial; ***Amostra com concentrações de glucose de milho; ****ND= Não detectado; *****POSITIVO= Adulteração detectada; --- Não foi adicionado.

Adição de açúcar

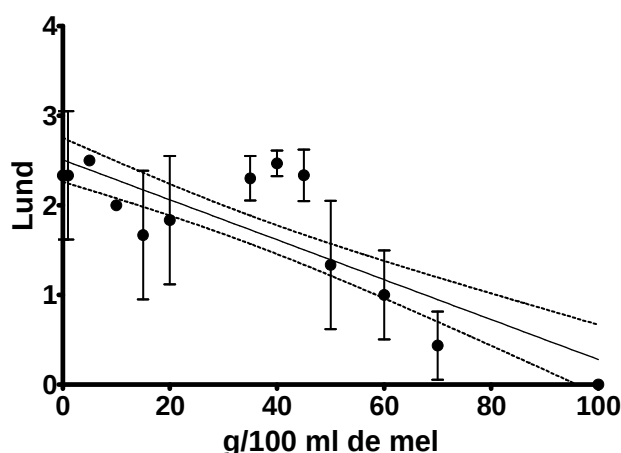


Figura 5 Correlação da variável LUND com a variável adição de açúcar comercial em amostras de mel comercial.

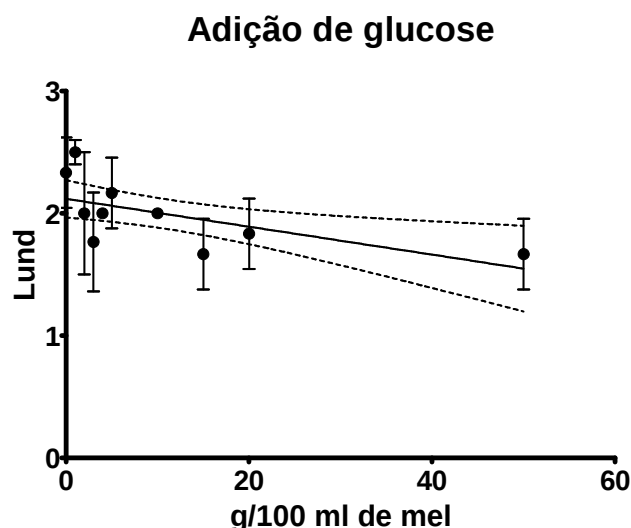


Figura 6 Correlação da variável LUND com a variável adição de glucose de milho comercial em amostras de mel comercial.

Tabela10 – Comparação geral de técnicas aplicadas ao diagnostico da adulteração de mel em 39 fracionamentos tomando como base o adulterante açúcar.

LUGOL	LUND		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	6	12	18 (46,2%)
Negativo	0	21	21 (53,8%)
TOTAL	6 (15,4%)	33 (84,6%)	39 (100%)

$P < 0,001$ (Teste de Mc Nemar)

Kappa: 0,35

Das 18 amostras positivas pelo LUGOL, o LUND confirmou apenas 6 e todas as amostras negativas pelo LUGOL também foram negativos para LUND. A concordância observada foi sofrível, com um valor de Kappa = 0,35. A análise estatística dos resultados discordantes revelou diferença entre as técnicas ($P < 0,001$).

Menor que zero	Sem concordância
0,00-0,20	Desprezível
0,21-0,40	Leve
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Grande
0,81-1,00	Excelente

Fonte: Landis e Koch, 1977

Figura 7 Classificação da concordância segundo coeficiente Kappa

Para o adulterante glucose, de todas as amostras testadas, o teste de LUND não foi capaz de detectar positividade, ao contrário do LUGOL, que detectou 24/27 (88,8%) amostras positivas.

3.4 CONCLUSÃO

O teste de Lund mostrou-se ineficiente para atestar adulteração por açúcar no mel tanto para as concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 35%, 40%, 45%, 50% e 60% permanecendo as amostras dentro dos limites aceitos pela legislação, (0,6 a 3,0ml) bem como o teste de Lugol também não conseguiu identificar adulterações nas concentrações de açúcar comercial nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 35%. Nas concentrações acima de 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, e 100% o teste mostrou-se eficiente. Nas adulterações por glucose de milho o teste detectou adulterantes em concentrações a partir de 2%, com virada da coloração para vermelho escuro. Desta forma o teste de Lund não se mostrou confiável, isoladamente para a confirmação ou negação de adulteração do mel por açúcar comercial ou por glucose de milho.

O açúcar comercial é o adulterante com maior facilidade de aquisição no mercado em relação à glucose de milho e apresenta também um valor mais atraente chegando a custar 9,4% do valor da glucose de milho por 100g do produto. O valor de 15 centavos por 100g de açúcar é um atrativo a mais para quem deseja adulterar um mel, em contrapartida tem o incômodo de ter que ser diluída em água para uma melhor incorporação ao mel, aumentando com isso a umidade e a atividade de água do produto sendo um facilitador de contaminação por microorganismos e contribuindo para a diminuição do tempo de prateleira.

A glucose de milho apresenta a facilidade de não precisar ser diluída para ser adicionada ao mel, podendo ser incorporada “in natura”, diretamente no produto. Contudo o valor da glucose de milho mostrou-se muito maior que o valor do açúcar, chegando a custar R\$ 1,60 por 100g do produto, elevando muito os custos de quem deseja adulterar uma amostra ou mesmo todo um lote produzido.

