



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA**

**BROMATOLOGIA DE MEL PRODUZIDO POR
Apis mellifera COMERCIALIZADO NA CIDADE DE
RIO BRANCO - ACRE**

BRUNO FLANGINI

RIO BRANCO - AC

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA**

**BROMATOLOGIA DE MEL PRODUZIDO POR
Apis mellifera COMERCIALIZADO NA CIDADE DE
RIO BRANCO - ACRE**

BRUNO FLANGINI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Inovação Tecnológica.**

Área de concentração: Ciência e Inovação Tecnológica.

Orientadora: Profa. Dra. Clarice Maia Carvalho

RIO BRANCO - AC

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA

BROMATOLOGIA DE MEL PRODUZIDO POR
Apis mellifera **COMERCIALIZADO NA CIDADE DE**
RIO BRANCO - ACRE

BRUNO FLANGINI

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 04/07/2016.

Prof. Dr^a. Clarice Maia Carvalho (Orientadora)
Universidade Federal do Acre – (UFAC)

Prof. Dr. Fábio Augusto Gomes
Universidade Federal do Acre – (UFAC)

Prof. Dr. Rui Carlos Peruquetti
Universidade Federal do Acre – (UFAC)

Dedico este trabalho a minha mãe Guilhermina, pelo exemplo de vida, amor, dedicação e incentivo constante.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo incentivo, amor, educação, apoio, meus familiares, meus filhos, minha namorada, pelo amor e apoio durante todo o decorrer de meus estudos.

Profundo agradecimento à professora orientadora Clarice Maia Carvalho pela dedicação, presteza e paciência.

A CAPES por proporcionar a Bolsa de estudos durante as pesquisas.

A todos os técnicos, laboratoristas, funcionários envolvidos na execução das análises, em especial ao RuiSantana de Menezes, Cydia de Menezes Furtado, Osmar da Silva Torres e Guaracy Barbosa dos Santos Maia.

Aos alunos e companheiros de Laboratório de Microbiologia, em especial a João Paulo Oliveira por toda atenção.

À Instituição UFAC, aos professores do Curso de Mestrado, ao secretário Marcio Lima Dumont, por estar sempre à disposição.

E enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, seja de forma direta ou indireta, fica registrado aqui, o meu muito obrigado!

RESUMO

O mel de abelhas é um produto apreciado pelos brasileiros em geral, tendo havido uma procura crescente por ser um produto natural, no entanto as características físicas, químicas e microbiológicas, são pouco conhecidas, principalmente na região amazônica, onde a atividade apícola está sendo impulsionada há pouco tempo. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar as características físico-químicas e microbiológicas de méis produzido por *Apis mellifera* comercializado na cidade de Rio Branco – Acre. Foram coletadas 12 amostras de méis comercializados pela Cooperativa Acremel sendo analisados os parâmetros físicos-químicos umidade, açúcares totais, açúcares redutores, cinzas, grau Brix, acidez e pH, e como parâmetros microbiológicos coliformes a 45 °C, bactérias mesófilas, bolores e leveduras. Para análise de umidade foi utilizado o método AOAC, para açúcares totais, açúcares redutores e acidez foi utilizado as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, para análise de cinzas o método gravimétrico descrito pela Legislação Brasileira para méis de *Apis mellifera*, grau Brix foi utilizado o método refratométrico de Chataway, e a análise de pH foi realizada com o auxílio de pHmetro digital. As análises microbiológicas foram baseadas nas metodologias descritas no Método APHA sendo realizadas em triplicata. Dos parâmetros físico-químicos analisados, somente umidade estava fora dos limites estabelecidos pela legislação, onde as doze amostras analisadas apresentaram resultados não satisfatórios. Quanto às análises microbiológicas, três amostras apresentaram resultados acima dos limites permitidos para bactérias mesófilas, quatro amostras apresentaram acima dos limites para bolores e leveduras, não apresentando resultados microbiológicos satisfatórios. Nenhuma das amostras analisadas está apta para consumo humano.

Palavras – chaves: qualidade; parâmetros físico-químicos; parâmetros microbiológicos.

ABSTRACT

The honey bee is a product appreciated by the Brazilians in general, there has been an increasing demand for being a natural product, however the physical, chemical and microbiological characteristics are poorly known, especially in the Amazon region, where beekeeping is being driven some time ago. This work aimed to analyze the physicochemical and microbiological characteristics of honeys produced by *Apis mellifera* marketed in Rio Branco - Acre. We collected 12 samples of honeys marketed by the Acremel Cooperative being analyzed the physical and chemical parameters moisture, total sugars, reducing sugars, ash, Brix, acidity and pH, and as microbiological coliform parameters at 45 °C, mesophilic bacteria, molds and yeasts. Moisture analysis used the AOAC method for total sugars, reducing sugars and acidity was used analytical standards of the Institute Adolfo Lutz to ashes analysis gravimetric method described by the Brazilian legislation for honeys of *Apis mellifera*, Brix was used method the refractive Chataway, and pH analysis was carried out with the aid of digital pH meter. Microbiological analyzes were based on methodologies described in APHA method being performed in triplicate. The physicochemical parameters analyzed, only moisture was off limits established by law, where the twelve samples analyzed showed unsatisfactory results. As for the microbiological analysis of three samples showed results above the permitted limits for mesophilic bacteria, four samples were above the limits for yeasts and molds, not with satisfactory microbiological results. None of the samples is fit for human consumption.

Key-words: quality; physico-chemical parameters, microbiological parameters.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Parâmetros dos méis de abelhas produzidos por <i>Apis mellifera</i> no Brasil, Mercosul e no Mundo.	18
Tabela 1.	Análises físico-químicas das amostras de mel de <i>Apis mellifera</i> produzida no município de Rio Branco, Acre.	31
Tabela 2.	Análises microbiológicas das amostras de mel de <i>Apis mellifera</i> produzida pela Cooperativa Acremel no município de Rio Branco, Acre.	36

LISTA DE ABREVIATURAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PET	Plásticos de Polietileno Tereftalado
UTAL	Unidade de Tecnologia de Alimentos
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APHA	American Public Health Association
DRBC	Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol
NMP	Número Mais Provável
UFC	Unidade Formadora de Colônias
GMC	Grupo de Mercado Comum
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

SUMÁRIO

1. INTRODUCAO	Erro! Indicador não definido.
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	Erro! Indicador não definido.
2.1 Mel	Erro! Indicador não definido.
2.2 Controle de qualidade.....	Erro! Indicador não definido.
2.2.1 Característica físico-químicas	Erro! Indicador não definido.
2.2.1.1 Indicadores de Maturidade	Erro! Indicador não definido.
2.2.1.2 Indicadores de Pureza.....	Erro! Indicador não definido.
2.2.1.3 Indicadores de Deterioração	Erro! Indicador não definido.
2.2.2 Qualidade Microbiológica.....	Erro! Indicador não definido.
3. OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
3.1 Geral.....	Erro! Indicador não definido.
3.2 Específicos	Erro! Indicador não definido.
4. MATERIAL E MÉTODOS	Erro! Indicador não definido.
4.1 Amostras	Erro! Indicador não definido.
4.2 Análises físico-químicas	Erro! Indicador não definido.
4.2.1 Umidade	Erro! Indicador não definido.
4.2.2 Açúcares Totais	Erro! Indicador não definido.
4.3.3 Açúcares Redutores.....	Erro! Indicador não definido.
4.2.4 Cinzas ou resíduo mineral fixo.....	Erro! Indicador não definido.
4.2.5 Grau Brix.....	Erro! Indicador não definido.
4.2.6 Acidez	Erro! Indicador não definido.
4.2.7 pH.....	Erro! Indicador não definido.
4.3 Análises Microbiológicas.....	Erro! Indicador não definido.
4.3.1 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes (fecais) a 45 °C	Erro! Indicador não definido.
4.3.2 Contagem de coliformes totais.....	Erro! Indicador não definido.
4.3.3 Contagem de Coliformes termotolerantes	Erro! Indicador não definido.
4.3.4 Contagem de Bactérias Mesófilas	Erro! Indicador não definido.
4.3.5 Método de Contagem total de Bolores e Leveduras em Placas.....	Erro! Indicador não definido.
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
5.1 Análise Físico-Química de Méis produzido por <i>Apis mellifera</i>	Erro! Indicador não definido.
5.2 Análise Microbiológica de Méis produzido por <i>Apis mellifera</i>	Erro! Indicador não definido.

