



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRÁRIAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS
(AGROECOLOGIA)



AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MEL ORGÂNICO COMERCIAL

Jerônimo Galdino dos Santos

Bananeiras, PB

2023

Jerônimo Galdino dos Santos

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MEL ORGÂNICO COMERCIAL

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (Agroecologia) (PPGCAG) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias (Agroecologia).

Área de Concentração: Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.

Linha de Pesquisa: Ciências Agrárias, Indicadores e Sistemas de Produção Sustentáveis.

Orientador: Prof. Ítalo de Souza Aquino, Ph.D.

Bananeiras, PB

2023

Ficha Catalográfica
Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237a Santos, Jeronimo Galdino dos.

Avaliação físico-química e microbiológica de mel orgânico comercial /
Jeronimo Galdino dos Santos. - Bananeiras, 2024.
67 f.

Orientação: Ítalo de Souza Aquino, PhD.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCHSA.

1. Mel. 2. Físico-química. 3. Microbiologia. 4. Qualidade. I. Aquino, Ítalo
de Souza. II. Título.

UFPB/CC

CDU 63

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS (AGROECOLOGIA)

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MEL ORGÂNICO COMERCIAL

Jerônimo Galdino dos Santos

Dissertação apresentada a banca examinadora formada pelos seguintes especialistas.

Ítalo de Souza Aquino
(orientador/ PPGCAG / UFPB)

Alex da Silva Barbosa
(membro interno / PPGCAG / UFPB)

Solange de Sousa
(membro interno / PPGCAG / UFPB)

Perícles de Farias Borges
(membro externo ao programa / UFPB)

Aprovado em 05 de setembro de 2023.

PSICOLOGIA DE UM VENCIDO

Eu, filho do carbono e do amoníaco,
Monstro de escuridão e rutilância,
Sofro, desde a epigênese da infância,
A influência má dos signos do zodíaco.

Profundissimamente hipocondríaco,
Este ambiente me causa repugnância...
Sobe-me à boca uma ânsia análoga à ânsia
Que se escapa da boca de um cardíaco.

Já o verme este operário das ruínas –
Que o sangue podre das carnificinas
Come, e à vida em geral declara guerra,

Anda a espreitar meus olhos para roê-los,
E há de deixar-me apenas os cabelos,
Na frialdade inorgânica da terra!

EU, “Augusto dos Anjos”.

Prefácio

Esta é uma dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias Agroecologia (PPGCAG) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias (Agroecologia). O formato desta dissertação está de acordo com os padrões da revista *JRG de Estudos Acadêmicos*. Esta dissertação é composta de três capítulos: Capítulo I, Avaliação Físico-Química de Mel Orgânico Comercial; Capítulo II, Qualidade Microbiológica de Mel Orgânico Comercial; Capítulo III: Análise Polínica e Autenticidade de Mel Orgânico Comercial.

O consumo crescente de produtos orgânicos é o seu maior valor agregado, contudo que um produto possa ser orgânico necessita de um selo de certificação mediante autoridade própria; esta certificação proporciona uma vantagem e na produção de mel orgânico oferece garantia de qualidade, uma aceitação de consumo e possui alto valor agregado.

Expondo as suas características físico-químicas a sua maturidade de água, açúcares e sacarose aparente como também a sua limpeza referente aos minerais (cinzas) no mel de flores, ao parâmetro de qualidade pH, atividade de água, condutividade elétrica, acidez, cor, água, relacionado o seu frescor mediante o índice de hidroximetilfurfural - HMF e atividade diastásica indicadores de mel em condições de armazenamento.

A ecologia microbiana é um conjunto de medidas que garante a segurança alimentar (*FSO – Food Safety Objective*) e metas de desempenho (*PO – Performance Objective*), a partir de boas práticas de fabricação e higiene, cumprindo metas de inocuidade que não causem nenhum dano à saúde do consumidor. A flora microbiana original introduzida pelas próprias abelhas espécies de fungos, leveduras osmóticas, dependendo das condições do próprio homem e manipulações, pode apresentar contaminação secundária pela presença de patógenos, como *Salmonella sp.*

O mel, pela sua alta osmolaridade antisséptica é constituído de peróxido de hidrogênio na forma natural de proteção da colmeia é comprovada pelas suas propriedades antibacteriana e medicinais, inibindo bactérias patogênicas dando segurança e qualidade ao produto. As abelhas sendo o principal polinizador do mundo, garante a produção de alimento e pela sua biodiversidade existente no país, o mel deve conter grãos de pólen garantindo a sua autenticidade sem vestígios de grãos de amido e açúcares.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

Avaliação Físico-Química de Mel Orgânico Comercial

Introdução	7
Material e Métodos	11
Material	11
Método	11
2.2.1 pH	11
2.2.2 Acidez	12
2.2.3 Condutividade Elétrica	12
2.2.4 Atividade de Água	12
2.2.5 Determinação de Água	13
2.2.6 Cor	13
2.2.7 Determinação e Cinzas	14
2.2.8 Determinação da Atividade Diastásica	14
2.2.9. Determinação Hidroximetilfurfural (HMF)	14
2.2.10 Determinação da Atividade da Glicose-Oxidada em Mel	15
2.2.11 Açúcares Redutores e Sacarose	15
2.2.12 Determinação de Frutose	16
2.2.13 Determinação de Vitamina C Total (Tillmans)	17
2.2.14 Classificação do Mel Floral e Melato	17
2.2.15 Prolina	18
2.2.15 Determinação da Concentração de Peróxido de Hidrogênio	18
2.2.17 Determinação de Taninos Totais (Método de Lowenthal com Modificação)	18
2.2.18 Determinação de Proteínas Totais	19
2.2.19 Índice de Cristalização	19
Análise de Dados	20

Resultados e Discussão.....	21
Conclusão	27
Referências	27

Capítulo II

Qualidade Microbiológica de Mel Orgânico Comercial

Resumo	36
1 Introdução.....	37
2. Material e métodos	42
2.1 Material.....	42
2.2 Método.....	42
2.2.1 Diluição Inicial	42
2.2.2 Determinação simultânea de coliformes e <i>E.coli</i>	42
2.2.3 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas	43
2.2.5 Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	43
2.2.6 Enumeração <i>Bacillus cereus</i>	43
2.2.7 Enumeração de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
2.2.8 Enumeração de <i>Lactobacillus</i>	44
2.2.9 Enumeração de bactérias acéticas.....	44
2.2.10 Enumeração de leveduras osmofílicas.....	44
2.2.11 <i>Salmonella sp.</i>	45
4 Análise de Dados	45

5 Resultados e Discussão.....	46
6 Conclusão	47
Referências	47

Capítulo III

Análise polínica e Autenticidade dos Meis Orgânico Comercial

Resumo	52
1 Introdução.....	53
2 Material e Métodos.....	56
2.1 Material.....	56
2.2 Método.....	56
3 Resultados e Discussão.....	58
4 Conclusão	61
Referências	61

CAPÍTULO I

Avaliação Físico-Química de Mel Orgânico Comercial

Resumo

O mel orgânico do Brasil é considerado pela sua qualidade e diversidade de aromas conquistando os mercados internacionais livre de contaminações químicas e biológicas indesejáveis. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas mel orgânico comercial. Foram avaliadas amostras de mel orgânico comercial no comércio eletrônico “*e-commerce*”. Este estudo foi realizado no Laboratório de Físico-Química de Alimentos (LFQA) do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Foram analisadas as propriedades físico-químicas conforme os métodos preconizados foram, acidez e pH; condutividade elétrica; atividade de água; cor; cinzas; atividade diastásica; atividade da glicose-oxidase; glicose; sacarose e frutose; vitamina C total, cor, concentração de peróxido de hidrogênio; taninos totais; e proteínas totais. Aplicou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) a análise de variância e o teste de Tukey ($p < 0,05$), através do *software* R[®]. As marcas comerciais de mel orgânico estudadas não apresentaram diferenças significativas [Tukey ($p < 0,05$)] relativamente aos aspectos físico-químicos. Quanto a cor, variou entre branco e extrabrancos depende da sua origem floral e fatores ambientais, atendendo as legislações. As marcas comerciais de mel orgânico estudadas estão conforme a legislação.

Palavras-chave: Mel; Análise físico-química; qualidade.

Abstract

Organic honey from Brazil is regarded for its quality and diversity of flavors, conquering international markets free of undesirable chemical and biological contamination. The aim of this study was to evaluate the physicochemical properties of commercial organic honey. Samples of commercial organic honey from e-commerce were evaluated. This study was carried out at the Food Physical Chemistry Laboratory (LFQA) of the Center for Human, Social and Agrarian Sciences (CCHSA) of the Federal University of Paraíba (UFPB). The physicochemical properties analyzed according to the recommended methods were acidity and pH; electrical conductivity; water activity; color; ash; diastatic activity; glucose oxidase activity; glucose; sucrose and fructose; total vitamin C, color, hydrogen peroxide concentration; total tannins; and total proteins. A fully causalized design (DIC) was applied to the analysis of

variance and Tukey's test ($p < 0.05$), using the R® software. The commercial brands of organic honey studied showed no significant differences [Tukey ($p < 0.05$)] in terms of physicochemical aspects. As for color, it varied between white and off-white depending on its floral origin and environmental factors, complying with legislation. The commercial brands of organic honey studied comply with the legislation.

Keywords: Honey; physicochemical analysis; quality.

1. Introdução

O mel é uma substância doce, 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 a ficar sobre partes vivas (Brasil, 2000). As abelhas possuem grande importância no serviço da polinização cruzada, que constitui importante adaptação evolutiva das plantas, aumentando o vigor das espécies, possibilitando novas combinações de fatores hereditários e aumentando da produção de frutos e sementes (Sousa, 2017).

Segundo o Brasil (2000), o mel é um alimento produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou de secreções procedentes de partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colmeia.

A polinização é o processo de transferência do pólen de uma planta para a outra, mediado por um agente polinizador, seja ele biótico ou abiótico, o polinizador possibilita a reprodução cruzada ao transportar o pólen até o receptor feminino (estigma) de outra planta se se mostrando vantajosa, pois garante a diversidade e a variedade de espécies de plantas, levando à produção e a melhoria da produção de alimentos. A importância das abelhas na polinização supera barreiras ecológicas, sendo importante para a agricultura, beneficiando no aumento da produção agrícola (Carvalho, 2017).

A composição do mel é uma solução de açúcares concentrado com predominância de glicose e frutose, contendo minerais, ácidos orgânicos, substâncias aromáticas, pigmentos e pólen (Josefina, 2016). A tabela 1 apresenta a composição química do mel.

Tabela 1 Composição Química do Mel

Componentes	Variação
Água (%)	13,4 - 22,9
Frutose (%)	27,25 - 44,26
Glicose (%)	22,03 - 40,75
Sacarose (%)	0,25 - 7,57
pH	3,42 - 6,10
Acidez livre (meq/kg)	6,75- 47,19
Cinzas (%)	0,020 - 1,028
Diastásica	2,10 - 61,20

Fonte: Embrapa, 2002

O mel é produto mais importante da atividade apícola no Brasil, em cada cultura a evidência do uso como uma fonte de alimento e como um símbolo empregado em cerimônias religiosas, mágicas e terapêuticas. Além de ser um alimento e também o mel é utilizado como medicamento, devido às suas propriedades antissépticas, antibacterianas, antiproliferativa, anticancerígena, como conservante de frutas e grãos, e até mesmo como oferenda aos deuses.

Os padrões de qualidade para mel são estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000 (Brasil, 2000), a qual fixa padrões de identidade e qualidade para méis florais e de melato (Sousa, 2014).

Na sua composição, o mel apresenta inúmeros componentes e substâncias, desde açúcar até sais minerais, proteínas e vitaminas, com valores e proporções já determinados ação antimicrobiana do mel, sendo considerado um anti-inflamatório e antibiótico natural, dependendo da sua composição química. Vários fatores podem contribuir para a propriedade antimicrobiana do mel, dentre os quais baixa atividade de água, alta pressão osmótica, baixo valor de pH, sistema glucose-oxidase, com a formação de peróxido de hidrogênio, alta taxa carbono/nitrogênio, baixo potencial redox relacionado ao alto conteúdo de açúcares redutores, baixo conteúdo de proteínas, presença de agentes químicos e substâncias voláteis, (Santos,2013).