Outro fator de importante relevância para os testes de Lund e Lugol e para outros testes confirmativos de qualidade do mel é a necessidade de se ter um mel puro para realização do padrão, a ser utilizado de forma comparativa, sendo necessário ainda acrescentar outras análises para identificação de adulteração no mel, tais como HMF, umidade, açúcar invertido, sacarose e atividade diastásica.

REFERÊNCIA

ANDRADE, E. C. B. **Análise de alimentos, uma visão química da nutrição**. São Paulo: Ed. Varela, 2006.

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

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1 , p. 3-7, 1999.

BERA, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, Mar. 2007. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100009&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 31 July 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial**, Brasília, 20 de outubro de 2000. (Available at: [http://www. Agricultura .gov.br/sda/dipoa/anexo](http://www.Agricultura.gov.br/sda/dipoa/anexo)). Disponível em: <<http://www.atago.net>>. Acesso em: 25 jan. 2010.

CARNEIRO, K. Apicultura começa a ganhar força no Sertão da Paraíba. **SEBRAE Notícias**, agosto 2006. Disponível em: [http://www. Sebraepb .com.br/noticias.jsp?pagina=noticia&idNoticia=956&idCategoria=2](http://www.Sebraepb.com.br/noticias.jsp?pagina=noticia&idNoticia=956&idCategoria=2). Acesso em dezembro 2009.

CODEX Alimentarius (2001), Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, **Standards and Standard Methods**, Volume 11 , disponível em: <[http://www. codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net)>. Acessado em 14 Junho. 2009.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2 ed. São Paulo: Nobel, 1983.

GARCIA, R. C.; BRAGA, G. C.; PIRES, B. G. ; LÜPKE, C. J. ; CAMARGO, S. C.; MURAKAMI, F. Y.; BERWANGER, E.; POLESE, C. ; HERZOG, N. F. M.; PICKLER, M. A. Análises físico-químicas dos méis da região oeste do Paraná. **XVII Semana da Biologia**.

GOUVEIA, C. M.; ALVES, J. B. S.; XAVIER, L. M.; MARACAJÁ, P. B. As análises de mel: Revisão. Junho de 2009. **Alimentos, quími.** 2009, v. 22 n. 2 p. 07-14. http://cacphp.unioeste.br/eventos/OLD_mesmo_antigos/semanadabio2007/resumos/EA_06.pdf. Acesso em: 10 agosto de 2010.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, V.1, São Paulo 1995.

KOMATSU, S. S.; MARCHINI, L. C. e MORETI, A. C. de C. C. Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera* L; 1758 (Hymenoptera, Apidae) no Estado de São Paulo. 2. Conteúdo de açúcares e de proteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n.2, p. 143-146, 2002.

MARCHINI, L. C., SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C. (2004). Mel Brasileiro: Composição e Normas. A. S. Pinto, Ribeirão Preto-SP.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. De C. C., OTSUK, I. P. E.; SODRÉ, G. Da S. Physicochemical composition of *Apis mellifera* honey samples from São Paulo state, Brazil. **Quím. Nov.** 2007, v. 30, n. 7, p.1653-1657.

MERCOSUL/GMC/RES nº 15/94. Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1994-015.pdf>. Acesso em: 04 fev 2010.

MESQUITA, L. X. de. **Características de qualidade do mel de abelha (*Apis mellifera* L.) da mesoregião oeste potiguar do estado do Rio Grande do Norte – Mossoró, RN**. 2010. p. 78. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal. Área de concentração: Produção e Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação. Mossoró, RN

OPUCHKEVICH, M. H.; MACOHON, E. R.; KLOSOWSKI, A. L. M. Verificação da qualidade do mel no município de Prudentópolis através das análises físico-químicas. **Anais do I Salão de extensão e cultura da UNICENTRO**, 2008.

PÉREZ; R. A.; IGLESIAS, M. T.; PUEYO, E.; GONZÁLEZ, M.; LORENZO, C. De. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. **Journ. of Agricul. and Food Chem.** 2007,v. 55, n. 2, p.360-364.

RIBEIRO, M.F.; ALVES, J.E.; SILVA, E.M.S.; BOMFIM, I.G.A.; FREITAS, B.M. 2006. Variation on temperature and relative humidity in a nest of *Melipona quinquefasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) in natural and lab conditions in Ceará, Brazil. **Anais do VII Enc. Sobre Abelhas**

RIO GRANDE DO NORTE (RN- Estado). Instituto de Defesa do Meio Ambiente (IDEMA). Perfil do Estado do Rio Grande do Norte. Aspectos Físicos. Natal, 2002. 86 p. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/governo/secretarias/idema/perfilrn/Aspectos-fisicos.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2010.

SERRANO, S.; VILLAREJO, M.; ESPEJO, R.; JODRAL, M. Chemical and physical parameters of Andalusian honey: Classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. **Food Chem.** 2004, v. 87, n. 4, p. 619-625.

TERRAB, A.; DÍEZ, M. J.; HEREDIA, F. J. Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. **Food Chem.** 2002, v. 79, n.3, p.373–379.