6. CONCLUSÕES	Erro! Indicador não definido.
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Erro! Indicador não definido.

1. INTRODUÇÃO

A apicultura é uma atividade de grande importância principalmente pelos benefícios de polinização de plantas, sendo os custos iniciais relativamente baixos comparados com diversas atividades agropecuárias (DE ANDRADE, 2013). Entretanto, com história pouco conhecida, apesar dos inúmeros trabalhos descrevendo as características dos méis, sendo o desenvolvimento desta ciência pouco divulgado (SANTOS, 2016).

A criação de abelhas para produção de mel é uma atividade que têm sido incentivada em diversas regiões do país, sendo que na Amazônia, dentro do sistema de diversificação e uso da terra, se apresenta como novo potencial para exploração sustentável, seja como complementação da renda familiar, seja como atividade geradora de renda fixa levando-se em consideração que a Região Norte possui um grande potencial para o desenvolvimento da apicultura, que é uma das grandes opções de exploração das potencialidades naturais da flora, representando ainda um excelente instrumento de geração de trabalho e renda para o homem do campo (BOTH, 2009).

O mel é uma substância produzida a partir do néctar das flores que estas coletam e transformam através da evaporação da água e da adição de enzimas. Esse produto é uma solução supersaturada de açúcares, principalmente glicose e frutose, mas também possui outros constituintes, como sacarose, maltose, sais minerais, vitaminas, enzimas, hormônios, proteínas, ácidos, aminoácidos e fermento (BATISTA, 2004).

É comum encontrar variações na composição física e química de méis de abelhas e outros produtos apícolas, e estes fatores interferem na sua qualidade, dentre estas estão condições climáticas, espécie de abelha, processamento e armazenamento, e a espécie vegetal que originou a matéria-prima (SILVA et al., 2004). Há também uma variação na qualidade microbiológica, pois os produtos apícolas apresentam uma microbiota própria que pode ser

dividida em microrganismos peculiares, introduzidos pelas próprias abelhas, e microrganismos introduzidos de forma acidental devido à falta de higiene na manipulação e beneficiamento incorretos (SCHLABITZ et al., 2010), além de más condições de armazenamento e acondicionamento.

Assim, há uma necessidade que se estabeleçam técnicas analíticas para que se conheça a composição química do mel, a fim de conhecer parâmetros físico-químicos e microbiológicos em cada grupo de méis, com isso é possível a identificação de fraudes e eventuais mudanças.

A Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento regulamenta as análises obrigatórias para a determinação da qualidade do mel, em atendimento às exigências da cadeia produtiva a seguir relacionadas: açúcares redutores, umidade, sacarose aparente, sólidos insolúveis em água, minerais (cinzas), acidez, atividade diastásica e hidroximetilfurfural (BRASIL, 2000).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar a análise físico-química e microbiológica de mel produzido por *Apis mellifera* comercializado na cidade de Rio Branco – Acre.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Mel

O mel é um produto alimentício natural produzido por abelhas melíferas, a partir do néctar das flores, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos das colméias (BRASIL, 2000), está presente no hábito alimentar dos humanos desde a idade da pedra, onde servia como o único adoçante disponível, sendo utilizado como produto alimentar e medicinal (ALVAREZ, 2010).

O mel é o mais conhecido e difundido dentre os produtos fornecidos pelas abelhas, sendo utilizado fartamente como alimento, muito apreciado devido ao seu valor nutritivo, sabor agradável característico, sendo utilizado como adoçante natural e fonte de energia (CRANE, 2013).

A composição do mel depende de diversos fatores, entre podem ser citados alguns, como principais, as fontes vegetais das quais é derivado, diferentes fatores, como o solo, espécie da abelha, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, condições meteorológicas por ocasião da colheita, entre outros (SILVA, 2006).

Os açúcares monossacarídeos são os maiores constituintes dentre os componentes dos méis, variando entre 85% a 95% (WHITE, 1979). Apresenta também teores de proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, substâncias minerais, pólen e outras substâncias, sacarose, maltose, maltotriose e outros oligossacarídeos (incluindo dextrinas). Além de pequenas concentrações de fungos, algas, leveduras e outras partículas sólidas resultantes do processo de obtenção do mel (CODEX STANDARD FOR HONEY, 2001). A água, também

importante, pode influenciar na viscosidade, no peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (WHITE, 1978).

Na avaliação da qualidade dos méis, um parâmetro importante é a diastase, considerada a principal enzima (BOGDANOV, 1997). No mel são encontrados compostos voláteis como álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos, ésteres e terpenos (DE MARIA, 2003), ácidos fenólicos e flavonoides contribuem significativamente para a capacidade terapêutica dos méis que variam muito, dependendo da fonte floral (GHELDOLF, 2002).

A coloração, aroma e sabor do mel variam de acordo com a sua origem floral, podendo ser quase incolor, âmbar, escuro e pardo escuro. A idade, a temperatura de estocagem do mel, além do superaquecimento e contaminação com metais também podem escurecer o mel, e de maneira geral, o mel escuro tem mais sais minerais do que o mel claro (MENDES, 2009), além de maiores quantidades de açúcares redutores (CORTOPASSI-LAURINDO, 1991).

Diferentes estudos têm demonstrado que o mel tem efeitos antimicrobianos (OMOYA, 2012), efeitos anti-inflamatórios (DUNFORD, 2000) e efeitos antioxidantes (GHELDOLF, 2002).

2.2 Controle de qualidade do mel

O mel é um produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas. Contém ainda uma mistura complexa de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter cera de abelhas procedente do processo de extração. As práticas de higiene para elaboração do produto devem estar de acordo com o Regulamento Técnico Mercosul sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 2000).

No Brasil, o controle de qualidade do mel é regulamentado pela Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2000). Esta regulamentação, baseada em legislações europeias para méis de *Apis mellifera*, estabelece a identidade e requisitos mínimos de qualidade que o mel destinado ao consumo humano direto deve apresentar em relação a padrões físico-químicos da Legislação Brasileira que regulamenta o controle de qualidade do mel de abelhas (Quadro1).

Quadro 1. Parâmetros para méis de abelhas produzidos por *Apis mellifera*.

Parâmetros	Brasil (2000)	Mercosul (1999)	Codex Alimentarius (2001)
Umidade (%)	máximo 20	máximo 20	máximo 20
Açúcares redutores (%)	60 - 65	mínimo 65	mínimo 60
Cinzas (%)	máximo 0,60	máximo 0,60	–
Acidez (meq.kg⁻¹)	máximo 50	máximo 50	máximo 50

Para se ter uma certeza na qualidade dos produtos comprados, as análises físico-químicas de mel são obrigatórias, e a microbiológica se faz necessária, devido à maioria dos méis não passarem por processo de pasteurização (MENDES, 2009).