Com base na Lei n.º 10.831 de 23 de dezembro de 2003, um sistema orgânico de produção é todo aquele que adota técnicas medidas a otimizar o uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito a integridade cultural das comunidades e unidades de produção rural. Para a produção de mel orgânico não existe legislação específica, a certificação para produção apícola se exige os seguintes critérios de certificação (Maneje Bem,2003).

Tabela 2 Critérios de certificação de mel orgânico

Pontos exigidos	Critérios de Certificação para Atividade Apícola Orgânica
1	Não utilizar agente contaminante no processo de produção, antibióticos, defensivos agrícolas,
2	O apiário deve estar localizador a 3 Km de distância de áreas de agricultura convencional e de regiões fontes de poluição
3	Todos os equipamentos e utensílios utilizados na produção apícola, devem ser de aço inoxidável
4	As embalagens de produto final de vidro
5	As legislações trabalhistas e ambientes devem ser respeitados
6	Ter água de boa qualidade e de fácil acesso para as abelhas
7	As doenças das abelhas devem ser tratadas com medicamentos homeopáticos
8	As caixas das abelhas não podem ser pintadas com tinta normal, nem ter revestimento de amianto, as tintas recomendadas à base de óleo vegetal
9	Os alimentos das abelhas devem ser de produtos orgânicos

Fonte: Maneje Bem (2003)

A certificação orgânica se dá mediante auditoria realizada por empresa é contratada, funcionando como acreditação, da conduta de orgânicos realizados na propriedade (Bauermann, 2019). No Brasil, os mecanismos de credibilidade de um produto orgânico, certificação por auditoria utiliza-se o selo SisOrg autorizado por uma certificadora, sistema participativo de garantia autorizado por um organismo participativo, organismo participativo de avaliação da conformidade e controle social na venda direta e emitida pelo MAPA, que utilizada para direta do consumidor. A certificação orgânica pode ser pública e privada credenciada pelo ministério da agricultura e acreditada pelo Instituto de Metrologia e Normalização de Qualidade Industrial INMETRO (Cunha, 2021).

Segundo a Organização Internacional Agropecuária (OIA) os produtos orgânicos se mantém em sistemas sustentáveis, pois não utilizam defensivos agrícolas nos seus produtos, mantendo os recursos naturais e a fertilidade do solo, e garantida qualidade pelas certificadoras. Traz vantagens, a produção ao produtor que mantém a sustentabilidade do sistema, refugando a erosão. É um sistema mais barato, e independente de altas tecnologias. Já para o consumidor representam a oferta de alimentos saudáveis, identificáveis e garantida pelas certificadoras garantindo o efeito de produzir alimento saudável, permitindo ao agricultor um produto diferenciado e mais valorizado prescrevendo uma relação de confiança o consumidor (Graziano, 2006).

Rico em cores e aroma, devido à diversidade das floradas, as condições climáticas e ambientais favoráveis a uma maior produção, abundância de água e a rusticidade e eficiência

das abelhas africanizadas, os micro-organismos presentes no mel podem ser divididos em dois grupos, inerentes e os de contaminação secundária, que estão diretamente relacionados à extração e ao beneficiamento do alimento (Alves, 2013).

Se destacando na indústria dos produtos naturais pelas suas propriedades terapêuticas como atividade antioxidante e antimicrobiana, e também pela aplicação nas indústrias alimentar e de cosméticos. A capacidade do mel de inibir o crescimento de várias bactérias provém, possivelmente, de fenólicos e flavonoides produzidas pelo metabolismo secundário das plantas e são responsáveis também pelo efeito antioxidante. Com maior teor de fenólicos apresentam maior atividade para inibir o crescimento de bactérias e possuem coloração mais escura (Lima, 2015).

A população busca adotar uma dieta cada vez mais saudável, no entanto, concomitantemente, não favoráveis como o aumento na disponibilidade relativa de alimentos processados, refeições prontas, misturas industrializadas e o declínio da participação de alimentos básicos tradicionais, como é o caso do arroz e feijão, na dieta do brasileiro. Em relação aos alimentos orgânicos, o interesse cresce em consonância com os movimentos ao desenvolvimento sustentável e com o conhecimento e divulgação dos riscos que os agrotóxicos representam à saúde. O equilíbrio alimentar, embora tenha o seu controle dificultado pela multiplicação de opções disponíveis, aparece valorizado pela conscientização da importância da alimentação na manutenção da saúde (Mooz, 2014).

A valorização do mel orgânico está associada preocupação da população com saúde e ingestão de alimentos naturais, de forma que a procura por produtos orgânicos aumentou a procura, em busca de melhores condições de vida, consumo de produtos isentos de qualquer tipo de contaminação, mas mantendo as suas características nutricionais e biológicas, numa política de qualidade alimentar espécie animal produtora (Alves, 2008), que o qualificam como um produto isento de contaminações químicas e biológicas indesejáveis receber o selo de orgânico, o apicultor passando por um processo de certificação. O objetivo de conservar e proteger ecossistemas e processos ecológicos necessários à manutenção da vida, contribuir para a preservação da biodiversidade e de formas de vida ameaçadas de extinção, assegurar a sustentabilidade do uso de recursos naturais renováveis, estimularem o desenvolvimento econômico local.

Um produto sem resíduo de defensivos agrícolas, o mel orgânico como um produto puro obtido do néctar de flores responsáveis pela coleta e maturação das colmeias é aquele que nenhum produto químico interfere no processo de elaboração não havendo contato com pesticidas ao longo do período, dependendo de a origem apresentar cores variadas conforme a

origem do néctar da flor. As diferenças do mel orgânico do convencional a ausência de pesticidas, medicamentos, resíduos químicos não existindo no orgânico em relação do convencional, a preocupação da população com saúde e ingestão de alimentos naturais.

Em condições normais, como uma solução líquida com baixo teor de água (entre 13 a 20%) e alta concentração de matéria seca os micro-organismos osmofílicos compõem a microflora capaz de crescer e multiplicar-se no mel. Justifica-se estudo do mel orgânico os benefícios de qualidade as suas propriedades antibacteriano, antioxidante e imunológico nutricionais de origem natural para o organismo humano, dando conhecimento e o seu potencial de sustentabilidade numa importância de uma alimentação saudável adotando-se uma qualidade vida, reduzindo os riscos de pesticidas mantendo-se as suas características nutricionais e biológicas, na hipótese a buscar resposta afirmativa que pode ser respondida durante o trabalho. Com o objetivo de avaliar as propriedades, físico-química de mel orgânico comercial.

2. Material e Métodos

Material

Foram utilizadas amostras de mel orgânico comerciais em comércio eletrônico (*e-commerce*). Foram sete amostras de regiões A (Paraná); B (São Paulo); C (Santa Catarina); D (Minas Gerais); E (São Paulo); F (Piauí); G (Paraíba), número de quatro repetições cada amostragem sendo conduzidas para o Laboratório de Físico-Química de Alimentos (LFQA) do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Foram realizadas as seguintes avaliações, acidez livre, pH, Condutividade elétrica, Aw, Água, Cor, Cinzas, Atividade diastásica, Hidroximetilfurfural (HMF), atividade da glicose-oxidase, Açúcares totais, Frutose, Vitamina C, Classificação do mel, Prolina, Sólidos solúveis °Brix, Taninos, Proteínas, Peróxido de hidrogênio, Proteínas totais, Índice de cristalização.

Método

2.2.1 pH

Pesou-se 10 g da amostra num Becker de 250 mL que foram adicionados 75 mL de água destilada e calibrando o pH através do pH metro de bancada (modelo 86505, AZ®). Em seguida,

se deixou em repouso as amostras por 15 minutos, onde foi realizada a calibragem nas soluções padrão 7 e 4 (Bogdanov, 2009).

2.2.2 Acidez

Foram pesadas 10 g de cada amostra, as quais foram adicionadas 75 mL de água destilada em um béquer de 250 mL. A cada solução foi adicionada três gotas de fenolftaleína (1%) e titulada com NaOH (0,1 M) até se conseguir um pH de 8,30, sendo este aferido por meio de uma bureta digital (Digitrate Pro®) [Bogdanov, 2009].

O cálculo da expressão dos resultados foi obtido pela seguinte equação:

$$\text{Acidez livre meq/kg} = (\text{V.g. NaOH 0,1M} - \text{V.g. Branco}) \times 10 / \text{Peso da amostra}$$

2.2.3 Condutividade elétrica

Preparou-se uma solução de mel (de cada amostra), pesando 20 g, em 100 mL de água destilada, calibrado com uma solução de KCl (0,1M). Os resultados foram expressos em mS.cm⁻¹. Mediu-se, em seguida, a condutividade elétrica, mediante pH metro de bancada multiparâmetro (86505, AZ®). Uma vez que a medição é definida a 20 °C, foi necessário corrigir a temperatura de algumas amostras, aplicando a Equação de Faz (Fas, 2015), sendo a condutividade elétrica calculada através da Equação de Bogdanov (Bogdanov, 2009):

$$K_t (\text{mS.cm}^{-1}) = \frac{K_{20}}{1 + \alpha (t - 20)} \quad \text{SH} = K.G$$

Onde:

$\alpha = 0,0261$ (coeficiente de temperatura a 20 °C)

T = temperatura da solução de mel °C

SH = condutividade elétrica da solução de mel em mS.cm⁻¹

K = constante da célula em cm⁻¹

G = condutância em mS.cm⁻¹

Os resultados foram expressos com aproximação de 0,01 mS.cm⁻¹

2.2.4 Atividade de água

Para se determinar a atividade de água (A_w) do mel, aplicou-se a equação proposta por Gomez (1990):

$$A_w = (0,025 \times \% \text{água do mel}) + 0,13$$

2.2.5 Determinação de água

A determinação de água das amostras de mel foi realizada conforme o método refratométrico descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Utilizou-se um refratômetro digital calibrado com água destilada a 20 °C. Realizou-se, em seguida, o pré-tratamento das amostras para dissolver os cristais de açúcar presentes no mel. Determinou-se, assim, a porcentagem de água contida no mel e o grau °brix dos sólidos solúveis. Realizaram-se as seguintes correções: temperatura acima de 20 °C, adicionou-se 0,00023 por °C; e, temperaturas abaixo de 20 °C, subtraiu-se 0,00023.

A expressão dos resultados foi obtida pela seguinte equação:

$$100 - (\text{leitura do refratômetro} + 1,4) = \% \text{ de umidade}$$

Onde:

1,4 = fator de correção

2.2.6 Cor

Para a determinação da cor do mel, foi utilizado o método descrito por Gomes, Muribeca & Souza (2017). Pesou-se 10 g de mel e diluiu-se em 20 mL de dH₂O. Após a diluição, a solução foi mantida em repouso por 15 minutos. Posteriormente, realizou-se a leitura a 635 nm em espectrofotômetro UV (IL592, Even®), adotando-se a zeragem do equipamento com dH₂O. Os valores obtidos foram convertidos em cor (mm) na escala de Pfund, por meio da equação:

$$\text{Cor} = (371,39x) - 38,70. 3$$

Figura 1. Classificação da cor do mel pela escala de Pfund.

Paleta	Cor	mm	Absorbância
	Branco-água	0 - 7,9	0,104 e 0,125
	Extra-branco	8 - 16,4	0,125 e 0,148
	Branco	16,5 - 33,9	0,148 e 0,195
	Âmbar extra-claro	34 - 49,9	0,195 e 0,238
	Âmbar-claro	50 - 84,9	0,238 e 0,333
	Âmbar	85 - 113	0,333 e 0,411
	Âmbar-escuro	>114	0,411

Fonte: Adaptação de Gomes *et al.* (2017) e Storenicoya (2021).

2.2.7 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada de forma indireta (Ngumba, 2013), relacionando os resultados obtidos da condutividade elétrica conforme a equação:

$$A = (C - 0,14) / 1,74$$

Onde:

A = teor de cinzas em g/100 g de mel

C = condutividade elétrica em mS.cm⁻¹

2.2.8 Determinação da atividade diastásica

A atividade diastásica foi determinada em tubos de ensaio, misturando-se 5 mL de solução de mel (20%), 5 mL de dH₂O e 1 mL de solução de amido (1%). As amostras foram incubadas em banho-maria (45 °C) por 1 hora. Em seguida, acrescentou-se 1 mL de solução de iodo. Considerou-se como *teste positivo* a amostra de coloração *parda clara* (indicação de mel legítimo, possuindo atividade diastásica); e, *negativo*, ao se obter coloração *azul* (indicação de mel artificial, sem atividade diastásica, incapaz de hidrolisar o amido) [Alves, 2013; Sakaç, 2012).