VIDAL, R. Mel-Análise e Adultrações. In: **ANAIS SOBRE O SIMPÓSIO DE APICULTURA**, Jaboticabal-SP,1984.São Paulo-SP;Editora R.Vieira LTDA, p.51 a 54. 1984.

WIESE, H. **Apicultura:Novos Tempos**. 1ª Ed. Guaíba-RS: Editora Agropecuária LTDA. 424p. 2000.

CAPÍTULO 4 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE MÉIS DE ABELHAS *Apis mellifera* L. PRODUZIDOS NO LESTE/RN – BRASIL.

MEDEIROS, Altevir Paula de. Características microbiológicas de méis de abelhas *Apis mellifera* L. produzidos no Leste/RN - Brasil 2011. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2011.

RESUMO: Foram verificadas 90 amostras de mel (*Apis mellifera* L.), para identificar se cumprem as especificações- microbiológicas determinadas pelas legislações vigentes. Os parâmetros analisados foram: presença de coliformes a 35°C e 45°C, *Salmonella* sp, quantificação de bolores e leveduras das 90 amostras de mel coletadas. A pesquisa de bolores e leveduras foi realizada a partir das diluições de mel 0,1 ml e plaqueadas em BDA, incubadas e determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g⁻¹). 60 amostras apresentaram contagem de bolores e leveduras maiores que 10² UFC/g, acima do permitido pela legislação do MERCOSUL com limite de 1x10² UFC/g ou 100 UFC por grama. Amostras de mel analisadas tinham valores maiores que >1.100 NMP/g para coliformes a 35°C e 45°C e sete amostras com crescimento entre 15 e 3,6 NMP/ g⁻¹ sendo estes valores bem elevados com base a legislação do MERCOSUL o limite Maximo de <3 NMP/g. Duas amostras apresentaram *Salmonella* sp, o que sugere a necessidade de implementação das boas práticas em todos os níveis da cadeia produtiva, em especial no apiário e da necessidade de se conhecer a microbiota dos méis das abelhas *Apis mellifera* L. produzidos no semi árido do Rio Grande do Norte – Brasil.

Palavras – Chaves: *Salmonella* sp, Coliformes, Qualidade

CHAPTER 4 MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE HONEY OF THE BEES *Apis mellifera* L. PRODUCED IN THE EAST OF RN, BRAZIL.

MEDEIROS, Altevir Paula de. **Microbiological characteristics of the honey of the bees *Apis mellifera* L. produced in the East of RN, Brazil.** 2011. 87f. Thesis (Master in Animal Science: Animal Production and Sanity) - Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, RN. 2011.

ABSTRACT: 90 samples of honey (*Apis mellifera* L.) have been analyzed to identify if they satisfy the microbiological specifications determined by the current legislations. The microbiological parameters analyzed were: coliform presence at 35°C and 45°C, *Salmonella* sp, mold and yeast quantification from the 90 samples of the collected honey. The mold and yeast research was done by the dilution of honey 0,1ml and plated in BDA, incubated and determined the number of colony forming units (UFC.g⁻¹). 60 samples presented a mold and yeast counting higher than 10² UFC/g above the permitted amount by MERCOSUL's legislation with the limit of 1x10² UFC/g or 100 UFC per gram. The honey samples analyzed had values higher than >1.100 NMP/g to coliforms at 35°C and 45°C and seven samples with growth between 15 and 3,6 NMP/g⁻¹ which are considered so high, based on the legislation of MERCOSUL the maximum limit of <3 NMP/g. Two samples presented *Salmonella* sp that suggests the necessity of implementation of good practices in all the levels of the productive chain, especially in the apiary and the necessity of knowing the microbiota of honey of the *Apis mellifera* L. bees produced in the semiarid of Rio Grande do Norte in Brazil.

Key words: *Salmonella* sp, Coliforms, Quality.

4.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o consumo de mel tem aumentado significativamente no mundo todo, em virtude da busca pelo consumo de produtos naturais, o que também pode ser notado no Brasil (BERTOLDI, 2008)

Apesar da atual legislação brasileira para mel (BRASIL, 2000) não contemplar as características microbiológicas aceitáveis para o produto, estes conceitos precisam ser revistos principalmente por se tratar de um produto consumido por crianças, idosos e enfermos. Os únicos valores de referência para esta característica qualitativa presentes no Brasil foram estabelecidos pela legislação sobre mel que precedeu a atual (BRASIL, 1997), e pela RDC 012 da ANVISA (BRASIL, 2001). Nestas regulamentações, as condições higiênico-sanitárias do mel são avaliadas pela contagem de bolores e leveduras, e verificação da presença de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C. É importante ressaltar todas estas regulamentações que visam ao controle da qualidade do mel, seja nacional ou internacional (SOUZA, 2008).

As características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas dos méis de abelhas melíferas e composicionais são variáveis e dependem de muitos fatores associados aos tipos de vegetação da região de sua procedência, que alteram suas características físicas e químicas.

Todos os produtos apícolas são muito sensíveis a contaminações ambientais, pois o néctar e o pólen são oriundos das flores que estão permanentemente expostas às mais diversas fontes poluidoras. Constata-se hoje, em diversos países, a contaminação de produtos apícolas principalmente por inseticidas e metais pesados. Essa constatação, que é grave quando se considera o risco potencial à saúde humana, tem levado os órgãos de controle de qualidade de alimentos do mundo todo a um permanente estado de vigilância quanto à qualidade dos méis que são postos nos mercados consumidores (BARTH et al., 2005; BOGDANOV et. al., 1999; SNOWDON e CLIVERB, 1996).