2.2.1 Característica físico-químicas

Vários são os fatores que influenciam a qualidade do mel, como por exemplo, condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha, processamento e armazenamento, além do tipo de florada, portanto podem-se encontrar variações na sua composição física e química (SILVA et al., 2004). A legislação brasileira indica para o controle de qualidade do mel puro de abelhas do gênero *Apis* as seguintes análises devem ser realizadas: açúcares redutores, sacarose aparente e umidade, com finalidade de determinação de maturidade; sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas, para determinação da pureza; acidez livre, atividade distásica e hidroximetilfurfural, para constatar a deterioração dos méis (BRASIL, 2000).

Através da descristalização dos méis pode-se obter o hidroximetilfurfural (HMF) que se eleva conforme o aumento da temperatura, armazenamento, adição de açúcar invertido, podendo também sofrer alterações pela acidez, pH, água e minerais (SALINAS, 1991).

2.2.1.1 Indicadores de Maturidade

Os açúcares são indicadores de maturidade, presentes em maior concentração no mel, sendo responsáveis por suas qualidades e propriedades como viscosidade, higroscopicidade, granulação, valor energético e atividade antibacteriana (SODRÉ, 2005).

Açúcares que sofrem hidrólise, como a sacarose, pode ser um parâmetro de pureza, quando detectados em grande quantidade, caracterizam adulteração, tanto na alimentação das abelhas, quanto na adição direta no mel (MOURA, 2010).

2.2.1.2 Indicadores de Pureza

O teor de cinzas expressa os minerais presentes no mel, sendo utilizado também, como um critério de sua qualidade e está relacionado com a sua origem botânica e geográfica (MARCHINI et al., 2004). As cinzas representam resíduos inorgânicos que permanecem após a queima de matéria inorgânica em uma amostra. Constituem-se basicamente de minerais como Na, K, Ca, Mg além de Fe, Al, Mn e outros elementos que podem influenciar diretamente na coloração do mel, sendo que alguns sais podem sofrer redução ou volatilização no aquecimento (BRASIL, 2000).

Os sólidos solúveis correspondem a todas as substâncias que se encontram dissolvidas em um determinado solvente, sendo a constituição dos sólidos solúveis determinada principalmente por açúcares, variáveis com a espécie da planta e o clima e designados como °Brix, tendo tendência de aumento com a maturação. A medição dos sólidos solúveis pode ser feita no campo ou na indústria, com auxílio de um refratômetro (CHITARRA, 1990).

2.2.1.3 Indicadores de Deterioração

A acidez contribui para a estabilidade do mel, no que se refere ao desenvolvimento de microrganismos. No mel podemos encontrar os ácidos acético, benzóico, butírico, cítrico, fenilacético, glucônico, isovalérico, láctico, maléico, oxálico, propiônico, piroglutânico, succínico e valérico, dissolvidos em solução aquosa, produzindo íons de hidrogênio que promovem acidez ativa o qual permite indicar as condições de armazenamento e o processo de fermentação (MARCHINI et al., 2004). A acidez é um fator importante no mel, indicando a textura, a estabilidade, além de indicar a conservação pois inibe a ação de microrganismos e realça seu sabor (MOURA, 2010).

Os méis são ácidos, com valor de pH variando entre 3,5 e 5,5, e este pode ser influenciado pelo pH do néctar, solo, associação de vegetais para composição do mel, e substâncias mandibulares da abelha acrescentadas ao néctar no transporte até a colméia (EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005). Baixo pH e a temperatura de refrigeração favorecem o desenvolvimento de fungos, os quais podem se tornar predominantes no produto, além de implicar na redução da vida de prateleira do produto que pode representar risco à saúde do consumidor (BRUNO et al., 2005).

A enzima responsável pela quebra do amido (diástase) possui mais sensibilidade ao calor que as outras enzimas e, com o aquecimento do mel, há uma degradação da atividade diastásica, importante parâmetro de qualidade do mel, já que baixos níveis de diástase indicam que o mel foi superaquecido, há também a possibilidade de o produto ter sido estocado em ambientes inadequados, ser velho ou mesmo adulterado (MAR CAVIA, 2008).

Indicador de qualidade, a formação do hidroximetilfurfural é o resultado da transformação dos açúcares, frutose e glicose que são encontrados naturalmente no mel. A elevação da temperatura eleva o processo, por isso, o hidroximetilfurfural passou a ser usado

como indicador de aquecimento, processamento inadequado ou mesmo adulteração com xaropes (VIEIRA, 2012).

2.2.2 Qualidade microbiológica

Um dos maiores produtores de mel em todo o mundo, o Brasil possui grande importância apícola, porém é considerada uma cultura rudimentar, sendo frequente a contaminação de méis por microrganismos patogênicos como bactérias esporuladas e fungos produtores de micotoxinas (LIRIO, 2010).

Este alimento pode ser comparado a outros produtos de origem animal apresentando uma baixa microbiota, apesar de não ser um alimento estéril, e estar susceptível a contaminações, geralmente pelas más condições de manipulação (GOMES et al., 2005).

Vários são os fatores que podem contribuir na contaminação microbiológica dos méis, como a microbiota da própria abelha ou também microrganismos podem ser introduzidos no mel pela baixa ou falta de higienização em sua extração e manipulação, incluindo-se o pólen, néctar floral, poeira, terra, o próprio corpo e trato digestivo das abelhas (LIEVEN, 2012).

Há microrganismos indicadores que refletem diretamente na qualidade microbiológica dos alimentos para a ausência de patógenos alimentares. O controle da vida de prateleira dos alimentos está diretamente relacionado à segurança do consumidor (JAY, 2005). O mel não deve conter substâncias estranhas, de qualquer natureza, tais como insetos, larvas, grãos de areia e outros (BRASIL, 2000).

Para se ter certeza da qualidade dos produtos comprados, as análises físico-químicas de mel são necessárias. A microbiológica faz-se necessária devido à maioria dos méis não passarem por pasteurização (MENDES, 2009). Com referência aos padrões microbiológicos, a Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, estabelece o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de

mel, estabelecendo um valor tolerável de $1,0 \times 10^2$ UFC/g para bolores e leveduras e ausência (< 3,0 NMP/g) para coliformes totais (BRASIL, 2000).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Análise bromatológica do mel produzido por *Apis mellifera* comercializado na cidade de Rio Branco, Acre.

3.2 Específicos

- 3.2.1 Determinar as características físico-químicas do mel produzido por *Apis mellifera* comercializado na cidade de Rio Branco, Acre;
- 3.2.2 Determinar as características microbiológicas do mel produzido por *Apis mellifera* comercializado na cidade de Rio Branco, Acre.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras

Doze amostras de mel produzido por *Apis mellifera* proveniente dos apicultores associados à Cooperativa Acremel – Associação dos Produtores de Mel do Estado do Acre foram adquiridas entre os meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016 dos próprios apicultores, em embalagens comerciais em frascos de plásticos de polietileno tereftalado (PET), prontas para comercialização, envasadas nos meses de dezembro e janeiro, identificadas, e mantidas à temperatura ambiente, sendo analisadas em triplicata no Laboratório da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL) da Universidade Federal do Acre.

4.2 Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas com base nas metodologias recomendadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento utilizando a Instrução Normativa nº 11, de outubro de 2000 (BRASIL, 2000).

4.2.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado em estufa à temperatura de 105 °C até obter peso constante de acordo com o método The Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2002). Foram utilizados recipientes de vidro aquecidos até a temperatura de 105 °C para que fosse retirada toda a umidade residual, em seguida os recipientes foram pesados, e adicionado aproximadamente 5 g de mel em balança analítica com precisão 0,0001.

Para a determinação da porcentagem de umidade foi utilizada a equação:

$\frac{N \times 100}{P} = \text{umidade por cento}$

P

Em que:

N = Perda de massa em g

P = Massa da amostra em g

4.2.2 Açúcares Totais

Os procedimentos analíticos foram realizados de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (1985).