2.2.9. Determinação de hidroximetilfurfural (HMF)

Para a determinação de hidroximetilfurfural (HMF), utilizou-se o método de Bogdanov (2009). Pesou-se 5 g de mel num Becker, sendo cada amostra dissolvida em 25 mL de dH₂O. Em seguida, transferiu-se cada solução para um balão volumétrico de 50 mL, adicionando a cada amostra 0,5 mL da solução de Carrez I e 0,5 mL da solução de Carrez II, completando o volume com dH₂O e filtrando com papel de filtro. Foram pipetados 5 mL do filtrado em tubos de ensaio, adicionando-se 5 mL de dH₂O a um dos tubos (amostra) e 5 mL da solução de bisulfito de sódio (como referência). Determinou-se a absorbância da amostra e da referência em 284 nm e 336 nm em espectrômetro UV (IL592, Even®). O teor de hidroximetilfurfural foi expresso em mg/100 g conforme a equação proposta por Bogdanov (2009):

$$\text{HMF mg/kg} = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times D/W$$

2.2.10 Determinação da atividade da glicose-oxidada em mel

A glicose oxidada é uma enzima secreta da pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas que oxida a glicose em glucolactona e, depois, em ácido glucônico (principal ácido orgânico no mel) mais peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Neutralização da acidez do mel

Pesou-se 10 g de mel dissolvido em 75 mL de dH_2O , adicionando-se 3 gotas de fenolftaleína (1%), sendo esta solução titulada com hidróxido de sódio (0,1 M).

Medição da atividade enzimática

A solução neutralizada foi deixada em temperatura ambiente por 48 horas. Após este período, foi medida a atividade da glicose oxidase, para a qual foi realizada uma nova titulação com hidróxido de sódio (0,1 M) em bureta digital Digitrate Pro®. O volume gasto indica os miliequivalentes de ácido glucônico produzido pela ação da glicose oxidase no mel. Se a mudança de cor ocorrer com a primeira gota de hidróxido de sódio adicionada, pode-se concluir que a enzima foi destruída pelo calor ou o mel está armazenado há muito tempo. A medição da atividade enzimática foi realizada através da equação de Lovece (2007).

$$\text{Meq de glicose oxidada/kg} = Vg \times M \times 1000/P$$

Onde:

V.g. (Volume gasto)

M (Molaridade do NaOH); 1000 (Fator de conversão a 1Kg de mel)

P (Peso da amostra).

2.2.11 Açúcares redutores e sacarose

Para a determinação dos açúcares redutores e sacarose, utilizou-se o método titulométrico. Esse método baseou-se na capacidade de os açúcares (na solução de mel) reduzirem, sob ebulição, o cobre presente (Solução de Felhing). Em meio alcalino, os íons cúpricos Cu^{+2} são reduzidos a íons cuprosos Cu^{+} , e, assim, os açúcares são oxidados a ácidos orgânicos, possuindo a coloração azul a vermelho tijolo. Pesou-se 5g de mel para 100mL de dH_2O e, desta solução, determinou-se a glicose com a solução de Felhing, A e B, até haver o ponto de viragem para vermelho tijolo. Foi recolhido 20mL da solução para um balão volumétrico (de 100ml) e adicionado 5 ml de HCl 6M para, em seguida, ser conduzido para o

banho-maria a uma temperatura de 80 °C, por 20 minutos. Resfriou-se a amostra, adicionando-se 3 gotas de fenolftaleína neutralizado a amostra ácida com NaOH (10%). Após essa etapa, completou-se o volume com dH₂O e determinaram-se os açúcares não redutores, em constante ebulição, observando o ponto de viragem de cor, através da aplicação das seguintes equações: aplicando as equações:

$$AR \% = 100 \times 100 \times F/V.g. \times P$$

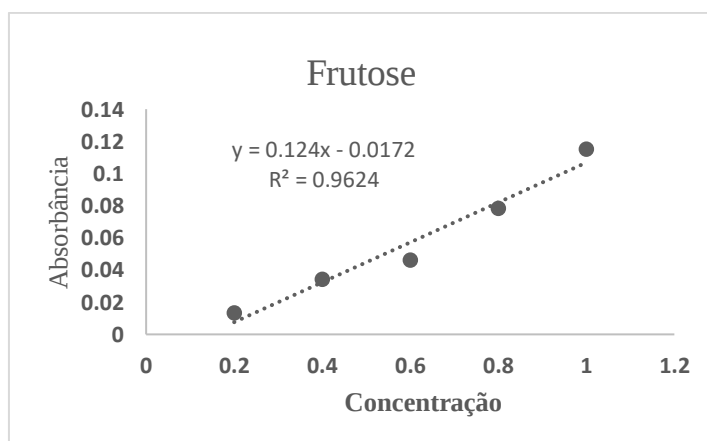
$$AT\% = 100 \times 100 \times F/Vg \times P/5$$

$$\%Sacarose = (AT\% - AR \%) \times 0,95$$

2.2.12 Determinação de frutose

O teor de frutose foi determinado usando o método do reagente resorcinol. Para uma solução da amostra de mel, 1,0 mL de reagente resorcinol foi adicionado e misturado cuidadosamente e, em seguida, 1,0 mL de HCl diluído foi acrescentado. Para a elaboração de uma curva padrão de frutose (P.A.), utilizaram-se as concentrações 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0 mg/mL, adicionando-se 1,0 mL de resorcinol e 1,0 mL de HCl diluído. Em seguida, completou-se com dH₂O num balão volumétrico (10 mL). Uma solução em branco também foi preparada junto com o padrão e tratados da mesma maneira. A solução de teste, o padrão e o branco foram, então, aquecidos em água banho-maria (80 °C) por aproximadamente de 10min. Então, removeu-se a solução do banho-maria, resfriou-se (por imersão em água corrente, por 5 minutos) e, em seguida, realizou-se a absorbância da solução padrão, as quais foram lidas em espectrofotômetro UV (IL592, Even®), contra a solução em branco a 520 nm. O conteúdo de frutose das amostras de mel foi, então, extrapolado a partir de uma curva padrão preparada, usando a absorbância do padrão (Figura 2), conforme o método proposto por Buba (2013).

Figura 2 Curva padrão de frutose



2.2.13 Determinação de vitamina C total (Tillmans)

A determinação de vitamina C pelo método titulométrico de DFI foi realizada com cinco gramas (5 g) da amostra de mel, extraída com a solução de ácido oxálico (1%), utilizando um padrão de ácido ascórbico contendo 100 mg para um volume de 100mL de ácido oxálico. Titulou-se a solução de DFI (0,2%) até o ponto de rosa pálido com duração de pelo menos 10 a 15 segundos, calculado conforme a equação proposta por Mazalović (2008):

$$X \text{ (mg/Kg)} = V.g. \times 0,088 \times F \times V/Pa \times V1 \times 1000 \text{ (g/Kg)}$$

Onde:

V.g. (volume de DIF usado)

F (fator corretivo do DFI)

V (volume de solução de mel)

Pa (massa de amostra de mel)

V1(amostra de mel em volume de alíquota para titulação)

2.2.14 Classificação do mel floral e melato

O ácido úrico é o principal produto do metabolismo dos insetos e, provavelmente, a única substância derivada de insetos encontrada no mel. Para quantidades detectáveis de melato foi utilizada a equação de Kirkwood e Cowan (1964) que relaciona os valores de pH, cinzas e açúcares redutores na matéria seca para classificar quanto a sua origem floral ou melato. Na instrução normativa do mel (Brasil, 2000) há padrões diferentes para mel floral e melato (Borsato, 2013). Para essa determinação, utilizou-se a equação de Kirkwood e Cowan (1964):

$$X = -8,3.X1 - 12,3.X2 + 1,43.X3$$

Onde:

X1 (pH)

X2 (%cinzas na matéria seca)

X3 (%AR na matéria seca)

2.2.15 Prolina

Para a determinação do teor de prolina no mel utilizou-se a metodologia de Caveiro (2017). Pesou-se 2,5 g de mel e transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se no primeiro tubo de ensaio com tampa rosqueada 0,5 mL da solução de mel, num segundo tubo adicionou 0,5 mL de água (branco) e 0,5 mL de solução padrão de prolina (0,032 mg.mL⁻¹), em triplicata, para outros tubos (padrão), juntamente com idêntico volume de água. A cada um dos 5 tubos de ensaio adicionou-se 1 mL de ácido fórmico (98%) e 1 mL de solução de ninidrina (3%) em etileno glicol, agitando-se vigorosamente por 15 minutos. Após este tempo, os tubos foram colocados em banho-maria (100 °C) por 15 minutos e, posteriormente, em outro banho-maria (70°C) por 10 minutos. Adicionou-se 5 mL de álcool isopropílico (1+1) a cada tubo de ensaio e deixou-se arrefecer com os tubos fechados. Após 45 minutos efetuou-se a leitura num espectrofotômetro UV (IL592, Even®) com absorbância de 520 nm.

2.2.16 Determinação da concentração de peróxido de hidrogênio

Foi pesado 2g da amostra de mel em erlenmeyer de 250 mL, adicionando-se 50 mL de ácido sulfúrico diluído (1:19 V/V). As amostras de mel foram tituladas numa solução de permanganato de potássio (0,1 M). A aparência de um roxo pálido foi a cor tomada como o ponto final da titulação e os cálculos foram feitos de acordo com a procedimento propostos por Solvay Chemicals (2014) e Mohammed (2020), através da equação:

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 = (V_g - V_b) \times (M) \times (1,701) \times \text{FD}/\text{Pa}$$

Onde:

V_g = mL de permanganato de potássio usado na titulação,

V_b = mL de permanganato de potássio usado na titulação do branco

M = Molaridade do permanganato de potássio

Pa = gramas de amostra pesados em béquer de 50 mL

1,701 = peso por miliequivalentes de $\text{H}_2\text{O}_2 \times 100 / 25$ = fator de diluição

2.2.17 Determinação de taninos totais (Método de Lowenthal com modificação)

Para a determinação de taninos totais, utilizou-se o Método de Lowenthal (1877) com modificações (Morales, 2012; Chachagua *et al.*, 2006). Pesou-se 10g da amostra de mel em um erlenmeyer de 250 mL, sendo adicionado 100 mL de dH_2O e 5 mL da solução indicadora de

índigo carmim. Titulou-se com solução 0,1 M de permanganato de potássio (KmnO_4). O ponto final da titulação tornou a solução de cor azul para amarelo-ouro, registrando-se, assim, o volume gasto da amostra e branco. Foi realizado uma titulação padrão de ácido tânico com permanganato de potássio, pesando-se 0,11 g de ácido tânico padrão, 5 mL de solução indicadora de índigo carmim em 250 mL de água destilada. Utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{mg} / 100 \text{ g} = (\text{Vg} - \text{Vb}) \times \text{padrão ácido tânico} / \text{pa} \times 1000$$

Onde:

Vg = volume gasto

Vb = volume do branco

Pa = peso da amostra

2.2.18 Determinação de proteínas totais

Extração

Para extração das proteínas totais do mel empregou-se o método descrito por Schmitzova *et al.* (1998). Pesou-se 2g de mel para um balão volumétrico de 10 mL de tampão fosfato (50mM de NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , pH 7,0; 100mM NaCl pH 8,0) e centrifugou-se por 30 minutos para eliminar pólen e partículas existentes no mel. O sobre nadante foi filtrado e em seguida, realizou-se duas leituras (260nm e 280nm) em espectrofotômetro UV (IL592, Even®), calculando-se a determinação de proteínas totais através da equação (Yam, 2017):

$$\text{Proteína mg/g} = [(1,55 \times A_{280\text{nm}}) - (0,76 \times A_{260\text{nm}})] * \text{DF5}$$

2.2.19 Índice de cristalização

A tendência de cristalização e granulação do mel considera as determinações de água, atividade de água (A_w) e porcentagem de glicose, através do índice de Tabouret (IT):

$$\text{IT} = \frac{\text{G} / \% \text{H}_2\text{O}}{(1 - a_w)^n}$$

Onde:

G = percentagem de glicose;

H = percentagem de água; e

n = fator que depende do teor de água (com valores de 1 se a percentagem de água for superior a 17%; e 2, quando for inferior) [Sancho, 1991; Grosso *et al.*, 2017].

É importante registrar que a variação do grau de cristalização do mel pode ser determinada de várias maneiras (Tabela 3) [Serra, 1989].