A *Apis mellifera* possui uma população microbiana no seu aparelho digestório, mais exatamente no intestino. Esta população tem sido identificada nas operárias de várias regiões do globo apesar de pequenas diferenças em função da geografia, clima, estação do ano, períodos de floradas, nutrição (tipo de açúcar) e idade. Segundo Almeida-Muradian et al., 2006, a presença de microorganismos no mel podem influenciar no aumento da acidez em decorrência da fermentação ocasionada por

esses microorganismos que transformam açúcares em alcoóis pela oxidação dos ácidos carboxílicos (ALMEIDA-MURADIAN, et. al, 2006).

Os méis de *Apis mellifera*, por serem um produto de origem natural apresentam uma microbiota própria e com um comportamento característico que pode mudar ao longo de sua vida. Esta microbiota pode ser dividida em dois grupos: os microorganismos próprios do mel que são introduzidos pelas abelhas na colméia, com o néctar, pólen ou melato, ou durante a operação de limpeza por elas realizada, ao veiculá-los sobre ou dentro de seu organismo e outros considerados microorganismos ocasionais, que são introduzidos de maneira fortuita por falta de higiene na manipulação e beneficiamento do mel. Sua carga microbiana a princípio pode ser considerada baixa, quando comparada a outros produtos de origem animal, como o leite (Abreu et al., 2005).

Segundo o mesmo autor, alguns microorganismos apresentam as desenvolver em um ambiente muito concentrado em açúcares, tais microorganismos, como as leveduras, são conhecidos como osmofílicos ou sacarofílicos. Esses microorganismos estão presentes nas flores, e também podem ser provenientes da manipulação do mel, ou dos equipamentos utilizados na extração e das condições de envase (Abreu et al., 2005).

Para Lopes, 2008 a microbiota do mel varia, possuindo microrganismos introduzidos pelas próprias abelhas e outros introduzidos de forma indesejada por falta de higiene na manipulação ou durante a extração e beneficiamento do mel (LOPES, 2008).

A quantidade de bactérias presentes no mel pode variar de acordo com o tipo de mel, tipo da amostra, tempo e colheita, armazenamento e técnica de análise utilizada (SNOWDON, 1999). Para Nogueira Neto, 1997 as condições higiênicas do mel não estão somente relacionadas as práticas de higiene do produtor, mas também está relacionado com os hábitos das abelhas já que muitas espécies pousam em material fecal (NOGUEIRA-NETO, 1997).

O grupo dos coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubadas a 35 - 37°C, por 48 horas. São bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos. O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreendem bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios,

exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Os coliformes termotolerantes, também conhecidos como coliformes fecais são um subgrupo dos coliformes totais, capazes de fermentar a lactose em 24 horas com produção de gás, quando incubados a 44,5 - 45,5°C. Essa definição objetivou, em princípio, selecionar apenas as enterobactérias originárias do trato gastrintestinal (*E. coli*), mas atualmente, sabe-se que o grupo também inclui membros de origem não fecal. Em função disso o termo coliforme fecal, tem sido gradativamente substituído por coliformes termotolerantes (SILVA et. al., 2007).

A legislação brasileira (BRASIL, 2000), está citada também neste trabalho como MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), e internacional (Codex Alimentarius Commission, 2001) vigente não exige realização de análise microbiológica em mel. Estabelecem apenas que sejam seguidas Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de alimentos na manipulação do produto. Já a legislação do MERCOSUL(GMC 89/99), determina os seguintes critérios microbiológicos: Coliformes totais seja $<3 \text{ NMP.g}^{-1}$, ausência de *Salmonella spp* em 25g e bolores e leveduras com limite $1 \times 10^2 \text{ UFC/g}$. (Tabela 11)

Tabela 11: Valores estabelecidos pelas normas vigentes nacionais e internacionais para méis produzidos por abelhas melíferas:

Microbiológicas	Tolerância	MAPA	MERCOSUL	CODEX
Coliformes totais (NMP/g)	Máximo	-	<3	-
<i>Salmonella spp</i> (g)	Ausência	25	25	25
Bolores e leveduras (UFC/g)	Máximo	-	1×10^2	-

*Especificações da norma brasileira (Brasil, 2000); CODEX - Codex Alimentarius (2001), MERCOSUL/ GMC/RES no 15/94

Para Vargas (2006) a qualidade microbiológica está relacionada com as condições higiênicas de produção e manipulação das amostras. Envolve, portanto, um contexto mais social do que botânico.

Em consequência do que foi exposto o objetivo do presente trabalho foi analisar as características sanitárias de 90 amostras de mel produzidas na mesoregião Leste do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, através das análises de bolores e leveduras, coliformes totais, bactérias termotolerantes e *Salmonella* e se estes méis cumprem as especificações de qualidade sanitária determinadas por órgãos regulamentadores de qualidade.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Obtenção das amostras

Foram analisadas 90 amostras de mel de abelhas *Apis mellifera* L. enviadas por uma empresa exportadora de mel do Estado do Rio Grande do Norte ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), situado no Departamento de Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), campus Mossoró-RN. O período de recebimento das amostras foi de janeiro a dezembro de 2009, sendo recebidos em torno de 250 ml por lote em fracos de Polietileno estéreis. Os frascos foram identificados com um número próprio e único constando na ficha de recebimento de amostra do laboratório, essa ficha possuía a seguinte descrição, informação sobre o local de produção, data de recebimento, identificação da origem (local e nome do produtor) e análises a serem realizadas.