Para as análises dos açúcares, preparou-se uma solução de mel (5g de mel + 100 mL de água destilada), em seguida foram diluídos 10 mL desta solução para 100 mL de água e levado ao banho-maria a 37 °C por 15 minutos. Neutralizou-se com carbonato de sódio 1M e titulou-se com uma solução contendo 5 mL de solução de Fehling A, 5 mL de solução de Fehling B, 20 mL de água destilada e uma gota de solução do indicador de azul de metileno.

O teor de açúcar total foi calculado pela equação:

$\frac{100 \times 100 \times T}{P \times V} = \text{açúcar total (g/100g)}$

P x V

Onde:

T = Título da solução de Fehling

V = mL de amostra gasta na titulação

P = Peso da amostra em g

4.2.3 Açúcares Redutores

Foi realizado de acordo com catálogo de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), onde 26 g da amostra foram pesadas em um béquer de 50 mL e transferidas para um

balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de 50 mL de água. Adicionado 5 mL de creme alumina, agitado e adicionado 2 gotas de hidróxido de amônio, agitado novamente e ajustado a temperatura da solução a 20 °C. Completado o volume com água a 20 °C, filtrado em filtro seco e o filtrado recebido em um frasco seco. Nesta solução foi determinado o desvio planimétrico antes e depois da inversão, como a seguir descrito:

a) antes da inversão → a 20 °C foi transferido a solução para um tubo de 2 dm de um polarímetro e feito a leitura. A 87 °C, aquecido a solução e feita a leitura em um tubo de 2 dm.

b) Depois da inversão → a 20 °C foi transferido, com o auxílio de uma pipeta, 50 mL de solução para um balão volumétrico de 100 mL e adicionado 10 mL de ácido clorídrico (D = 1,10) a 20 °C. Deixado em repouso por 24 horas a 20 °C. Completado o volume com água a 20 °C e transferido a solução para um tubo de 2 dm de um polarímetro e feito a leitura a 20 °C, e multiplicado o resultado por dois, com estes valores calculado frutose, glicose e sacarose, usando as fórmulas descritas a seguir.

O teor de açúcares redutores foi calculado pela equação:

$$\frac{2 \times 1000}{P \times V} = \text{açúcar redutor, g/100g}$$

P x V

em que:

P = massa de amostra em g

V = mL da amostra gasto na titulação

4.2.4 Cinzas ou resíduo mineral fixo

O método utilizado foi o gravimétrico descrito pela Legislação Brasileira para méis de *Apis mellifera* que é baseado no *Codex Alimentarius*, conforme método recomendado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000).

Para análise foram utilizados 5 g de mel das amostras pesados diretamente em um cadinho de porcelana com peso conhecido. Em seguida, as amostras foram levadas a mufla, aquecida a 100 °C por 4 horas. Posteriormente, a temperatura da mufla foi ajustada gradativamente de hora em hora com incrementos de 100 °C até chegar à temperatura de 600 °C, onde permaneceu por 4 horas. O cálculo de cinzas foi obtido através da seguinte equação:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{cinzas por cento}$$

P

em que:

N = peso (massa) das cinzas em g

P = peso (massa) da amostra em g

4.2.5 Grau Brix

A determinação do Grau Brix dos méis foi realizada pelo método refratométrico de Chataway, que é um método indireto, recomendado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e baseado na AOAC (2002). O método consiste na análise da amostra para a determinação do índice de refração do mel a 20 °C realizada no refratômetro de Abbe. A leitura do resultado é realizada no equipamento.

4.2.6 Acidez

A acidez do mel de *Apis mellifera* foi determinada de acordo com catálogo de Normas Analítica do Instituto Adolfo Lutz Adolfo Lutz (1985).

Foi pesado 2g da amostra em uma cápsula de porcelana, transferido para um erlenmeyer de 250 mL com o auxílio de 50 mL de água, agitado e adicionado 2 gotas do indicador fenolftaleína. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,01N até a coloração rósea.

Cálculos:

Em solução normal:

$\frac{V \times f}{P}$ = acidez em solução normal por cento v/p

P

Em ácido fórmico:

$\frac{V \times f \times 0,00046}{P}$ = ácido fórmico por cento p/p em solução normal por cento v/p

P

Em que:

V = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,01 N gasto na titulação

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,01 N

P = n de g da amostra

4.2.7 pH

Foi realizado com o auxílio de pHmetro digital marca Labmeter, modelo PHS-3B. Foi realizada a calibração do pHmetro e em seguida pesou-se 10 g de mel diretamente em um becker de vidro e adicionou-se 75 mL de água destilada. Foi realizada a leitura do resultado diretamente no mostrador digital, seguindo a metodologia de Brasil (2000).

4.3 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, contagem padrão de microrganismos aeróbios e mesófilos, foram baseadas nas metodologias descritas no Método da American Public Health Association (APHA) (SILVA, 2007).

De acordo com a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, que estabelece o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de mel, este estipula um valor tolerável de $1,0 \times 10^2$ UFC/g, para bolores

e leveduras e ausência (<3,0 NMP/g) para coliformes totais (BRASIL, 2000). As amostras de cada lote foram higienizadas externamente e identificadas por letras (A a L). A homogeneização das amostras foi efetuada na própria embalagem, e após a abertura das mesmas foi observada a aparência do produto.

4.3.1 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes (fecais) a 45 °C

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com três series de três tubos em cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) usando como meio presuntivo o caldo de lactose com incubação a 35 °C durante 48 horas. Após a leitura, os tubos positivos, com produção de gás nos tubos de fermentação, foram repicados para caldo *Escherichia coli* (EC) com incubação a 45 °C em banho maria com agitação, por 24 horas, para prova confirmativa de coliformes fecais a 45 °C (fecais). A determinação do NMO de coliformes foi realizada com o auxílio de Tabela de Hoskins (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992).

4.3.2 Contagem de coliformes totais

A partir dos tubos de LST com produção de gás, foi transferido uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e incubado a $35\pm 0,5$ °C por 24h e foi observado se havia crescimento com produção de gás. Em caso negativo (crescimento e/ou produção de gás), a amostra foi reincubada até completar 48h e repetida a leitura.

Foi anotado o número de tubos de VB com crescimento e produção de gás, confirmativos da presença de coliformes totais, e assim determinado o número mais provável (NMP)/g.

4.3.3 Contagem de coliformes termotolerantes

A partir dos tubos de LST com produção de gás, foi transferido uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de caldo EC e incubado a $45,5 \pm 0,2$ °C por 24h e observado se havia crescimento com produção de gás.

Foi anotado o número de tubos de EC com produção de gás, confirmativos da presença de coliformes tolerantes e assim determinado o Número Mais Provável (NMP)/g.

4.3.4 Contagem de Bactérias Mesófilas

Dez gramas de mel foram diluídos em água peptonada 0,1% (1:10, p:v), sendo considerada assim a suspensão inicial. Após homogeneização, foi efetuada diluições decimais, transferindo-se 1 mL de suspensão inicial (10^{-1}) para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada estéril, repetindo-se o processo para obter várias diluições. Foi inoculado 1 mL da suspensão (10^{-1}) em placa de Petri estéril, sendo este procedimento realizado em triplicata. O passo anterior foi repetido para as demais diluições decimais. Foi depositado de 12 a 15 mL de meio de cultura PCA em cada placa de Petri. Após completa solidificação, as placas foram incubadas na estufa em posição invertida a 30 °C durante 72 h. Após incubação, foram contadas as colônias presentes em cada placa. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

$$\text{UFC/g} = \frac{\sum C}{V n_1 + n_2 d}$$

Onde:

UFC – unidades formadoras de colônias;

$\sum C$ – soma das colônias de todas as placas contadas;

d – diluição a partir do qual se obtiveram as primeiras contagens;

n1 – número de placas da primeira diluição contada;

n2 – número de placas da segunda diluição contada;

V – volume do inóculo semeado em cada placa.