Tabela 3 - Grau de granulação do mel

Graus de granulação	Aspecto	G	G/A	(GAF)	I2
0	Líquido	> 1,33	< 1,70	< 0,30	< 9,80
2	Camada de cristais 2 a 3 mm	> 1,21	< 1,79	< 0,36	< 10,70
4	Camada de cristais 8 a 12 mm	> 1,18	< 1,86	< 0,38	< 11,30
6	½ do recipiente cristalizado	>1,16	<1,99	<0,42	<12,10
8	Cristalização suave completa	<1,11	>2,16	>0,49	>12,60

Glicose (G); Frutose (F); Água (A)

Análise de dados

Nesse experimento foi utilizado um Delineamento Inteiramente Causalizado (DIC), aplicando-se o teste de Tukey para a diferença de médias ($p < 0,05$), através do programa R Core Team® (2023).

3. Resultados e Discussão

Os valores médios de pH, Acidez livre, Água, Aw, Condutividade elétrica e cinzas das amostras de mel orgânico comercial apresentam valores distintos entre as marcas estudadas (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de pH, Acidez livre, Água, Aw, Condutividade elétrica de mel orgânico comercial.

Marcas	pH	Acidez livre (meq/kg)	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$)	Água (%)	Aw	Cinzas (%)
A	3,94 ^b	15,0 ^{bc}	0,58 ^b	14,6 ^{ab}	0,49 ^{ab}	0,25 ^b
B	3,96 ^b	13,1 ^{cd}	0,73 ^a	15,3 ^{ab}	0,51 ^{ab}	0,34 ^a
C	4,54 ^a	10,8 ^d	0,77 ^a	14,7 ^{ab}	0,49 ^{ab}	0,35 ^a
D	3,88 ^b	10,2 ^d	0,73 ^a	13,1 ^{ab}	0,46 ^{ab}	0,33 ^a
E	4,04 ^b	17,4 ^{ab}	0,30 ^c	17,3 ^a	0,56 ^a	0,09 ^c
F	3,83 ^b	20,1 ^a	0,20 ^d	13,6 ^{ab}	0,47 ^{ab}	0,03 ^d
G	3,70 ^b	17,7 ^{ab}	0,60 ^b	11,4 ^b	0,41 ^b	0,26 ^b

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, conforme o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se que os pH das amostras estudadas apresentam um pH ácido (Tabela 1). Mesmo considerando esse intervalo (3,70-4,54), é importante ressaltar que a legislação brasileira não estabelece um valor máximo e mínimo para pH (Estevinho, 2012), ainda que se saiba que tanto o pH quanto a Acidez livre são importantes para avaliar o armazenamento e estabilidade dos alimentos no desenvolvimento de micro-organismos e enzimas (Brasil, 2000). No entanto, cabe o registro de que a legislação (Brasil, 1985) estabelecia valores, mínimo e máximo, de pH, entre 3,3 a 4,6, respectivamente.

Segundo Estevinho (2012), os pH das amostras de mel orgânico analisadas em cidades de Portugal ficaram entre 3,7 a 4,0; um pH baixo, inibindo, assim, a presença de micro-organismos sendo, desta forma, compatível com produtos alimentícios com vistas a uma estabilidade e maior vida de prateleira. Segundo Bogdanov et al. (2009), o pH do mel deve estar entre 3,5 a 4,0.

Relativamente a acidez livre das amostras de mel orgânico comercial estudadas (Tabela 1), verifica-se que todas as amostras se enquadram nas normas do Brasil (Brasil, 2000) e Mercosul (1999), onde a acidez livre de méis não deve ser superior a 50 meq/kg. Esse valor também se aplica aos padrões da Europa (Codex Alimentarius, 2001; EU, 2002); em geral, de 50 meq/kg e não superior a 80 meq/kg.

A condutividade elétrica de todas as amostras do mel orgânico analisadas variou entre 0,3 a 0,7 mS.cm⁻¹ (Tabela 1), intervalo que se enquadra no regulamento de identidade e qualidade de mel (Brasil, 2000; Codex Alimentarius, 2001; European Commission, 2002); ou seja, não superior a 0,8 mS.cm⁻¹.

A percentagem de água do mel nas amostras estudadas variou de 11,4 a 15,3% (Tabela 1), intervalo que se encontra conforme os valores de méis orgânicos comerciais estão de acordo (Brasil, 2000; Mercosul, 1999; Codex Alimentarius, 2001; European Commission, 2002), que estabelece um conteúdo de água máximo de 20%. Percebe-se, assim, que todos os méis analisados possuem potencial para uma maior vida de prateleira uma vez que a baixa percentagem de água previne o crescimento de fungos patogênicos e micotoxinas. Esse resultado assemelha-se aos encontrados por Estevinho (2012), o qual encontrou uma variação de percentagem de água em mel orgânico em algumas cidades de Portugal variando entre 14,5 a 16,3%.

A atividade de água (A_w), caracterizada pelas propriedades coligativas físicas e textura de um alimento, depende da percentagem de água influenciando as suas reações químicas, enzimáticas e microbiológicas. Esta A_w divide-se em dois aspectos: livre disponível, para crescimento de micro-organismos; e ligada, a qual é indisponível e imóvel, e é capaz de estabelecer estabilidade e vida útil do alimento (Cuba, 2016). Os resultados encontrados, demonstram uma A_w de 0,41 a 0,56 (Tabela 1). Segundo Franco e Landgraf (2005), a A_w disponível no alimento (mel) - para o metabolismo microbiano – deve ser < 0,60, para que o mel seja biologicamente favorável. Iorlina & Fritz (2005) e Olaitan (2007), por outro lado, determinam uma A_w do mel dentro do intervalo de 0,5 a 0,6. Entretanto, as legislações preconizadas não estabelecem padrões para A_w (Brasil, 2000, Mercosul, 1999; Codex Alimentarius, 2001; European Commission, 2002).

Nesse estudo, todas as marcas de mel orgânico analisadas ficaram com o teor de cinzas inferior a 0,6% (Tabela 1), enquadrando-se dentro das normas (Brasil, 2000), que estabelece que o teor de pureza do mel (resíduo mineral ou cinzas) deve ser no máximo de 0,6% para mel floral e de 1,2% para mel de melato.

Os valores médios de °brix, glicose, frutose, açúcares totais e sacarose foram analisados nas (sete) marcas de mel orgânico comercial (Tabela 2).

Tabela 2. Representação dos valores médios de °brix, glicose, frutose, açúcares totais e sacarose em sete marcas de mel orgânico comercial.

Marcas	°Brix	Glicose (%)	Frutose (%)	Sacarose (%)	Açúcares totais (%)
A	81,00 ^{ab}	29,91 ^a	40,10 ^a	5,83 ^b	74,25 ^b
B	80,00 ^{cd}	25,68 ^a	38,50 ^a	4,24 ^{cd}	71,41 ^{ab}
C	79,50 ^d	25,23 ^a	39,50 ^a	3,27 ^d	68,98 ^{ab}
D	80,50 ^{bc}	25,09 ^a	41,30 ^a	5,06 ^{bc}	75,28 ^a
E	81,80 ^a	25,43 ^a	40,20 ^a	9,52 ^a	79,70 ^a
F	76,80 ^e	25,54 ^a	39,70 ^a	3,51 ^d	71,53 ^{ab}
G	79,70 ^{cd}	25,21 ^a	39,20 ^a	0,96 ^e	69,00 ^{ab}

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, conforme o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores de sólidos solúveis totais (brix) encontrados nos méis orgânicos comerciais analisados encontram-se na faixa de 76,80 - 81,80°. O Brasil não preconiza valores de brix para mel em geral (Brasil, 2000). Verifica-se, entretanto, que mesmo havendo uma pequena diferença na média dos açúcares totais nos méis estudados, tais valores estão próximos ao brix (79,57°) de mel comercializado, por exemplo, em Tegucigalpa (Lazo, 2002) e, ainda, de 79,9° Brix em méis analisados por Silva *et al.* (2009), Dantas *et al.* (2022) e Rosário (2020).

Conforme o Codex Alimentarius (2001) e European Commission (2002) o teor de açúcares deve ser 60% (glicose + frutose) e sacarose não mais de 5%. Já para a legislação nacional, o teor de açúcares deve ser até 65% para mel floral e sacarose não mais de 6% (Brasil, 2000; Mercosul, 1999). Os valores encontrados, nesse estudo, atendem a legislação. Entretanto, a marca “E” apresentou 9,52% de sacarose, o que não atende os critérios de 5 a 6%. Duarte (2009), por exemplo, em estudos semelhantes, encontrou valor de sacarose na faixa de 1,56 a 7,52%.

Ao avaliar os resultados dos méis orgânicos, ficou demonstrado que, com a maior concentração de açúcares, tem-se uma cristalização mais rápida. Considerando que a frutose é mais solúvel em água do que a glicose, verificou-se que uma maior concentração de frutose sinaliza a sua sustentabilidade de cristalizar (Kamal, 2019). Os resultados encontrados para frutose assemelham-se aos de Buba (2013). Porém, distintos relativamente à glicose e sacarose. Já a razão frutose/glicose, deste mesmo autor, mostrou-se alta (1,3), onde o mel permanece líquido com a sua cristalização lenta; enquanto a relação frutose/glicose dos méis orgânicos

obtida neste estudo apresentou valores médios de 1,57, demonstrando, assim, uma cristalização do mel mais lenta.

Tabela 3. Resultado qualitativo da atividade diastásica de mel de abelha *Apis mellifera* L. em diferentes marcas de mel orgânico comercial.

Marcas	Sem AD*	Com AD
A		+
B		+
C		+
D		+
E		+
F		+
G		+

AD: Atividade diastásica

As marcas de mel orgânico analisadas para atividade diastásica foram positivas, formando uma coloração parda clara, indicando, desta forma, a sua autenticidade; ou seja, demonstrando que possuía atividade diastásica capaz de hidrolisar o amido. A atividade diastásica, conforme a sua origem, possui variações (Alves, 2013). O valor mínimo preconizado (Brasil, 2000) é de 8 unidades diástase. Ao ter uma baixa atividade de méis florais, torna-se difícil a realização desta análise.

Tabela 4. Valores médios de vitamina C, taninos, índice de peróxido, ácido glutâmico e cor de foram analisadas nas (sete) marcas de mel orgânico comercial (Tabela 4).

Marcas	Vitamina C (mg/kg)	Taninos totais (mg/100g)	Índice de peróxido (mg/100g)	Ácido glutâmico (meq/kg)	Cor
A	318,0 ^c	0,62 ^d	20,32 ^a	0,39 ^d	31,7 ^a (Branco)
B	348,0 ^c	2,73 ^a	10,72 ^b	0,55 ^{bc}	20,6 ^{ab} (Branco)
C	521,0 ^b	1,36 ^c	6,64 ^d	0,60 ^b	23,1 ^{ab} (Branco)
D	303,0 ^{cd}	1,05 ^{cd}	6,88 ^d	0,49 ^c	32,8 ^a (Branco)
E	283,0 ^{cd}	1,12 ^c	5,82 ^d	0,76 ^a	12,9 ^b (Extra branco)
F	162,0 ^d	1,68 ^b	7,84 ^{cd}	0,48 ^{cd}	10,8 ^b (Extra branco)
G	1.451,0 ^a	2,62 ^a	9,76 ^{bc}	0,70 ^a	30,7 ^a (Branco)

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, conforme o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados de vitamina C, mostram na (Tabela 4), das sete marcas de mel orgânico onde a marca G apresentou uma variação de vitamina C de 1.451 mg/kg enquanto as marcas A, B, C, D, E, F apresenta numa faixa moderada devido à situação geográfica e floral.

Brasil (2000) não preconiza teores de vitamina C no mel, os valores encontrados por (Romero & Hernandez, 2022) variou de 2,54 a 3,83 mg/100g e (Aung, 2020) numa faixa moderada de 0,19 mg/100g.

Segundo Kesić *et al.*, 2008, os resultados analisados demonstraram que o teor de ácido L-ascórbico (vitamina C) varia de 311,0 a 378,3 mg/kg em méis, que o grau de decomposição do ácido L-ascórbico num período do ano faria de 0,21 a 2,59%. Devido a sua instabilidade oxida-se facilmente no ar e o aumento da temperatura leva a sua decomposição.