Os parâmetros analisados foram: presença de coliformes a 35°C e 45°C, *Salmonella sp* e a quantificação de bolores e leveduras das 90 amostras de mel coletadas.

4.2.2 As análises microbiológicas realizadas nas amostras de mel

A análise microbiológica das amostras entregues no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) foram acondicionadas, após o recebimento, em embalagens fechadas e deixadas em temperaturas entre 20°C a 25°C até que fossem realizadas as análises para determinação da presença de coliformes totais ou a 35°C, coliformes termotolerantes ou 45°C e bolores e leveduras. Essas análises foram realizadas pela metodologia descrita por Downes (2001), determinando o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT), e coliformes termotolerantes (CTT).

Após os devidos cuidados com a higienização da capela de fluxo laminar com álcool a 70%, deixou-se por um período de 15 minutos a lâmpada ultravioleta para garantir a esterilidade da mesma. Os recipientes contendo a amostras também receberam tratamento com álcool a 70% (externamente) antes de serem abertos. Pesou-se então na capela de fluxo laminar 25g de mel e diluiu-se em 225 ml de água peptonada 0,1%

sendo esta a diluição inicial de 10^{-1} , em seguida foram realizadas as diluições seriadas em tubos contendo 9,0ml do mesmo diluente para obtenção das concentrações 10^{-2} e 10^{-3} de mel.

4.2.2.1- Teste presuntivo de coliformes totais:

O teste presuntivo de coliformes totais foi realizado em caldo lauril sulfato triptose (LST) com tubos de Duhran, utilizando-se a técnica dos tubos múltiplos, com incubação a 35°C por 24h em banho-maria. Após esse período, alíquotas de caldo LST, que se constatarem crescimento e formação de gás foram transferidas com o auxílio de alça de platina para tubos com caldo verde brilhante bile 2%, em triplicata, e incubados a 35°C por 24 e 48 horas. Os tubos de verde brilhante bile 2%, com crescimento e produção de gás foram considerados positivos para a presença de coliformes totais.

4.2.2.2- Teste confirmativo da presença de coliformes termotolerantes:

Para a confirmação da presença de coliformes termotolerantes, foram transferidas alíquotas das amostras para o caldo LST, e onde se constatou crescimento e formação de gás, com o auxílio de alça de platina, transferiu-se uma alíquota para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), os ensaios foram realizados em triplicata, com tubos de Duhran imersos, e incubados em banho-maria com agitação mecânica a 44,5°C por 24 horas. Também foram incubados dois tubos contendo culturas padrão de *E. coli* e *Enterobacter aerogenes*, como controles positivo e negativo, respectivamente. Os tubos com crescimento e produção de gás foram considerados positivos para a presença de coliformes termotolerantes.

4.2.2.3- Bolores e leveduras:

A pesquisa de bolores e leveduras foi realizada pela metodologia descrita por Downes (2001). A partir das diluições obtidas anteriormente 0,1 ml das diluições de mel foram plaqueadas em ágar batata dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10% até pH 3,5 e incubadas por cinco dias a 25°C. em estufa BOD. Após esse período as placas foram contadas para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC.g⁻¹). Segundo Migdal, et. al., 2000 existe uma maior predominância das leveduras

Saccharomyces, *Schizosaccharomyces* e *Torula* no mel de *Apis mellifera*. Tal característica pode aumentar a fermentação do mel e alterar outras propriedades como o HMF (Hidroximetilfurfural).

4.2.2.4- *Salmonella* sp:

As análises microbiológicas para *Salmonella* sp seguiram as recomendação da Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Como metodologia para pesquisa de *Salmonella* utilizou-se 25g de cada amostra diluída em 225 mL de solução salina peptonada a 0,1%, utilizada como pré-enriquecimento, diluição esta que corresponde a 10^{-1} . Em seguida foram incubadas a 36°C por 20 horas, a partir da qual foram obtidas as demais diluições decimais até 10^{-4} , a partir da qual foram obtidas as demais diluições decimais até 10^{-3} . Para o enriquecimento, foram utilizados os Caldos Tetracionato (TT), Rappaport (RR) e caldo selenito-cistina, incubados juntamente com alíquotas das amostras em tubos a $41^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em banho-maria com circulação contínua de água por 24h. A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, foram repicados em placas de Agar SS Agar e EMB Agar Base incubados em estufa por 24h a 36°C. Colônias suspeitas foram submetidas a provas bioquímicas para confirmação de *Salmonella*.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na Tabela 12 pôde-se observar que das 90 amostras analisadas, 60 dessas amostras de mel de abelhas *Apis mellifera* apresentaram a contagem de bolores e leveduras maiores que 10^2 UFC/g. Esse valor é bem elevado quando se toma por base a legislação do MERCOSUL que possui limite de 1×10^2 UFC/g ou 100 UFC por grama. (Ver tabela 11)

Algumas das propriedades físicas do mel e a reação enzimática glicoseoxidase são consideradas os principais fatores, dentre outros, que podem contribuir para a propriedade antimicrobiana do mel como: elevada pressão osmótica / baixa atividade de água, baixo pH / meio ácido, baixo conteúdo protéico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, a viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos. (TAORMINA, et. al., 2001).