4.3.5 Método de contagem total de Bolores e Leveduras em Placas

Assepticamente, alíquotas de 25 g de amostras foram pesadas e posteriormente adicionadas em 225 mL de água peptonada estéril 0,1%, homogeneizados e diluído a concentração de 10^{-1} . A partir desta diluição foram feitas as diluições subsequentes necessárias a análise dos produtos.

A contagem de bolores e leveduras foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando-se as mesmas diluições já preparadas. Em seguida foram retiradas, transferidas e inoculadas alíquotas de 1 ml de cada diluição, para placas de Petri com o meio de cultura Agar Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC), espalhando o inóculo com uma alça de Drigalski, das placas de maior diluição para as placas de menor diluição, até que todo excesso de líquido fosse absorvido. As placas foram mantidas em estufa incubadoras por 5 dias a 21 °C, sendo posteriormente contadas as colônias existentes, por meio da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/g) (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992).

Foi aguardado as placas secarem por no mínimo 15 minutos e incubadas entre 22 – 25 °C por cinco dias sem inverter, em pilhas de não mais de três placas, no escuro.

Para a contagem de colônias e cálculo de resultados, foram selecionadas placas com 15 a 150 colônias e contadas com o auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. Na placa selecionada, foram contadas separadamente as colônias com aspecto filamentososo, cotonoso ou pulverulento, características de bolores.

Na mesma placa, foram contadas as demais colônias, que podem ser de leveduras ou de bactérias, eventualmente capazes de crescer. Foi selecionado pelo menos cinco dessas colônias

e verificada a morfologia das células ao microscópio, observando se a cultura era de leveduras, bactérias ou mistura de ambas. Para isso, foi realizada uma montagem úmida (entre lâmina e lamínula) ou uma coloração de Gram. Foram consideradas como confirmadas, todas as colônias que apresentarem leveduras ou misturas de leveduras e bactérias, e assim determinado o número de colônias e leveduras na placa em função da porcentagem confirmada. Sendo interpretado da seguinte forma, se de 30 colônias contadas, cinco foram submetidas à confirmação e três foram confirmadas como leveduras (60%). Então o número de colônias de leveduras na placa é de $30 \times 0,6 = 18$.

Para calcular o número de UFC/g ou mL de bolores, foi multiplicado o número de colônias típicas de bolores por dez e pelo inverso da diluição. Para calcular o número de UFC/g ou mL de leveduras, foi multiplicado o número de colônias confirmadas como leveduras por 10 e pelo inverso da diluição. Para calcular o número total de bolores e leveduras, foram somados, o número de colônias de bolores e o número de colônias confirmadas como leveduras e multiplicado por dez e pelo inverso da diluição.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise Físico-Química de méis produzido por *Apis mellifera*

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios obtidos nas análises físico-químicas das 12 amostras de méis de *Apis mellifera* produzidos pelos associados da Cooperativa Acremel analisados.

Tabela 1. Análises físico-químicas das amostras de mel de *Apismellifera* produzida no município de Rio Branco, Acre.

Amostras	Umidade %	Açúcares Totais (%)	Açúcares Redutores (%)	Cinzas (%)	Grau Brix (°BX)	Acidez (mEq Kg-1)	pH
A	26,96 ± 0,44	72,4 ± 1,02	69,79 ± 3,85	0,48 ± 0,09	78,9 ± 0,01	22,6 ± 2,17	4,41 ± 0,01
B	20,96 ± 0,08	76,83 ± 1,19	72,96 ± 1,41	0,05 ± 0,03	79,3 ± 0,01	35,7 ± 1,66	3,74 ± 0,01
C	23,40 ± 1,06	75,69 ± 0,57	71,60 ± 0,68	0,11 ± 0,01	77,6 ± 0,01	35,5 ± 2,51	3,84 ± 0,01
D	22,16 ± 0,75	76,23 ± 1,77	72,25 ± 2,11	0,04 ± 0,03	78,1 ± 0,01	41,1 ± 2,84	3,58 ± 0,02
E	22,63 ± 0,92	77,64 ± 1,17	73,93 ± 1,71	0,01 ± 0,01	77,8 ± 0,01	29,8 ± 1,68	3,57 ± 0,08
F	22,97 ± 1,40	75,35 ± 1,14	71,21 ± 1,351	0,34 ± 0,03	77,7 ± 0,01	39,5 ± 2,23	3,92 ± 0,02
G	21,10 ± 0,44	76,21 ± 1,77	72,23 ± 2,11	0,10 ± 0,09	78,2 ± 0,01	42,0 ± 2,36	3,58 ± 0,02
H	22,87 ± 0,20	75,09 ± 1,37	70,89 ± 1,35	0,11 ± 0,09	77,8 ± 0,01	23,4 ± 1,19	3,52 ± 0,02
I	23,46 ± 0,08	75,70 ± 0,01	71,61± 0,01	0,06 ± 0,02	77,1 ± 0,01	35,6 ± 2,54	3,52 ± 0,02
J	21,23 ± 0,25	76,81 ± 1,19	72,95 ± 1,14	0,32 ± 0,06	79,4 ± 0,01	42,7 ± 2,24	4,03 ± 0,02
K	21,72 ± 0,25	75,64 ± 1,12	71,55 ± 1,33	0,023 ± 0,04	78,7 ± 0,01	42,7 ± 1,85	3,73 ± 0,03
L	21,77 ± 0,07	75,72 ± 1,12	71,66 ± 1,34	0,17 ± 0,09	78,1 ± 0,01	37,1 ± 2,74	3,67 ± 0,02
Limite*	Max 20	NE	Min 65	Max 0,6	NE	Max 50	NE

* Estabelecido pela I.N.de n^o. 11 de 2000 (BRASIL, 2000). N.E.=. Não estabelecido pela legislação

Dentre todos os parâmetros físico-químicos analisados, o único parâmetro que não está em conformidade com os padrões de qualidade estabelecidos pelas Normas Brasileiras (BRASIL, 2000), é a umidade, onde os valores oscilaram de 20,96% a 26,96%, todos acima do permitido pela legislação. Pode-se atribuir o alto teor de umidade a coleta precipitada antes da total operculação dos mesmos (MORAES, 2014), condições climáticas e armazenamento inadequado, que podem ser fatores que influenciam na quantidade de umidade, permitindo o mel absorver umidade do ambiente (FINCO, 2010).

A umidade de um alimento está diretamente relacionada com sua estabilidade, qualidade, composição, características de estocagem, embalagem e processamento, podendo ser afetada, além de ser o principal fator para os processos microbiológicos como o desenvolvimento de fungos, leveduras e bactérias que são tolerantes ao açúcar, presentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento podendo provocar fermentação do produto quando o teor estiver elevado (MARCHINI et al., 2004).

Análises sobre a umidade de méis obtiveram resultados também em desconformidade, como o realizado com méis no Estado do Mato Grosso, com resultados variando entre 15,96% a 22,51%, sendo que 18,75% das amostras foram desclassificadas (CARDOSO-FILHO, 2015), com méis de Alta Floresta, também no Mato Grosso, com valores de umidade entre 16,6 e 17,4 % para méis de *Apis mellifera* e em abelhas indígenas, melíponas, entre 27,7 e 32,0 % de umidade (FUJII, 2009) e com méis de *Apis mellifera* do Estado do Tocantins obteve resultados entre 17% a 20,7% (MARCHINI, 2004). Entretanto, nenhum dos apresentados obteve umidade de todas as amostras fora do limite aceito pela legislação, como no presente trabalho. No Acre, apenas um trabalho foi realizado com este escopo e obteve resultados para o teor de umidade

relativa nos méis de abelhas entre 27,7 e 45,8%, acima do limite, como no presente trabalho (VALE, 2015).