Na tabela 4 os resultados de taninos nos méis orgânicos comerciais, variaram de 0,62 a 2,62 mg/100g. Representa 43,18% do conteúdo fenólico total, funciona como antioxidante secundário ligando o ferro aos íons retardando a oxidação. Os resultados analisados por (Barbosa, 2012), variou entre 0,62 e 0,99 mg EAT/kg entre o mel de laranjeira e o da Roménia.

A concentração de peróxido de hidrogênio nos méis orgânico variou de 9,76 a 20,32 mg/100g, a concentração média de peróxido de hidrogênio por (Mohammed, 2020), foram de 2,96 a 4,94 g/kg, significativos para mel de Acácia e Ziziphus variou de 2,5 a 3,9% (Mohammed, 2019).

A presença de peróxido de hidrogênio contribui para efeitos inflamatório e cicatrizante, (Codex Alimentarius, 2001), (European Commission, 2002), (Brasil, 2000), (Mercorsul, 1999) não estabelece critérios para índice de peróxido em mel.

A cor, representado na (Tabela 4), demonstrou nas marcas de méis orgânicos comerciais variou de branco a extrabranco, se enquadram com os critérios (Brasil, 2000) estabelecidos de incolor a pardo-escuro influenciada pela origem botânica e ambientais, (Borsato, 2013) das amostras analisadas predominaram entre âmbar ao âmbar escuro.

Segundo Vieira (2005) dos 42% das amostras analisadas predominou de âmbar claro 29%, branco 13% âmbar escuro e 10% âmbar e escuro.

Tabela 5. Valores médios de proteína, prolina, ácido úrico e índice de cristalização e HMF de diferentes marcas de mel orgânico comercial.

Marcas	Proteína (%)	Prolina (mg/g)	Ácido úrico	Índice de cristalização	HMF (mg/Kg)
A	0,14 ^e	0,32 ^a	65,5 ^c	16,6 ^a	9,56 ^f
B	0,21 ^d	0,64 ^b	63,6 ^{bc}	19,1 ^a	11,14 ^{ef}
C	0,30 ^c	0,61 ^{bc}	60,0 ^c	18,1 ^a	20,97 ^b
D	0,44 ^b	0,62 ^{bc}	70,2 ^{ab}	19,9 ^a	16,20 ^{cd}
E	0,28 ^c	0,45 ^{cd}	76,2 ^a	16,0 ^a	13,00 ^{de}
F	0,23 ^{cd}	0,26 ^d	69,1 ^{ab}	20,4 ^a	17,86 ^{bc}
G	0,57 ^a	0,87 ^a	69,9 ^{ab}	18,9 ^a	47,82 ^a

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, conforme o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores médios de proteína totais analisados na (Tabela 5), variou entre as marcas de 0,57 a 0,14%. Os resultados encontrados por de Vieira (2005) de proteínas totais variou de 0,13% a 0,54%.

O teor de prolina estudados variou de 0,87 a 0,32 mg/kg (Tabela 5). A Harmonised methods of the international honey Commission, estabelece que seja considerado genuíno e autentico valores superiores a 0,18mg/g.

Hernández, (2018), das 40 amostras avaliadas de méis argentinos obteve uma média do teor de prolina de 356 mg/kg. A prolina oscila com a origem botânica do mel encontra-se nas literaturas entre 0,25 a 0,60 mg/100g (Lopes,2014). Indicativo de méis, não adulterados com um ótimo grau de maturação, deve-se levar em consideração a variação de prolina dependendo do tipo de mel adicionadas por abelhas na ação de transformação do néctar em mel.

O ácido úrico é o produto do metabolismo dos insetos, a única substância encontrada no mel de melada, segundo (Kirkwood et al., 1960; Kirkwood et al., 1961; Cowan, 1964) considera que o X for menor que 73,1 méis de melada e maior que 73,1 floral. Os resultados analisados das sete marcas de méis orgânicos comerciais de ácido úrico variaram de 76,2 a 60,0 (Tabela 5), de acordo com (Brasil,2000; Mercosul/GMC, 1999,) a classificação do mel floral ou melato no mínimo de 65 g/100g e melato mínimo de 60g/100g, (Silva, 2011) considera uma variável importante aplicando-se ao índice de Kirkwood na classificação do mel devido, às variações de pH, cinzas, e açúcares totais.

Campos (2003) indica que o método de Kirkwood como eficiente para classificação de mel floral e melato, identificou que das 25 amostras avaliadas, 12 foram classificadas como mel floral. Borsato (2013) ressalta que, para estudos de melípona necessita de análise sensível, compondo-se com análise polínica. Bogdanov, & Gfeller, (2006) propõem duas funções discriminantes para classificar o mel de floral e melato para rotina de análise de mel conforme equação $(X = 0.28 \times (F+G) + 3.03 \times (F/G) + 1.35 \times \text{pH} - 2.65 \times C - 26.81)$ méis de melado $< -0.629 <$ méis de floral.

Na tabela 5, demonstrou-se que o índice de cristalização variou de 16,6 a 20,4 das marcas de méis orgânicos, apresentam uma cristalização suave, enquadram-se em mel floral conforme (Brasil, 2000; Mercosul/GMC, 1999).

(Sancho, 1991) um índice $< 9,80$ cristalizações líquidas, $>12,60$ uma cristalização suave e completa, os resultados obtidos (Grosso, 2017) em alguns tipos de mel, a cristalização não é um processo natural depende das propriedades físico-químicas o tipo de embalagem e as condições de temperatura e ambiente. Segundo (Varela, 2022), a presença de altos valores de

glicose e cristalização se expõem a fatores como a qualidade de néctares e partículas de pólen, sendo uma cristalização um fenômeno natural no mel puro.

O hidroximetilfurfural (HMF) é um indicador de qualidade do mel a sua presença é indicativa de deterioração. Os valores de Hidroximetilfurfural (HMF) observados na (Tabela 5) variou de 47,82 a 9,56 mg/kg, o critério máximo de 60 mg/kg de HMF (hidroximetilfurfural) estabelecidos (Brasil, 2000). No entanto, a (Resolução 1057 de 2010) estabelece os padrões de $\text{HMF} < 40 \text{ mg/kg}$ e $< 60 \text{ mg/kg}$ para méis de origem tropical.

Vieira (2018), resultados observados para méis em área do cerrado, o mínimo de 0,3 e o máximo de 12,4 mg/kg, de acordo com Olivero (2018) das amostras analisadas de Barranquilla, Sabanalarga e Malambo, evidenciou limites muito baixos das estabelecidas características de méis recém-extraídos e boas práticas de manipulação. Borsato (2013), os valores demonstraram uma oscilação de 0,07 a 24,95 mg/kg.

4. Conclusão

As propriedades físico-químicas do mel desempenham um importante papel na sua vida útil e armazenamento. Fatores como acidez livre e pH interferem na sua qualidade, alterando a sua composição e a sua vida útil, influenciados pela sua origem, flora e geográfica. No geral, o mel de alta qualidade é benéfico, composto por propriedades nutricional e valor econômico potencial para a cadeia produtiva do mel.

Os resultados da análise físico-química do mel orgânico comercial, apresentaram dentro dos limites aceitáveis estão conforme a Instrução Normativa nº 11 de 2000, não alterando os indicadores de maturidade (umidade, açúcares), pureza (cinzas e pólen) e deterioração (acidez, HMF, diástases) assegurando um produto saudável para o consumidor.

Referências

Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 10520: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro: ABNT, 2023.

Alves Elói Machado (2008). Identificação da Flora e Caracterização do Mel Orgânico de abelhas africanizadas das Ilhas Floresta e Laranjeira, do Alto Rio Paraná.

Alves, Thais Patrícia (2013). Qualidade de méis de abelha *Apis mellífera* L. comercializadas no estado de Alagoas, 62f.

Aung, Hla Thidar (2020). Analysis of Apiculture Honey Samples and Determination of its Vitamins Content, Meiktila University Research Journal, Vol.XI, N°1

Aldina Kesić, Munira Mazalović, Benjamin Čatović, Aida Crnkić (2008). The influence of temperature and daylight effect on contents l-ascorbic acid in honey from Bosnia and Hercegovina, tome VI.

BRASIL (2000). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N°. 11,. Padrão de identidade e qualidade do mel.

Buba F, Gidado A, Shugaba A (2013). Analysis of Biochemical Composition of Honey Samples from North-East Nigeria. Biochem Anal Biochem 2: 139.

Barbosa Marlene Filipa Azevedo (2012) Avaliação da estabilidade de mel da mesma origem ao longo de 6 anos: comparação com mel comercializado 103flh.

Bogdanov, S.; Martin, P.; Lullman, C. (2009). Harmonized Methods of The European Honey Commission.

Bogdanov, S., & Gfeller, M. (2006). Classification of honeydew and blossom honeys by discriminant analysis.

Blanco Josefina; Trama Andrea; Libonatti Carina Claudia, Caracterización físicoquímica y polínica de mieles procedentes de unafraccionadora bonaerense, Tandil

Borsato Debora Maria (2013). Composição Química e Caracterização Polínica e Avaliação de Atividades Biológicas de Méis Produzidos Meliponinos no Paraná Curitiba 151 flh.

Borsato Débora Maria; Vargas Taís; Koop Laís; Farago Paulo Vitor; Almeida Mareci mendes de (2010). Physicochemical Quality Control of Bee Honeys From Campos Gerais Region of Paraná – Brazil, B.Ceppa, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 205-212.

Bauermann Guilherme Girardi (2019). “*Certificação Orgânica no Brasil*” Comportamentos Produtivos e de Mercado, Porto Alegre.

Cunha, Erivelton Gonçalves da *et al.*, (2021). Garantia da qualidade orgânica: certificação orgânica e social controle, Vitória, ES, Incaper, Documentos, 280, ISSN 1519-2059, 24 p.

Cuba, Emily Becerra (2016). Agua y Actividad de Agua Arequipa Perú, sustentación para optar el título profesional de ingeniera de industrias alimentarias bajo la modalidad de suficiencia profesional 2016, 53 flh.

Cowan, A. C. and Mitchell, T. J. (1964). An Examination of the Occurrence of Honeydew in Honey, Part III, Analyst, Vol. 89, p. 223-226.

CODEX ALIMENTARIUS (1987). Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods. Codex Alimentarius Commission FAO/OMS, v. 11, p. 1–7, 2001.

Carvalho, Raysa Sales Teixeira Borges de (2017) A polinização por *Apis mellifera* e a qualidade de frutos em *Solanum lycopersicum* (Solanaceae), Uberlândia -MG.

Caveiro, Elsa Marisa Silva. (2017). Caracterização de méis comerciais rotulados com a designação de mel de urze, Bragança, flh.131.

Camargo, Ricardo Costa Rodrigues de ... [et.]. (2002) Produção de mel Embrapa Meio-Norte, Teresina :2002. 138 p.

Dantas, Jussara Dias *et al.* (2022). Análise físico-química do mel de abelhas comercializado no município de Frei Martinho – PB, Research, Society and Development, v. 11, n. 10.

Duarte, Alysson Wagner Fernandes (2009). Mel de abelhas nativas e africanizadas do estado de Alagoas: composição química, segurança microbiológica e atividade terapêutica. 141 flh.

EUROPEAN COMMISSION (2002). European Commission Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. Official Journal of the European Communities, p. 10–47.

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M. (2005). Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu, p.196.

Fredrick Ng'ang'a Anam Onditi¹ Antony Gachanja, Elijah Ngumba (2013). Physicochemical Analysis of Honey in the Kenyan Retail Market, Vol .12.

Fatimah Buba, Abubakar Gidado and Aliyu Shugaba(2013). Analysis of Biochemical Composition of Honey Samples from North-East Nigeria, Buba et al., Biochem Anal Biochem.

Gomes, P. W. P., Muribeca, A. B. J., Souza, R. F. D. (2017). Méis de abelha produzidos no Marajó - PA: Compostos fenólicos e atividade antioxidantes.

Grosso Guillermo Salamanca, Mónica Patricia Osorio Tangarifea y Laura María Reyes Méndeza (2017). Propiedades Físico-químicas de Miele Monoflorales de Encenillo de La Zona Altoandina En Boyacá. Quim. Nova, Vol. 40, N°. 8, p.854-864,.

Graziano, Graziela Oste; Nadia Kassouf Pizzinatto; Antônio Carlos Giuliani; Oswaldo Elias Farah; Mario Sacomano Neto (2006). A certificação de produtores de orgânicos no brasil: um estudo exploratório UNIMEP Piracicaba, SP; Brasil XLIV CONGRESSO DA SOBER“Questões Agrárias, Educação no Campo e Desenvolvimento”, Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural Fortaleza.