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

Apesar de vários autores descreverem as propriedades antimicrobianas do mel (COOPER & MOLAN, 1999; COOPER et al, 1999; KRELL, 1996; MATHEWS et al 2002; MOLAN, 1998; MOLAN, 1999; NZEAKO, 2000), foi constatado que das amostras analisadas 01 amostra do mel de *Apis mellifera* analisada tinha valores maiores que >1.100 NMP/g para coliformes a 35°C e 45°C e sete amostras com crescimento entre 15 e 3,6 NMP. g^{-1} sendo estes valores bem elevados se pegarmos como base a legislação do MERCOSUL onde o limite Máximo é de <3 NMP/g. Segundo White Júnior, 1978, estes microorganismos estão presentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento do mel (WHITE JÚNIOR, 1978).

Miraglio em seu trabalho afirma que microorganismos como *Escherichia coli* e *Salmonella* estão presentes no mel, corroborando com os resultados encontrados nesse trabalho.

Rosa et. al., 2006, trabalhando com méis de abelhas sem ferrão e de *Apis mellifera*, encontraram em 50% de suas amostras contagem para bolores e leveduras superiores a 100UFC/g^{-1} comportando-se da mesma forma que as amostras tratadas

nesse trabalho e consequentemente, inapropriadas para o consumo humano. (BRASIL, 2000). Autores como Sodré, 2005 e Roll et. al., 2003, encontraram valores acima do permitido pela legislação para bolores e leveduras, em méis de *Apis mellifera*, atingindo valores da ordem de 37,9% de méis contaminados para Sodré e no trabalho de Roll et. al. 14,3% para amostras industrializadas e 60,87% para méis que eles denominaram de produção caseira. Esses valores foram muito próximos aos encontrados nos méis da região Leste do Rio Grande do Norte com 66,7% apresentando valores superiores a 1×10^2 UFC/g⁻¹

Segundo Snowdon e Cliver a contagem de leveduras em amostra de mel geralmente não excede algumas centenas de ufc/g, mas têm sido encontradas variações de 1 a 3500 ufc/g (Snowdon & Cliver, 1996)

A análise de bolores e leveduras no mel apresentam grande importância para a indústria alimentícia por serem agentes deteriorantes dos alimentos (na sua maioria), além disso outros fungos podem estar presentes como relatado por Gilliam & Prest, 1987, quando citado por Almeida-Anacleto, 2007 em sua tese de doutorado.

Normalmente, a presença de coliformes fecais em alimentos é relacionada com contaminação fecal de animais e do homem (OLIVIERIA, 2004)

Alguns trabalhos referentes à microbiologia do mel demonstraram valores $< 3,0$ NMP g⁻¹ para coliformes totais. Alguns desses estudos são: Alves et. al. (2009) que analisou 22 amostras produzidas em Querência do Norte, Paraná (PR) e Sereia et al. (2010), que comparou as características microbiológicas de 11 méis, sendo orgânicos (11) e não orgânicos (6) produzidos na tríplice fronteira (entre os Estados de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul); a possível justificativa para o baixo valor de coliformes totais é o fato de terem sido coletadas diretamente nas melgueiras, não tendo passado por possível contaminação por manipulação.

Das 90 amostras ensaiadas duas apresentaram presença de *Salmonella sp.* o que estatisticamente não é representativo, mas por se tratar de um microorganismo patogênico, requer atenção e remete a contaminação cruzada do produto através da manipulação dos produto.

Tabela 12: Apresentação dos valores obtidos nas análises microbiológicas para bolores e leveduras e para coliformes totais e termotolerantes:

COD.	Bolor e leveduras(ufc.g ⁻¹)	Coliformes 35°C e 45°C (NMP. g ⁻¹)
01	3,1x10 ⁴	<3
02	3,3x10 ²	15
03	2,8x10 ³	240
04	2,8x10 ⁴	<3
05	2,8x10 ⁴	<3
06	2,5x10 ³	>1.100
07	2,6x10 ²	<3
08	4,5x10 ⁴	<3
09	7,0x10 ³	<3
10	2,7x10 ³	<3
11	3,0x10 ⁴	<3
12	2,7x10 ³	<3
13	40200	<3
14	5,5x10 ³	<3
15	5,7x10 ²	<3
16	3,2x10 ⁴	<3
17	4,05x10 ⁴	<3
18	2,8x10 ⁴	<3
19	2,6x10 ⁴	<3
20	3,3x10 ²	<3
21	1,1x10 ³	<3
22	2,8x10 ³	<3
23	1,03x10 ⁵	<3
24	2,9x10 ⁴	<3
25	9,1x10 ⁴	<3
26	4,9x10 ⁴	<3
27	6,5 x10 ⁴	9,4
28	2,6x10 ⁴	<3
29	2,7x10 ⁴	<3
30	2,9x10 ⁴	<3
31	4,9x10 ³	<3
32	5,7x10 ⁴	<3
33	1,05x10 ⁵	<3
34	16946	<3
35	4,6x10 ⁴	<3
36	2,5 x 10 ¹	<3
37	2,5 x 10 ¹	<3
38	2,5 x 10 ¹	<3
39	2,5 x 10 ¹	<3
40	2,5 x 10 ¹	<3
41	2,5 x 10 ¹	<3
42	2,5 x 10 ¹	<3
43	2,5 x 10 ¹	<3
44	2,5 x 10 ¹	<3
45	2,5 x 10 ¹	<3