Diversos são os fatores que podem ter sido responsáveis pelo índice superior ao da legislação como absorção de água, um fator que pode ser levado em consideração é que o mel é extremamente higroscópico (ZUMLA, 1989).

Segundo Linhares (2014), o mel por conter grande quantidade de açúcares, possui poder higroscópico e absorve água facilmente do ambiente. O conteúdo de água no mel é uma das características mais importantes e constitui o segundo componente em quantidade, variando conforme o clima, a origem floral e época de colheita (SILVA, 2004).

Esta maior absorção pode estar relacionada à maior umidade do bioma amazônico, que de acordo com a Classificação de Köppen, o clima acreano é do tipo equatorial, quente e úmido, ocorrendo duas estações distintas, uma seca que se inicia no mês de maio prolongando-se até o mês de outubro, e uma chuvosa, que ocorre de novembro a abril, sendo caracterizado por chuvas constantes e abundantes, onde a umidade relativa do ar atinge até 90%, índice bastante elevado se comparado ao de outras regiões brasileiras. Deve-se considerar também, que o mel analisado, foi coletado exatamente na estação chuvosa e esta condição pode ter favorecido o maior teor de umidade nos méis.

Os resultados obtidos para açúcares totais neste trabalho variaram de 72,48 a 77,64%, entretanto não existe um valor estabelecido para máximo e mínimo para açúcares totais pelos padrões de qualidade brasileiros (BRASIL, 2000). O Regulamento Técnico de Qualidade e Identidade de Mel fixa valores máximos para a presença de sacarose, principal açúcar não redutor presente no mel, que é de máximo 6g/100g para mel floral. Por diferença, obtém-se o resultado para açúcares não redutores, podendo este valor ser considerado como sacarose. Isto

indica que o mel analisado também atendeu aos padrões para açúcares totais e/ou açúcares não redutores (SILVA, 2003). Nas amostras analisadas, foi obtido mínimo de 2,6g/100g e de máximo de 4,2g/100g, atendendo assim o regulamento. Os açúcares totais são indicadores de maturidade, e no trabalho realizado no estado do Tocantins também foram obtidos resultados semelhantes, variando de 73,54 a 83,44% de açúcares totais (MARCHINI, 2004).

De acordo com CORTOPASSI-LAURINDO (1991) que analisou amostras de méis de *Apis mellifera* em diversas regiões do Brasil, a coloração escura dos méis provém da maior quantidade de açúcares redutores. O conteúdo de açúcares redutores obtidos para as amostras analisadas variou de 69,79 a 73,93%, dentro dos parâmetros nacionais exigidos para o mel de *Apis mellifera* que de acordo com as normas nacionais estabelece mínimo de 65%. Os açúcares redutores no mel também são indicadores de maturidade, sendo que os resultados obtidos neste trabalho estão dentro dos parâmetros, assim como Marchini (2004) analisando méis no Estado de Tocantins com valores de 68,29 e 79,47%, e Finco (2010), com valores que variam entre 62,70 e 76,20%.

Para a análise de cinzas, as amostras de méis da Cooperativa Acremel ficaram entre 0,02 e 0,24 %. Trabalhos semelhantes realizados na Amazônia encontraram valores no estado do Tocantins que variaram entre 0,05 e 0,60% (FINCO, 2010), e resultados entre 0,01 e 0,30% (MARCHINI, 2004). As cinzas são demonstrativas de pureza, sendo que todas amostras analisadas neste trabalho apresentaram valores dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, que é de no máximo 0,6% (BRASIL, 2000).

A falta de higiene, a não decantação e/ou filtração no final do processo de retirada do mel são irregularidades que podem ser determinadas através do método de determinação de cinzas (EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005).

Em algumas amostras analisadas neste estudo o baixo conteúdo de cinzas pode ser característico de méis florais e/ou claros (SANTOS, 2013). O teor de cinzas é influenciado pela origem botânica da flor podendo expressar também a riqueza em quantidade do mel em minerais, constituindo um parâmetro muito utilizado nas determinações que visam verificar sua qualidade, e o elevado de cinzas indica que o mel sofreu adulterações (VENTURINI, 2007).

Segundo trabalho de Silva (2003) onde faz comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel, a refratometria em escala °Brix constitui um método físico para medir a quantidade de sólidos solúvel presentes em uma amostra, este método baseia-se em um sistema de graduação de aparelhos especialmente para ser utilizado na indústria açucareira, mais precisamente na análise de açúcares. A Instrução Normativa nº 11 de 2000 do Ministério da Agricultura não exige a realização da análise de °Brix para determinação da qualidade do mel.

Entretanto, vários trabalhos realizando análise de mel utilizam este parâmetro para análise da qualidade deste produto. Gois (2013) cita que Grau °Brix indica a quantidade em gramas dos sólidos que se encontram dissolvidos na água existente em um alimento, sendo os resultados obtidos para Grau °Brix entre 77,1 a 79,4 nos méis analisados. Para análise de méis no Acre, Vale (2015) encontrou resultados variando entre 61,8 a 76,1 em 16 amostras de méis de melíponas no município de Cruzeiro do Sul.

A acidez livre dos méis analisados neste trabalho varia entre 22,6 a 42,74 mEq Kg⁻¹. Finco (2010) obteve valores variando entre 35,0 e 59,0 %, e Marchini (2004) entre 29,33 e 47,67%, no Estado de Tocantins. Nos trabalhos aqui apresentados, todos obtiveram uma grande variação entre os valores, superando os 20 %, sendo todos realizados na Região Amazônica.

A variação na acidez grande pode estar relacionada ao néctar das flores coletadas pelas abelhas que a cada espécie lhe confere características, ou ainda, as condições do solo em proporções menores (HORN, 1996). A variação dos ácidos orgânicos proveniente da diversidade de fontes de néctar coletado pelas *Apis mellifera* que pela ação da glicose-oxidase, originam o ácido glucônico, que pode ocasionar a acidez dos méis além de outros fatores como a ação das bactérias durante sua maturação (WHITE, 1980).

O pH é um parâmetro físico-químico não indicado como análise obrigatória no controle de qualidade dos méis brasileiros, porém mostra-se útil como variável auxiliar para avaliação da qualidade, estando associado ao desenvolvimento microbiano em qualquer alimento, no caso específico dos méis, diversos autores constataam uma faixa limite variável de pH, geralmente localizado entre 3,3 e 4,6, recomendados pela Portaria Sistema de Inspeção de Produção Aprovado (SIPA) 006/85 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Tais valores de pH impedem o desenvolvimento de microrganismos que necessitam de valores de pH neutros ou básicos, deixando assim o espectro de microrganismos potencialmente contaminantes bastante limitado (LIRIO, 2010).

Nos méis de *Apis mellifera* analisados neste trabalho, os valores de pH variaram de 3,52 a 4,41, no entanto, este parâmetro não está diretamente relacionado com a acidez livre devido à ação tampão dos ácidos e minerais presentes no mel. O conteúdo de ácidos no mel é relativamente baixo, porém, são importantes para o sabor do mesmo. Finco (2010) obteve valores variando entre o mínimo de 3,40 e máximo de 4,20 %, e Marchini (2004) entre 3,26 e 4,31 %, ambos no Estado de Tocantins. Valores mais elevados de pH, podem ser indicativos de processos fermentativos ou de adulteração do produto. Durante a extração e estocagem do mel, o valor do pH influencia na textura, estabilidade e vida de prateleira (BRUNO, 2005).