Grosso Guillermo Salamanca Mónica Patricia Osorio Tangarife y Laura María Reyes Méndez (2017). Propiedades Fisicoquímicas de Miele Monoflorales de Encenillo de la zona Altoandina en Boyacá, Colômbia, *Quim. Nova*, Vol. 40, N°. 8, 854-864.

Hernández, Constanza Alicia Ley (2018) Marcadores químicos de la miel asociados al estado metabólico e inmune de colonias de *Apis mellifera*. Efecto del parásito *Nosema ceranae* o la aplicación de una composición biocida basada en un extracto vegetal, Santiago – Chile, p. 122.

Hanile Elizabeth Bachmann Lovece (2007), Estudios Preliminares de Caracterización de Miel de Abeja: Determinación e Carbohidratos por Gc/Ms Y Análisis Enzimáticos Valdivia – Chile.

Instituto Adolfo Lutz (2008). Métodos físico-químicos para a análise de alimentos. São Paulo, IV edição.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), (2012) Norma Técnica Colombiana 1273, Miel de Abejas.

Iurlina, M.O., Fritz, R. (2005) Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. International Journal of Food Microbiology, v.105, n.3, p. 297-304.

Juan Jacob Girón Morales (2012). Reutilización de La Salmuera En La Etapa de Salado Del Beneficio Artesanal Del Maní (*Arachis Hypogaea* L.) Y Cuantificación Del Contenido Tánico En La Testa -Episperma- de La SEMILLA, Guatemala.

Varela Jonathan Proaño y Marcelo Espinoza Varriel (2022) Análisis de la cristalización de la miel de abeja como indicativo de su pureza Kalpana N° 22, p.92-106.

Lopes, MéliSSa Andréa (2014) Qualidade dos Produtos Apícolas da Guiné Bissau: Mel e Própolis, Bragança São Paulo, p.85.

J. Lowenthal (1877)"Uber morrer Bestimmung des Gerbstoffs" Z. Anal. Chem 16 33- 48

Kirkwood, K.C.; Mitchell, T.J.; Smith.D. (1960) Examination of the occurrence of honeydew in honey. Analyst, v.85, p.412-416, 1960.

Kirkwood, K.C.; Mitchell, T.J.; Smith, D. (1961) Examination of the occurrence of honeydew in honey. Part II. Analyst, v.86, p.164-165, 1961.

Kamal, Md. Mostafa (2019). Physicochemical and microbiological characteristics of honey obtained through sugar feeding of bees, *J Food Sci Technol*, 56(4), p.2267–2277

Kesić Aldina, Munira Mazalović, Benjamin Catović; Aida Crnkić (2008). The influence of temperature and daylight effect on contents L-ascorbic acid in honey from Bosnia and hercegovina, *annals of the faculty of engineering hunedoara*.

Luis Felipe Pool Yam (2017) Efecto de los compuestos bioactivos de la miel de melípona *beecheii* em la expression. de los genes de virulência de *E.coli* O157: h7, Mérida México.

Leticia M. Estevinho, Xesus Feas b, Julio A. Seijas b, M. Pilar Vazquez-Tato (2012). Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization, *Food and Chemical Toxicology* 50; 258–264..

Lima Kamila Mara Francisca de (2015). Compostos Fenólicos e Atividade Antibacteriana de mel de *Apis mellífera* L., em municípios de Mato Grosso.

Lazo, Francisco Eduardo Lino (2002). Estudio de la calidad de la miel de abeja *Apis mellífera* L. comercializada en Tegucigalpa, Honduras, Zamorano.

Mooz, E. D.; Silva, M. V. (2014) Organic food in the national and international scenarios. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.* São Paulo, SP, v. 39, n. 1, p. 99-112.

M. T. Sancho, S. Muniategui, J. F. Huidobro y J. (1991). Simal, mieles del pais vasco. X: tendencia a la granulacion, *anales de bromatología*.

Maneje bem. Produção de mel orgânico na agricultura familiar, produção de mel orgânico na agricultura familiar, disponível www.manejebem.com.br/publicacao/novidades/producao-de-mel-organico-na-agricultura-familiar acesso em 2023.

Mario Visquert Faz “Influência de las condiciones térmicas en la calidad de las mieles, tesis doctoral, por la Universidad Politécnica de Valencia, ha sido realizada en Instituto de Ingeniería de Alimentos, pág.188.

Mohammed Elimam Mohammed (2020). Bee's Honeys with High Concentration of Dicarbonyl Molecules Are Rich in Vitamin C and Deficient in Hydrogen Peroxide.

Mohammed *et al.* (2019), Hydrogen Peroxide and Dicarbonyl Compounds Concentration in Honey Samples from Different Botanical Origins and Altitudes in the South of Saudi Arabia *Curr. Res. Nutr Food Sci Jour.*, Vol. 7(1), 150-160.

M. T. Sancho, S. Muniategui, J. F. Huidobro Y J. Simal (1991). Mieles Del Pais Vasco. X: Tendencia A La Granulacion Honeys From The Basque Country (Spain). X: Tendency To Granulation *Anales De Bromatología*, 283 e 292.

M. Alcalá, Gómez, Alimentación (1990), ISSN 0212-1689, Año nº 9, Nº 4, 1990, págs. 99-100.

Mariano da Silva, F. M. de S., Mariano-da-Silva, S., & Costa-Netto, A. P. da. (2011). Aplicação do índice de Kirkwood para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC). *Agrarian*, 4(13), p.244–250.

Nikola Sakač (2012). Milan Sak-Bosnar A rapid method for the determination of honey diastase activity, *Talanta* 93 (2012), p.135– 138.

Olaitan Peter B., Olufemi E. Adeleke, Iyabo O.Ola (2007) Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes, *African Health Sciences*; 7(3): 159-165

Olivero Verbel, Rafael Enrique (2018). Evaluación de la miel de abejas (*Apis mellifera* L.) producida y comercializada en el departamento del atlántico Barranquilla, Colômbia.

Rosario, Dávila Lezama María del *et al.* (2020). Determinación de la calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* L. producida en el Municipio de Tepatlaxco, Ver., envasada en vidrio y PET apoyado en un estudio etnobiológico, Vol. 8 No. 2 2020.

Resolución N° 1057 del 23 de Marzo de (2010) del Ministerio de la Protección Social Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que debe cumplir la miel de abejas para consumo humano.

Romero, Manuel Antonio Ramos & Hernandez, Samuel Oswaldo Belloso (2022). Cuantificación de Ácido Ascórbico en miel de abeja producida en cinco localidades de El Salvador por método redox San Salvador, Centro America, p. 98.

R Core Team (2023). *R: A Language and environment for statistical computing*. Version 4.3 Computer software. Retrieved from <https://cran.r-project.org>.

Silva, R. A.; Aquino, I. S.; Evangelista Rodrigues, A.; Souza, d. L. (2009). Análise físico-química de amostras de mel de abelhas zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do Seridó do Rio Grande do Norte. *Rev Verde*, v. 4, p. 70- 75.

Souza, Lázara Batista dos Santos (2017). Caracterização físico-química e microbiológica do mel de abelhas (*Apis mellifera*) produzido no território rural de identidade parque das Emas – Goiás, 2017.

Sousa, Juliana Paes Leme de Mello (2014) Perfil-Físico-químico, Composição Química e Capacidade Antioxidante de méis produzidos por Abelhas Sem Ferrão.

Santos Kátia Helena dos & Osiro Denise (2013) Análise da qualidade microbiológica e antimicrobiana dos méis de abelha produzidos na região de Guaxupé, 2013.

As diferentes cores do mel (2021). Disponível [www. storenicoya.com/cosecha-miel-2021-we022132](http://www.storenicoya.com/cosecha-miel-2021-we022132).

Solvay Chemicals (2019), Inc. H2O2_Determin_20-70 08/19 All Rights Reserved 1-800-765-8292 www.solvay.com

Schmitzová, J., Klaudivy, J., Albert, Š. et al. (1998). A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 54, 1020–1030.

Serra, (1989). Estudio de la validez de los índices que predicen la cristalización de la miel, *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 29 (1), 47-62.

Vargas Taís (2006). Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos campos gerais do Paraná, Ponta Grossa, p. 156.

Veronica Beatriz Galicia Chachagua Dina Elizabeth Nolasco Medrano (2006). Determinacion de taninos en corteza y hojas de *Tamarindus indica* (TAMARINDO), *Terminalia catappa* (ALMENDRO), *Spondias purpurea* (JOCOTE). San Salvador, El Salvador, Centro América.

Vieira, Gustavo Haralampidou da Costa, Análise Faunística de abelhas (2005) (*Hymenoptera Apoidea*) e tipificação dos méis produzidos por *Apis mellífera* L. em área de cerrado no município de Cassilândia MS, Piracicaba, 2005, p. 97.

Capítulo II

Qualidade Microbiológica de Mel Orgânico Comercial

Resumo

O mel orgânico é um produto livre de pesticidas agrícolas e antibióticos indesejáveis, ela sua-a diversidade e qualidade. O objetivo deste estudo foi mensurar a qualidade higiênica- sanitária, foram utilizadas amostras de mel orgânico comercial adquiridas no comércio eletrônico (‘e-commerce’). O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Utilizou-se sete marcas comerciais, com quatro repetições para análise microbiológica avaliou-se *Escherichia coli*; bactérias aeróbicas mesófilas; fungos filamentosos leveduras; *Clostridium perfringens*; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*; *Lactobacillus*; bactérias acéticas; leveduras osmofílicas; e *Salmonella sp.*, aplicou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) a análise de variância e o teste de Tukey ($p < 0,05$), através do software R®, relativamente aos critérios microbiológicos. As marcas comerciais de mel orgânico apresentam qualidade sanitária aceitável, atendem aos padrões normativos da legislação.

Palavras-chave: Mel; microbiologia; qualidade; inocuidade.

Abstract

Organic honey is a product free from agricultural pesticides and undesirable antibiotics, it has diversity and quality. The aim of this study was to measure the hygienic and sanitary quality of samples of commercial organic honey purchased in e-commerce. The study was carried out at the Microbiology Laboratory of the Center for Human, Social and Agrarian Sciences (CCHSA) at the Federal University of Paraíba (UFPB). Seven commercial brands were used, with four replicates. For microbiological analysis, *Escherichia coli*; mesophilic aerobic bacteria; filamentous yeast fungi; *Clostridium perfringens*; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*; *Lactobacillus*; acetic bacteria; osmophilic yeasts; and *Salmonella sp.* were evaluated, a completely randomized design (DIC), analysis of variance and the Tukey test ($p < 0,05$) were applied using the R® software for the microbiological criteria. The commercial brands of organic honey have acceptable sanitary quality and meet the normative standards of the legislation.

Keywords: Honey; microbiology; quality; safety.

1 Introdução

O mel, como um produto de origem animal, tem um microbiota original própria composto por diversos micro-organismos com características específicas, a manipulação pode atribuir um conjunto bacteriológico diferente do produto original, uma indicação de uma contaminação fecal é a falta de higiene no processamento do mel (Santana, 2022). O qual é uma substância natural produzido pelas abelhas melíferas, predominante a base de néctares de plantas com flores, e é o único alimento considerado como fator de risco para o botulismo infantil, ocorrendo em crianças com menos de 12 meses, utilizando-se tratamento térmico para destruir esporos botulínicos (ICMSF, 2011).

Com base na Lei n.º 10.831 de 23 de dezembro de 2003, um sistema orgânico de produção é todo aquele que adota técnicas medidas a otimizar o uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito a integridade cultural das comunidades e unidades de produção rural. Para a produção de mel orgânico não existe legislação específica; a certificação para produção apícola se exige os seguintes parâmetros, (Maneje Bem, 2003).

Segundo a Organização Internacional Agropecuária (OIA) que os produtos orgânicos se mantem em sistemas sustentáveis, pois não utiliza defensivos agrícolas em seus produtos, mantendo os recursos naturais e a fertilidade do solo, garantindo qualidade pelas certificadoras; trazendo vantagens a produção ao produtor que mantém a sustentabilidade do sistema, refugando a erosão. É um sistema mais barato, e independente de altas tecnologias. Para o consumidor representa uma oferta de alimentos saudáveis, garantida pelas certificadoras com efeito de produzir alimento saudável, permitindo ao agricultor um produto diferenciado e mais valorizado prescrevendo uma relação de confiança ao consumidor, (Graziano, 2006).