46	$2,5 \times 10^1$	<3
47	$2,5 \times 10^1$	<3
48	$2,5 \times 10^1$	<3
49	$2,5 \times 10^1$	9,4
50	$2,5 \times 10^1$	<3
51	$2,5 \times 10^1$	<3
52	$2,5 \times 10^1$	<3
53	$2,5 \times 10^1$	<3
54	$2,5 \times 10^1$	<3
55	$2,5 \times 10^1$	11
56	$2,5 \times 10^1$	6,2
57	$2,5 \times 10^1$	3,6
58	$2,5 \times 10^1$	<3
59	$2,5 \times 10^1$	<3
60	$2,5 \times 10^1$	<3

COD = código das amostras

A média dos ensaios realizados com méis para microbiologia, sendo Coliformes termotolerantes, Bolores e Leveduras, bem como os desvios padrões seguidos dos valores máximos e mínimos encontram-se descritos na tabela 13 abaixo, mostrando o alto índice de contaminação por esses agentes microbiológicos.

Tabela 13- Estatística descritiva para variáveis microbiológicas

	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo
Bolores	10309,5618 $\pm$ 22556,10058	0	105000
Coliformes Termotolerantes	3,41124 $\pm$ 25,4874	0	240

Ao tentar estabelecer uma correlação entre as características microbiológicas encontradas e as características físico-químicas (ver tabela 14) não foi possível estabelecer tal correlação o que leva a suspeitar de algum fator antizimogênico atuando no mel, mascarando os resultados. Garcia-Cruz, 1999, já descrevia o aparecimento de tais interferentes, contudo o mesmo afirmava não saber quais seriam tais antizimogênicos. (GARCIA-CRUZ, 1999)

Tabela 14- Valores de correlação entre as variáveis microbiológicas e físico-químicas

	Bolor	Colifo.	Ativ. Água	Umid.	Cinza	Acidez	HMF	Sol. Ins	Açuc. Red.	Sacaro se
Bolor	-									
Colifo.	0,068	-								
Ativ. Água	0,135	-0,132	-							
Umid.	-0,088	-0,197	0,499**	-						
Cinza	-0,041	-0,011	-0,030	-0,155	-					
Acidez	0,099	0,044	0,107	0,184	0,230*	-				
HMF	0,141	0,147	-0,048	-0,064	-0,039	0,372**	-			
Sol. Ins	0,064	-0,101	0,047	0,123	-0,012	-0,206	-0,218*	-		
Açuc. Red.	-0,018	-0,062	0,182	0,009	-0,079	0,283**	0,137	-0,046	-	
Sacar.	0,098	0,176	-0,118	-0,187	-0,026	0,081	0,106	-0,009	-0,440**	-
Lund.	0,014	-0,075	0,195	0,220 *	-0,054	0,488**	0,215*	-0,059	0,117	-0,015

4.4 CONCLUSÃO

Verificou-se que 40 das amostras apresentaram-se em conformidade com o Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel (MERCOSUL/GMC/RES nº 15/94) e 60 amostras não respeitaram este padrão.

A presença destes microrganismos, principalmente bolores e leveduras, mesmo em amostras colhidas assepticamente indica a necessidade de identificação desta microbiota e sua possível ocorrência natural no mel produzido por este grupo de abelhas.

E o resultado positivo para coliformes, permitiu-se sugerir a necessidade de controle de qualidade, observando as boas práticas apícolas, para se assegurar um produto saudável e seguro para o consumidor.

A ausência de *Salmonella sp* para maioria não garante a segurança dos produtos analisados, uma vez que coliformes termotolerantes foram encontrados, revelando que esses méis podem estar sendo expostos a contaminações por outras enterobactérias, como a *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS

ABREU, B. et al., Avaliação Microbiológica de Méis não Inspeccionados Comercializados no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19 n.128, p. 109 – 112, jan./fev. 2005.

ALMEIDA-ANACLETO, D. **Recursos alimentares, desenvolvimento das colônias e características físico-químicas, microbiológicas e polínicas do mel e cargas de pólen de meliponíneos, do município de Piracicaba**, Estado de São Paulo.. Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 153p. 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; BASTOS, D.H.M.; MATSUDA, A. H. Controle de qualidade de méis de Melípona do Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16. 2006. Aracajú. **Resumo expandido...**Aracajú: Confederação Brasileira de Apicultura, 2006.

ALVES, E. M.; TOLEDO, V. DE A. A. DE; MARCHINI, L. C.; SEREIA, M. J.; MORETI, A.C. DE C. C.; LORENZETTI, E. R.; NEVES, C. A.; SANTOS, A. A. Avaliação da presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto rio Paraná.**Ciência Rural**. v. 39, n.7, p. 222-224, 2009.