5.2 Análise Microbiológica de Méis de *Apis mellifera*

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos nas análises microbiológicas das 12 amostras de méis de *Apis mellifera* produzidos pelos associados da Cooperativa Acremel analisados.

Tabela 2. Análises microbiológicas das amostras de mel de *Apis mellifera* produzida pela Cooperativa Acremel no município de Rio Branco, Acre.

Amostra	Coliformes a 45 °C	Bactérias Mesófilas	Bolores e Leveduras
A	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
B	<3 NMP/g	3,5x10 ³ UFC/g*	<5UFC/g
C	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
D	<3 NMP/g	Incontáveis*	Incontáveis*
E	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
F	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5,0x10 ² UFC/g*
G	<3 NMP/g	8,8x10 ³ UFC/g*	<5,0x10 ² UFC/g*
H	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
I	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5,0x10 ² UFC/g*
J	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
K	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
L	<3 NMP/g	<5UFC/g	<5UFC/g
Limite	< 3,0 NMP/g	1,0x10 ² UFC/g.	1,0x10 ² UFC/g.

NMP = Número Mais Provável/gramas; UFC = Unidade Formadora de Colônias; *Amostras com quantidade acima do recomendado pela legislação.

A legislação brasileira e internacional vigente não exige a obrigatoriedade na realização de análises microbiológicas em mel, estabelecendo apenas que sejam seguidas boas práticas de higiene adequadas no processamento do produto (SILVA, 2006).

Todas as amostras de méis analisadas não apresentaram contaminação por coliformes a 45 °C (Tabela 2), isso leva a entender que houve condições adequadas de higiene ao longo do processamento do produto, e que o mesmo possui qualidade higiênico-sanitária satisfatória (FONTES et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2011) no Estado do Ceará, e Wanderley (2015) no Estado da Paraíba que também não detectou bactérias do grupo coliformes em méis de *A. mellifera*.

Verificou-se que três amostras (B, D, G) apresentaram contaminações por bactérias mesófilas aeróbias, que variaram entre <5UFC/g a incontáveis. Trabalho de Lima (2015) encontrou também em algumas amostras as referidas bactérias, porém em menor quantidade, o que requer atenção na inspeção de qualidade do produto. Da Silva (2013) também encontrou em suas análises bactérias mesófilas, chegando à conclusão que estes dados demonstram falhas nas etapas de produção, que compreende desde a coleta até a embalagem final do produto para comercialização.

De acordo com a Resolução 15/94 GMC do Mercosul (1994), que aprovou o Regulamento Técnico para determinar a Identidade e Qualidade de Mel, aprovado pela Portaria nº 367, 04 de setembro de 1997, que considera que é necessário fixar a identidade e qualidade do mel destinado ao consumo humano a ser comercializado entre os Estados Partes do Mercosul, o mel deve conter um máximo de 100 UFC/g. Quatro amostras (D, F, G, I) analisadas apresentaram bolores e leveduras acima do valor máximo estabelecido. Neris (2013) analisou méis de *Apis mellifera* comercializados informalmente no Estado do Maranhão onde amostras apresentaram bolores e leveduras, assim como estudos realizados por Melo (2015) que observou que mais que 50 % das amostras analisadas também apresentaram bolores e leveduras.

As instalações de casas de mel em locais desordenados, assim como as variáveis do ambiente, podem ser responsáveis pela presença de bolores e leveduras, em quantidades superiores aos permitidos pela regulamentação técnica para alimentos, RDC 012 (BRASIL, 2001). A presença de leveduras pode se tornar um risco para alimentos, uma vez que podem crescer em condições ácidas e em concentrações elevadas de sacarose. O processo de fermentação envolve a hidrólise de açúcares para produzir álcool e dióxido de carbono, e o álcool pode ser convertido em ácido acético na presença de oxigênio (CRANE, 2013).

A reação enzimática glicose-oxidase com a produção de ácido glucônico e peróxido de hidrogênio constitui um dos principais fatores para a atividade microbiana do mel, porém, se houver uma baixa atividade de água, elevada pressão osmótica, baixo pH, baixo meio ácido, baixo conteúdo protéico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores e viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio, todos estes itens associados inibem o crescimento de microrganismos (GOIS, 2013).

Os microrganismos que provém dos méis de abelhas são oriundos principalmente do néctar das flores e das abelhas, estes méis raramente contêm bactérias entéricas ou estafilococos. (FRAZIER, 1993).

6. CONCLUSÕES

Todas as doze amostras analisadas estavam em desconformidade com a Instrução Normativa nº 11 de 2000, visto todas conterem teores de umidade acima do permitido.

Das 12 amostras analisadas, três apresentavam bactérias mesófilas (B, D, G) e quatro bolores e leveduras (D, F, G, I), indicando estes como impróprio para o consumo humano.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; BERTOLI, E.; BATTINO, M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 3, n. 1, p. 15-23, 2010.

BATISTA, C. A natureza é o meio. Almanaque rural apicultura nº 01. São Paulo: **Escala**, p. 64-65. 2004.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLMANN, C. Harmonized methods of the international honey commission. **Apidologia**, p. 1-59, 1997.

BOTH, J. P. C. L.; BOTH, A. L. C.M. Mel na composição da renda em unidades de produção familiar no município de capitão poço, Pará, Brasil. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p.931-934, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Revoga portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. Resolução – RDC n. 12, 2 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União, Poder Executivo**, de 10/01/2001, Brasília, 2001. Art. 4a, p. 1-48.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de outubro de 2000.

BRUNO, L. M.; QUEIRÓZ, A. A. M. D.; ANDRADE, A. P. C. D.; VASCONCELOS, N. M. D.; BORGES, M. D. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim Centro Pesquisas e Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 75-84, 2005.

CARDOSO-FILHO, N.; COELHO, R. M.; RODRIGUES, A.; MIGUEL, R.M.; CAMARGO, T. R. C. Avaliação físico química de méis comercializados em algumas cidades do Estado de Mato Grosso do Sul – MS. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 6, 2015.

CODEX STANDARD FOR HONEY. Revised codex standard for honey codex stan 12- 1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001). Disponível em:<<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/>> Acesso em: 10 ago. 2016.

CHITARRA M. I. F.; CHITARRA B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio. **Lavras. UFLA** 1990.

CORTOPASSI-LAURINDO, M.; GELLI, D. Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Méliponinés* Du Brésil. **Apidologie**, v. 22, n. 1, p. 61-73, 1991.

CRANE, E. E. The world history of beekeeping and honey hunting. **Editora Routledge**, p. 720, 2013.

DE ANDRADE, Anderson Bruno Anacleto et al. PRODUTIVIDADE DAS COLMEIAS DE *Apis mellifera* L. EM MUNICÍPIOS DO SERTÃO PARAÍBANO. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 3, n. 2, p.5, 2013.

DUNFORD, C.; COOPER, R.; MOLAN, P.; WHITE, R. The use of honey in wound management. **Nursing Standard**, v. 15, n. 11, p. 63-68, 2000.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. D.; BESERRA, E. M; RODRIGUES, M. L.; Adriana et al. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1166-1171, 2005.

FELDSINE, P., ABEYTA, C.; ANDREWS, W. H. AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *Journal of AOAC International*, 85(5), pp.1187-1200. 2002

FINCO, F. D. B. A.; MOURA, L.L.; SILVA, I.G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 706-712, 2010.