A ecologia microbiana tem três objetivos principais com respeito a compreensão do papel dos micro-organismos: 1. Definir a dinâmica populacional, 2. Definir as características físico-químicas dos microambientes; 3. Compreender os processos metabólicos realizados por micro-organismos em um *habitat*. Os alimentos e muitos materiais tradicionais utilizados pela sociedade humana são substratos para o crescimento microbiano na maioria dos casos transformações bioquímicas devida pela ação dos micro-organismos produz deterioração. O ajuste das condições ambientais ultrapassar os requerimentos de crescimento e as margens de tolerância com o fim de impedir o crescimento microbiano potencialmente destruído controlando a atividade microbiana não desejada (Atlas, 2002).

Micro-organismos indicadores presentes nos alimentos podem informar a presença de contaminação de origem fecal, sobre a deterioração do alimento como indicativo de

contaminação sanitária inadequada durante o processamento e armazenamento (Marcellini, 2023). Os principais micro-organismos indicadores de contaminação fecal a (*Escherichia coli* e Enterococos), indicadores gerais (Aeróbios Mesófilos, Termófilos, Psicrotróficos e Bolores e Leveduras) outros indicadores de eficiência de processos são (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e Esporos termófilos) com a função de avaliar a higiene de manipuladores e equipamentos (Jay, 2005).

A Comissão do Codex Alimentarius (CAC) para um critério microbiológico de alimentos se define pela sua aceitabilidade de um produto ou lote de alimentos, com base na ausência ou presença no número de micro-organismos, incluindo parasitas ou sua quantidade de suas toxinas ou metabólicos por sua unidade, e assegura uma segurança, microbiológica dos alimentos pelos seguintes critérios controle do fornecedor, aplicação de boas práticas de higiene garantindo uma segurança precisa ser aplicada a toda cadeia produtiva alimentar a produção de alimentos no campo até o produto final, a integração de ferramentas de gestão de segurança alimentar (BPF, BPH, APPCC, ARM, Gerenciamento de Qualidade serie ISO e Qualidade Total) possibilitando comunicação entre fornecedor e autoridades sanitárias (Forsythe, 2013).

O objetivo da segurança alimentar dos alimentos (*FSO – Food Safety Objective*) e metas de desempenho (*PO – Performance Objective*), que se tenha sentido cumprir metas de inocuidade um conjunto garanta que os alimentos quando ingeridos não causem nenhum dano à saúde aos consumidores. Que a cadeia produtiva deve atingir, sem especificar a maneira como essa meta deve ser atingida que é muito importante para o comércio internacional para garantir a proteção do consumidor sem imposição de barreiras comerciais injustificáveis que atenda metas de saúde pública que apoiam conceitos existentes de inocuidade dos alimentos (ICMSF, 2006).

Objetivo da atividade antimicrobiana a capacidade de inibir o crescimento microbiano, tratar ou eliminar infecções diminuir ou eliminar micro-organismos patogênicos preservando uma flora microbiana. O uso indiscriminado de antimicrobianos pode acarretar o desenvolvimento de resistência. Significa que a microbiota tem a capacidade de se desenvolver *in vitro* em presença da concentração que o antimicrobiano atinja o conceito de dose dependente (Melo, 2012).

A atividade antimicrobiana do mel se relaciona por fatores a sua composição química, a diversidade vegetal, a baixa atividade de água (A_w) e a presença de fitoquímicos e substâncias voláteis (Silva, 2016). Segundo Kwakman *et al.* (2010), o mel apresenta um peptídeo antimicrobiano defensiva-1, este peptídeo contribui para a proteção de geleia real e o mel contra alteração da microbiota, e se a defensiva-1 também está presente em outros méis.

As propriedades nutritivas e terapêuticas do mel permite ser um produto alimentício devido a sua diversidade microbiológica e sua inocuidade, a presença de micro-organismo no mel pode influenciar na sua segurança alimentar. Os intestinos das abelhas compõem de 1% de leveduras e 27% de bactérias Gram positivas e 70% Gram negativas, a presença de *Staphylococcus aureus* de contaminação humana um patógeno oportunista sendo a causa de bacteremias provocando intoxicação estafilococcus nos alimentos (Erika, 2017).

A ecologia microbiana do mel é uma consequência da biota intrínseca das abelhas devido a sua baixa atividade de água [(a_w) 0,5 a 0,6], elevada osmolaridade e uma alta acidez e pH (3,4) é um produto que se tem um valor social e econômico, constituídos por diferentes flores durante um período de tempo em seu estomago não havendo contaminação o contato com o intestino, a contaminação se dá por meio do processamento durante a extração pela manipulação (Quiñones, 2018).

Segundo Cardoso (2011), as fontes de contaminação do mel podem ser de origem primária (antes da colheita) de difícil controle e secundárias (depois da colheita) podendo ser controladas através de boas práticas de fabricação (BPF's). Conforme a Portaria Nº 368, de 4 de setembro de 1997, que estabelece requisitos gerais de boas práticas de higiene e elaboração de alimentos, e a RDC Nº 275, de 21 de outubro de 2002, de acordo com o Art.1º, aprova-se o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados (POP's) aplicados aos estabelecimentos produtos industriais de alimentos, além da lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores e industrializados de alimentos, que contribuem para garantir as condições higiênicas-sanitárias ao processamento.

O conhecimento das condições de umidade e temperatura que influenciam o crescimento de micro-organismos no mel, assim como o controle da deterioração e a necessidade de resultados microbiológicos, podem impactar sua qualidade. A microbiota encontrada, como leveduras, bactérias e formadores de esporos, pode indicar a qualidade sanitária, especialmente em relação a origem fecal, como *E.coli*, em muitas amostras de mel as contagens estão abaixo de 100 unidades formadoras de colônias por grama UFC/g, (Snowdon, et al.,1996).

As estabilidades microbiológicas do mel são desfavoráveis ao crescimento de micro-organismos devido a fatores como pH ácido, a baixa atividade de água, a alta viscosidade e a concentração de açúcares. O mel é um alimento estável que contendo compostos antimicrobianos, como peróxido de hidrogênio, resultante de sua atividade enzimática. A cristalização pode levar um aumento de água acima de 18%, favorecendo o crescimento de micro-organismos em razão da alta concentração de açúcares. As principais bactérias no mel

maduro são *Gluconobacter* e *Lactobacillus*, desaparecem quando a porcentagem de água fica inferior a 18%, o que favorece o crescimento de leveduras osmofílicas causando fermentação do mel (Martí,2018).

Os alimentos altamente adoçados são chamados de umidade intermediária conhecidos como IMF (*Intermediate Moisture Foods*) são considerados com teor de água entre 15 e 20% e os valores de a_w entre 0,60 e 0,85, retardando o crescimento microbiano (Conde,1999).

As leveduras osmofílicas, causando a fermentação do mel atividade de água, se for elevada e os esporos de bactérias são patogênicas para as abelhas. O crescimento de fungos e leveduras e de grande importância podendo haver alteração durante o armazenamento (Mungói,2008).

O gênero *Bacillus* compreende bactérias Gram-positivas em forma de bastonete com a capacidade de formar esporos. Existem 60 espécies de grande diversidade genética, sendo a maioria não patogênica (Silva *et al.*, 2017).

Os benéficos do mel para seres humanos, dependem de micro-organismos simbióticos, conhecidos como microflora, que favorecem a produção e absorção de nutrientes essenciais ao nosso corpo, como vitaminas K e B12, ácido penta tônico, piridoxina e biotina. Além disso, o mel atua modulando o sistema imunológico. A microbiota vive no intestino, onde, devido à alta acidez do estômago, a maioria dos micro-organismos é incapaz de crescer. No intestino encontrar-se entre 500-600 espécies diferentes. Como não há oxigênio no intestino as bactérias intestinais são aerotolerantes e anaeróbias facultativas.

Na produção de mel, as abelhas ingerem o néctar e o transformam com a ajuda de enzimas, incorporando micro-organismos simbióticos associados com ao trato digestivo, que pode trazer benefícios à saúde humana e a microbiota. A microbiota humana natural é estável, por isso é necessário que a ingestão diária dos novos simbioses.

A bactéria *Gluconobacter oxydans*, têm 100% de sobrevivência em pH de 5,0 e 50% de sobrevivência após 3 h de contato em pH de 2,0 e apresentou resistência em 2% de sais biliares. O benefício desse componente para o organismo pode permitir seu uso como probiótico na alimentação. Como o mel é rico em frutose, algumas bactérias que ali vivem possuem a capacidade de degradar frutose com mais facilidade; essas bactérias são conhecidas como ácido láctico frutofílico, pois que preferem metabolizar frutose em vez de glicose como normalmente é observado. No intestino, essas bactérias produzem bactericinas que atuam como uma barreira para outros micro-organismos e contribuem para o sistema imunológico (Silva *et al.*, 2017).

O mel é um produto saudável constituído de carboidratos, como glicose e frutose, água e compostos aromáticos. Sua composição depende de fatores como a origem floral, as

condições geográficas e a sazonalidade. O mel apresenta diversas funcionalidades se destaca por suas propriedades benéficas a saúde, entre as quais se incluem atividades anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante. Essa variável complexa proporciona uma atividade antimicrobiana de amplo espectro contra micro-organismos. A atividade antimicrobiana do mel em relação a micro-organismos como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* considerando micro-organismo oportunistas, está relacionada ao baixo teor de água, e um alto teor de açúcares, ao pH baixo e a presença de diversos compostos metabólicos secundários (Júnior *et al.*, 2019).

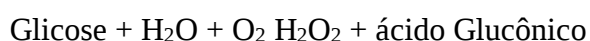
Produtos naturais, como o mel, a própolis, produzidos pelas abelhas, oferecem oportunidades ilimitadas para o desenvolvimento de novos medicamentos, devido à diversidade química presente em sua composição. Esses produtos naturais têm sido utilizados a anos na medicina popular e nas civilizações antiga, sendo considerados um valioso recurso terapêutico. As abelhas transformam o néctar por meio de evaporação da água e pela adição de enzimas, permitindo que os compostos ativos bioativos das plantas de origem do néctar transferidas para o mel.

O mel é constituído de propriedades farmacológicas que despertam o interesse quanto ao seu potencial de aplicabilidade em casos clínicos, como ação antioxidante e efeito inibitório para cerca de 60 espécies de bactérias, incluídos anaeróbias e aeróbias como as Gram positivas e negativas. O seu efeito osmótico e o seu baixo pH contribuem para o rompimento da parede celular bacteriana, juntamente com o acúmulo de peróxido de hidrogênio, que atua na atividade antimicrobiana final do mel.

Devido ao mel conter o ácido glucônico ou qualquer outro ácido produzido pela ação da glicose, da enzima glicose-oxidase vindo das glândulas hipofaríngeas, ele se encontra em equilíbrio com a glicolactona caracterizando a acidez lactônica. O amadurecimento ocorre em razão da inversão da sacarose do néctar pela enzima invertase.

O peróxido de hidrogênio é um agente antimicrobiano muito conhecido, inicialmente aclamado por suas propriedades bactericidas e desinfetantes. Embora a concentração de peróxido de hidrogênio no mel ser muito baixa, ele é considerado eficaz como um agente antimicrobiano.

O peróxido de hidrogênio e acidez produzem a seguinte reação:



A atividade microbiana do mel torna-se um promissor agente antimicrobiano, mostrando-se superior aos antissépticos e ou antibióticos (Andrade, 2010). O objetivo avaliar as condições higiênicas-sanitárias do mel orgânico comercial.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Foram utilizadas amostras de mel orgânico comerciais do comércio eletrônico (e-commerce). Sete amostras foram coletadas de regiões A (Paraná), B (São Paulo), C (Santa Catarina), D (Minas Gerais), E (São Paulo), F (Piauí), G (Paraíba), com quatro repetições cada, e foram enviadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA) do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA). Realizaram-se as seguintes determinações, microbiológicas *Escherichia coli*; Bactérias aeróbias mesófilas; Fungos filamentosos e leveduras; *Clostridium perfringens*; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*; *Lactobacillus*; Bactérias acéticas; leveduras osmofílicas; e *Salmonella sp.*

2.2 Método

2.2.1 Diluição Inicial

Para a análise microbiológica pesou-se 25g em 225 mL de água peptonada tamponada esterilizada, realizou-se diluições seriadas 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e posteriormente inoculando-se para seguintes avaliações (APHA, 2015).