BERTOLDI, C. R. C. Meliponicultura uma alternativa sustentável. **Embrapa**. Agosto de 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2008/agosto/2a-semana/meliponicultura-uma-alternativa-sustentavel>>, acesso em 21/11/2011.

BOGDANOV, S.; LULLMANN, C.; MARTIN, P.; OHE, W. von der; RUSSMANN, H.; VORWOHL, G.; PERSANO-ODDO, L.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; PIRO, R.; FLAMINI, C.; MORLOT, M.; LHÉRITIER, J.; BORNECK, R.; MARIOLEAS, P.; TSIGOURI, A.; KERKVLIT, J.; ORTIZ, A.; IVANOV, T.; D'ARCY, B.; MOSSEL, B.; VIT, P. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. **Bee World, Bucks**, v. 80, p. 61-69, 1999.

BRASIL, Leis, decretos, etc. Decreto no 30.691, de 08 de setembro 1997. **Diário Oficial**, Brasília, de 08 de setembro de 1997. Seção 1, p.19696-19697. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Mel.

BRASIL, Instrução Normativa n. 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 set. 2003. Seção I.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 012, nº12, de 02 de janeiro de 2001, **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 25 jan. 2010.

CODEx ALIMENTARIUS (2001), Codex standard 12, **Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods**, Volume 11 , disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acessado em 14 Junh. 2009.

COOPER, R; MOLAN, P. C. The use of honey as an antiseptic in managing pseudomonas infection. **J. Wound Care**, v. 8, n. 4, p. 161-164, 1999.

COOPER, R. A.; MOLAN, P. C.; HARDING, K. G. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. **J. R. Soc.Med.**, v. 92, p. 283-285, 1999.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001 . 676p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 182 p.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. Rome: **FAO Agricultural Services**, 1996. cap.2, cap.8.(Bulletin no. 124)

LOPES, M. T. R. As boas práticas na colheita e qualidade do mel. **Embrapa**. Janeiro de 2008. Disponível em <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2008/as-boas-praticas-na-colheita-e-qualidade-do-mel>>, acesso em 21/11/2011.

MATHEWS, K. A.; BINNINGTON, A. G. Woundmanagement using honey. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v. 24, n. 1, p. 53-60, 2002.

MERCOSUL/GMC/RES no 15/94. **Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1994-015.pdf>Acesso em: 04 fev. 2010.

MIGDAL, W.; OWCZARCZYK, B. H.; KEDZIA, B.; HODERNA-KDZIA, E.; MADAJCZYK, D. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry, Gewässerschaden*, v. 57, p. 285-288, 2000.

MIRAGLIO, A. M. M. **Honey-health and therapeuticqualities**. Disponível em: <http://www.nhb.org/techfood>. Acesso em: 18 nov. 2011.

MOLAN, P. C. A brief review of the use of honey as aclinical dressing. **Austr. J. Wound Manage.**, v. 6, n. 4,p. 148-158, 1998.

MOLAN, P. C. Why honey is effective as a medicine. 1. Its use in modern medicine. **Bee World**, v. 80, n. 2, p. 80-92, 1999.

MOLAN, P. C. Honey as an antimicrobial agent. Disponível em: <http://honey.bio.waikato.ac.nz/honey.shmtl>. Acesso em: 18nov. 2011.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 1997. 446p.

NZEAKO, B. C.; HAMDI, J. Antimicrobial potential of honey on some microbial isolates. **Med. Sci.**, v. 2, p. 75-79, 2000.

OLIVIERIA, D. DE A. **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo mussarela, elaborado a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*)**. Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 61 p. 2004.

ROLL, V. L. M.; BOMBO, A. J.; LOPES, T.F.; CARVALHO, L. R.; SILVA, M. G. Honey consumption in the State of São Paulo: a risk to human health? *Anaerobe*, Botucatú, v.09, p 229-303, 2003.

ROSA, I. G.; NASCIMENTO, A. R.; OLIVEIRA, E. G. Aspectos microbiológicos de méis de *Apis mellifera* e de *Melipona compressipesfasciculata* da baixada maranhense. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16. 2006. Aracajú. **Resumo expandido...**Aracajú: Confederação Brasileira de Apicultura, 2006.

SEREIA, M. J.; TOLEDO, V. A. A.; TOLEDO, V.R DE A. A. DE; MARCHINI, L. C.; ALVES, E. M.; FAQUINELLO, P.; ARNAUT, DE T., OLIVEIRA, T. C. S. DE. **Microorganisms in organic and non organic honey samples of Africanized honey bees**. *Journal of Apicultural Science*, v. 54, p. 49-54, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

SNOWDON, J.A., CLIVER, D.O. (1996). Microorganisms in honey, *International Journal of Food Microbiology*, 31, 1-26.

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

SODRÉ, G. S. Características físico-químicas, microbiológicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE) dos estados do Ceará e Piauí. 2005. 127p. Tese (Doutorado em Ciências)– Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2005.

SOUZA, B. DE A. **Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (*Apidae*, *Meliponinae*) do Estado da Bahia, com ênfase em *Melipona Illiger***, 2008, 107p. (Tese de Doutorado, em Ciências Área de concentração: Entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz).

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

WHITE JÚNIOR, J. W. Honey. **Advances in Food Research**, v. 22, p.287-374, 1978.