FONTES, R. P. M.; ISEPON, J. S.; CORREA, J. H. M. Análises Microbiológicas de amostras de mel de abelhas in natura industrializadas, comercializadas no Município de Ilha Solteira. **Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho** 4p.

FUJII, I. A.; RODRIGUES, P. R.M.; FERREIRA, M.D. N. Caracterização físico-química do mel de guaranazeiro ("*Paullinia cupana* var. *sorbilis*") em Alta Floresta, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 3, p 645-653, 2009.

GOIS, G. C.; LIMA, C. A. B. D.; SILVA, L. T.; RODRIGUES, A.E. Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de qualidade. **Acta Veterinária Brasílica**, v. 7, n. 2, p. 137-147, 2013.

GOMES, L.P.; OLIVEIRA, D. F. B.; MIRANDA, A. N.; SOUZA, M. M. S. Determinação de *Bacillus* sp. em amostras de mel produzidos por abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.). **Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Santos, 2005.

GHELDOLF, N.; WANG, X.; ENGESETH, N. J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5870-5877, 2002.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D.C. Microbiologia de los alimentos. 3 ed. Zaragoza: **Editorial Acribia**, v. 4. P. 701, 1993

HORN, H. Intensive practical cours on honey analysis. São Paulo: **FFCLRP/USP**, Tese de Doutorado. 43p. 1996

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos de composição de alimentos**. São Paulo, v.1, 3. ed., 1985.

JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. **Artmed**, v. 6, p. 712, 2005.

LIEVEN, M.; CORREIA, K. R.; FLOR, T. L.; FORTUNA, J. L. Avaliação da qualidade microbiológica do mel comercializado no extremo sul da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 544, 2012.

LIMA, J. B. A.; AROUCHE, M. M. S., PEREIRA, L. S.; ALVES, L. M. C.; COSTA, F. N.; SILVA, G. A. Condições higiênico-sanitárias do mel produzido por *Apis mellifera* no Estado do Maranhão. **REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 4, n. 1, p. 10, 2015.

LINHARES, M. V. D.; SANTOS B. D.; BORGES, V. F.; BORGES, V. F. S. D. S. A fermentação alcoólica em méis de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus. **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí**. v. 3., n.2., 2014.

LIRIO, F. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados**. 2010. 156f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

DE MARIA, C. A. B. D.; MOREIRA, R. F. A. Compostos voláteis em méis florais. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 90-96, 2003.

MAR CAVIA M., ALVAREZ C., HUIDOBRO, J. F., FERNANDEZ – MUINO, M. A., TERESA SANCHO, M. Evolution of hydroxymethylfurfural content of honeys from different climates: Influence of induced granulation. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 59, n. 1, p. 88-94, 2008.

MARCHINI, L. C.; SODRE, G. D. S.; MORETI, A. C. D. C. C.; OTSUK, I. P. Composição físico-química de amostra de méis de *Apis mellifera* L. do Estado de Tocantins, Brasil. **Boletim de Indústria Animal**, v. 61, n. 2, p. 101-114, 2004.

MELO, F., MARTINS, W., NICOLETTI, G., SILVEIRA, C., RODRIGUES, M., MARTINS, S., ARAUJO, A. D. S. Qualidade microbiológica do mel de abelha *Apis mellifera* do sertão paraibano. **Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, p.6. (2015).

MENDES, C.G.; SILVA, J. B. A.; MESQUITA, L. X.; As Análises de Mel: Revisão. **Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 7-14, 2009.

MERCOSUL. 1994. Mercado Comum do Sul. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel”. Resolução MERCOSUL/GMC/RES. nº 15/94. 2011. Disponível em:<http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC_reS_1994-015.pdf> Acesso em: 10 ago. 2016

MERCOSUL. 1999. Mercado Comum do Sul. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel”. Resolução MERCOSUL/GMC/RES. nº 56/99. Disponível em:<http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PdF/GMC_RES_1999-056.pdf> Acesso em: 10 ago. 2016

MORAES, F. J.; GARCIA, R. C.; VASCONCELOS, E.; CAMARGO, S. C.; PIRES, B. G.; HARTLEBEN, A. M.; LIESENFELD, F.; PEREIRA, D. J.; MITTANCK, J.; GIASSON, J.;

GREMASCHI, J. R. Physicochemical parameters of honey from samples from Africanized honey bees in Santa Helena and Terra Roxacounties (PR). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1269-1275, 2014.

MOURA, S. G. D. **Boas práticas apícolas e a qualidade do mel das abelhas *Apis mellifera* Linnaeus**. 2010. 76f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

NERIS, M.S.; LACERDA, L. M.; RABEL, H. P. S.; LIMA, L. M. Ocorrência de bolores e leveduras em méis comercializados informalmente no estado do Maranhão. **Nutrire**, v. 38, p. 439-439, 2013.

OMOYA, F. O.; AKHARAIYI, F. C. Mixture of honey and ginger extract for antibacterial assessment on some clinical isolates. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, n. 5, p. 127-132, 2012.

SANTOS, D. D. C.; NETO, M.; MOURA, L. G. D.; MARTINS, J. N.; SILVA, K. D. F. N. L. Qualidade microbiológica de méis comercializados na região do Vale do Jaguaribe, CE. **Higiene Alimentar**, v. 25, n. 194/195, p. 143-146, 2011.

SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A. de. Características físico-químicas e microbiológicas de méis de *Apis mellifera* L. provenientes de diferentes entrepostos. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 67-74, 2013.

SANTOS, J. O. **Um estudo sobre a evolução histórica da apicultura**. 2016. 92f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2016.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S.A.F.; SOUZA, C.F.V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em Mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 80-90, 2010.

SALINAS, F.; ESOINOSA-MANSILLA, A.; BERZAS-VEVADO, J. J. Flow-injection determination of HMF in honey by Winkler method. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 340, n. 4, p. 250-252, 1991.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.4, n.1, p71-78, 2003.

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

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

SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. **Varela**, 2007.

SILVA, L.P.F.R.; RODRIGUES, M.S.A.; MARTINS, S.S.; ALMEIDA, J.C.; MELO, F.S.N.; ARAUJO, A.S. Verificação da qualidade microbiológica de méis produzidos e comercializados no Sertão Paraibano. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 5, 2013.

SILVA, R.N.; MONTEIRO, V.N.; ALCANFOR, J.A.X.; ASSIS, E.M.; ASQUIERI, E.R. Comparison methods for the determination of reducers sugars and total in honey. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 337–341, 2003.

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. 127f. Tese (Doutorado em Ciências) Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba, 2005.

VALE, M. A. D. **Bromatologia de méis de abelhas sem ferrão produzidos no município de Cruzeiro do Sul, Acre.** 2015. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2015.

VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. Compendium for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington: **American Public Health Association**, 1219p, 1992.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características do mel. Boletim Técnico, **Universidade Federal do Espírito Santo**, 2007.

VIEIRA, L. R. **Estudo da descristalização térmica do mel sob influência da agitação**. 2012. 78f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas, 2012.

WANDERLEY, R. O. S.; WANDERLEY, P. A.; DANTAS, M. B.; MACHADO, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Avaliação dos parâmetros de qualidade e estabilidade térmica de méis produzidos na região de Sousa-PB. **ACTA Apícola Brasília**, v. 3, n. 1, p. 10-17, 2015.

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

WHITE, J. W. Methods for determination of carbohydrates, hydroxymethylfurfural and proline in honey: Collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 62, n. 3, p. 515-526, 1979.

WHITE, J. W.; DONER, L.W. Honey composition and properties. Beekeeping in the United States. **Agriculture Handbook**, v. 335, p. 82-91, 1980.

ZUMLA, A.; LULAT, A. Honey--a remedy rediscovered. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 82, n. 7, p. 384, 1989.