2.2.2 Determinação simultânea de coliformes e *E.coli*

Utilizou-se a técnica de tubos múltiplos NMP/g com diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em Caldo Fluorocult LMX, confirmação simultânea de Coliformes e *Escherichia coli*. Para a confirmação de contaminação por bactérias, incubou-se a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48h., após o período de incubação fez a Interpretação dos resultados: o caldo muda a cor azul-esverdeado. *E.coli* caldo azul-esverdeado e azul fluorescente utilizando lâmpada UV (366 nm). Adição de reagente de Kovac's formando anel vermelho na parte superior do tubo indica confirmação adicional de *E. Coli* (APHA, 2015).

2.2.3 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada pela técnica de *Pour Plate* (plaqueamento em profundidade) utilizando a diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em ágar plate count, incubando a $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}/48\text{h.}$, contabilizando as colônias se expressa em unidade formadores de colônias por gramas de mel UFC/g, conforme equação (ISO 7218).

$$N = \frac{\sum C}{V * D * (N1 + 0,1 N2)}$$

$\sum C$ =soma das colônias contadas nas placas mantidas após duas diluições decimais

V= Volume do inoculo aplicando em cada placa

D= Diluição correspondente a primeira diluição (N1 + 0,1 N2) N1 o número de placas da primeira diluição e N2 o da segunda diluição.

2.2.4 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

A contagem de Fungos filamentosos e Leveduras foi realizada pela técnica de *Spread Plate* (Plaqueamento em superfície), a partir da diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em Agar Sabouraud Cloranfenicol e espalhando o inoculo com a alça de drigalski. As placas foram incubadas a $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$ por 5 a 7 dias. Se contabiliza as colônias, foram expressas em unidade formadores de colônias por gramas de mel UFC/g.

2.2.5 Contagem de *Clostridium perfringens*

A contagem de *Clostridium perfringens* foi realizada pela técnica de *Spread Plate* (plaqueamento em superfície), a partir da diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em Agar SPS (Sulfito Polimixina Sulfadiazina) e espalhando o inoculo com a alça de drigalski, as placas foram incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C} /48\text{h.}$, em anaerobiose, se contabiliza colônias características, expressando em unidade formadores de colônias por gramas de mel UFC/g.

2.2.6 *Bacillus cereus*

A partir da diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeou-se 0,1mL em Meio Agar HiCrome *Bacillus*, incubou-se a $30^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$ por 48h., se contabiliza as colônias características

azuis, com centro azul, se expressa em unidade formadores de colônias por gramas de mel UFC/g.

2.2.7 Enumeração de *Staphylococcus aureus*

A enumeração de *Staphylococcus aureus* foi realizada pela técnica de *Spread Plate* (plaqueamento em superfície), utilizando a diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em Meio Agar Baird-Parker, espalhando o inóculo com a alça de drigalski. As placas foram incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}/48\text{h}$, contabilizaram-se as colônias características, apresentaram crescimento colônias cinzento escuras a preto, brilhantes, de tamanho médio, halos transparentes a circundar, se expressa de mel UFC/g.

2.2.8 Enumeração de *Lactobacillus*

A enumeração de *Lactobacillus* sp. foi realizada pela técnica de “*Pour Plate*” (plaqueamento em profundidade) utilizando a diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em Meio Agar MRS *Lactobacillus*. Este meio é recomendado para cultivo, enriquecimento e isolamento de *Lactobacillus spp.* de todos os tipos de materiais. As placas foram incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C} / 48\text{h}$, em anaerobiose, contabilizando as colônias características, expressa em UFC/g.

2.2.9 Enumeração de bactérias acéticas

Foi realizada pela técnica de “*Pour Plate*” (plaqueamento em profundidade) utilizando a diluição seriada inicial, da amostra de mel, semeando em meio contendo 0,5% de glicose, 2% de glicerol, 1% de extrato de levedura, 1% de peptona, 1,5% de extrato de batata, 4% de etanol e (v/v) e 0,003% de púrpura de bromocresol). A mistura foi incubada a 37°C por 5 dias, se contabilizando as colônias características UFC/g (Pathom-Aree, 2009).

2.2.10 Enumeração de leveduras Osmofílicas

Foram homogeneizados 10 g de amostra em 90 mL de água peptonada tamponada esterilizada, suplementada com 15% de glicose (peso/peso) realizou-se diluições decimais $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$. Foi semeado 1 ml da amostra em placas de petri estéreis. Em ágar bacteriológico 15g, Extrato de levedura 5g, glicose 150g/L. As placas foram incubadas a 30°C por 5 a 7 dias se expressa UFC/g (ISO 21527-2).

2.2.11 *Salmonella* sp.

Etapas

Pré-enriquecimento

Pesou-se 25 g de amostra em 225 ml de água peptonada tamponada estéril (BPW) incubando-se a 37° C por 18 horas.

Enriquecimento seletivo

Transferiu-se 1 mL do inócuo para 9 mL de caldo Tetracionato (TT) e 0,1 mL para 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, que foram incubados a 42°C/ 24h.

Plaqueamento

As amostras foram estriadas no ágar Hektoen Entérico (HE) colônias características verdes a verdes-azuladas com centro preto e Agar *Salmonella* Diferencial (Rambach) usado para diferenciação de espécies de *Salmonella* de espécies de *Proteus* e outras bactérias entéricas. A produção de ácido do propileno glicol é uma característica desconhecida das espécies de *Salmonella* e é utilizado nesse meio colônias características *Salmonella typhimurium* (rosa-vermelho), *Salmonella enteritidis* (rosa-vermelho), *Salmonella typhi* (incolor), incubada-se a 37°C/ 18h.

Teste Bioquímico

Com características morfológicas de *Salmonella* para tubos contendo ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Agar Lisina Ferro (LIA), incubados a 37°C/ 24h.

3 Análise de Dados

Na análise dos dados estatísticos, aplicou-se o teste de normalidade Shapiro – wilk, e o teste de Kruskal – Wallis, realizando análise de variância como o teste de medias modelo de Tukey. Consideran-se estatisticamente diferentes os resultados que apresentaram nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). Utilizou-se programa o R Core Team 2023.

4 Resultados e Discussão

Tabela 1- Qualidade microbiológica do mel orgânico comercial.

Micro-organismos	Marcas Comerciais						
	A	B	C	D	E	F	G
<i>E.coli</i> NMP/g	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
<i>Clostridium perfringens</i> Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Bactérias Aeróbios mesófilas Log UFC/g	<1	1,55	1,15	1,32	1,07	1,00	<1
<i>Staphylococcus aureus</i> Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Bacillus cereus</i> Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Lactobacillus sp</i> Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Bactérias acéticas Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Leveduras osmofílicas Log UFC/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Fungos filamentosos e leveduras Log UFC/g	2,00	<1	1,98	<1	<1	1,15	<1
<i>Salmonella sp.</i>	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS

Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g); Número Mais Provável por grama (NMP/g); Número de células em uma população na expressão logarítmica por grama (Log UFC/g).

Os critérios microbiológicos para o mel não são estabelecidos pelo Brasil (2000), Codex Alimentarius (2001) e European Commission (2002). De acordo com os padrões de identidade e qualidade do Mercosul/GMC/RES N° 15/94, devem ser cumpridas as seguintes características microbiológicas: bolores e leveduras com limite de 2 Log UFC/g; *Salmonella sp.* Deve estar ausente; e mesófilos 2,48 Log UFC/g.

As marcas avaliadas evidenciaram que não apresentaram presença de *E.coli*, estando em conformidade com regulamento técnico RTCR 423: (2009), que estabelece <3NMP/g. A Resolução NTC 1273/2007, menciona que as propriedades do mel, com seu baixo pH, a alta osmolaridade e atividade de água baixa (a_w), impedem o crescimento de bactérias.

Os resultados dos méis orgânicos comerciais (Tabela 1), para bactérias aeróbias mesófilas atendem a norma RTCR 423 (2009), que estabelece <4 Log UFC/g. A NTC 1273(2007) estipula um limite de 2,48 Log UFC/g, sendo utilizada para monitorar as boas práticas de higiene dos alimentos. É possível reduzir a carga microbiana 1 Log/UFC a carga microbiana no mel por meio de tratamento térmico como a pasteurização (Suazo, 2014).

O limite máximo de bolores e leveduras no mel, estabelecido pela resolução Mercosul/GMC/RES N° 15/94 é de 2 Log UFC/g. Uma alta concentração de fungos no mel pode ocorrer devido à má conservação e deficiência de controle de temperatura. As altas

porcentagem de umidade permite a fermentação e a presença de leveduras osmofílicas (Suazo, 2014).

Os níveis de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus*, Bactérias acéticas, não são preconizadas pelas resoluções.

Na Tabela 1, os resultados avaliados de méis orgânicos para *Salmonella*, mostraram ausência nas sete amostras analisadas indicando boas condições higiênicas desde a pós-colheita até o armazenamento.

Observa-se que as bactérias Gram positivas são mais sensíveis, pois apresentam uma parede celular densa, o que lhe confere uma maior resistência a uma alta pressão de açúcares em comparação com as bactérias gram negativas por apresentar uma parede fina e solta (Francois, 2022).

O critério máximo de Leveduras osmofílicas, estabelecido por National Food Safety Standard on Honey (2011), é de $< 2,30 \text{ Log UFC/g}$. Os resultados avaliados nos méis orgânicos comerciais (Tabela 1) não apresentaram presença de leveduras osmóticas, indicando boas práticas de fabricação (BPF) e higiene, garantindo segurança sanitária aos consumidores. A microbiota do mel é de importância comercial, sendo composta por leveduras osmofílicas que podem causar fermentação se a atividade de água estiver elevada (ICMSF, 2015).

5 CONCLUSÃO

O consumo de mel aumentou nas últimas décadas, devido às suas propriedades terapêuticas. O mel pode carregar micro-organismos de plantas, do solo ou de equipamentos utilizados. Esses micro-organismos têm a capacidade de se modificar e multiplicar, comprometendo a segurança do produto. Portanto, os controles microbiológicos são essenciais para garantir a segurança alimentar do produto.

Os resultados observados nos méis orgânicos comerciais permitem concluir que a ecologia microbiana, atende os limites aceitáveis de acordo com a Instrução Normativa nº 11 de 2000, que trata das boas práticas de processamento e higiene. No entanto, os demais micro-organismos estudados não preconizados pela legislação.

Referências

Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 10520: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro: ABNT, 2023.

Andrade Neto, Francisco Vicente (2010). Atividade antimicrobiana do mel de abelhas *Apis mellifera* L. e *Melipona subnitida* L. frente amostras bacterianas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, Mossoró 53f.

Allana Leão Alcântara; Raquel Cotrim Cardoso, Flávio Mendes de Souza, Marcelo José Costa Espinheira (2019) Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Extraído da Cápsula do *Eucalyptus urograndis*: Uma Contribuição Significativa para o ramo Farmacêutico, Id on Line Rev. Mult. Psic. V.13, N° 43, p. 455-468.

Al-Shehri SS (2017) The antibacterial hydrogen peroxide generation from *Ziziphus Spina Christi* and *Acacia* spp. Honey, Academia Journal of Scientific Research 5(9): 290-296.

Atlas, Ronald M. & Richard Bartha (2002) Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental, Person Educacion, Madrid, 4ª edição, pag.696.

Botelho Marisa Sofia Leandro (2015), Screening da atividade antimicrobiana de extratos de plantas, Experiência Profissionalizante na Vertente de Investigação, Farmácia Comunitária e Hospitalar, Covilhã.

Basson Nicolaas J and Grobler Sias R(2008) Antimicrobial activity of two South African honeys produced from indigenous *Leucospermum cordifolium* and *Erica* species on selected micro-organisms, BMC Complementary and Alternative Medicine, 8:41.

Carlos Ramón Vázquez-Quiñones, Rúben Moreno-Terrazas, Iván Natividad-Bonifacio, Elsa Irma Quiñones-Ramírez, Carlos Vázquez-Salinas (2018), Microbiological assessment of honey in México, Rev Argent Microbiol, 50(1), p.75-80

Conde, Maria José Valderrama (1999) Micro-organismos Responsables de Alteraciones en Alimentos Altamente Azucarado, Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Biológicas Departamento de Microbiología, p.197.

Cardoso, Karen Franco de Godoi, (2011) Qualidade do mel de *Apis mellifera* L. produzido na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo. Botucatu i, p.63.

Dessie Ashagrie Tafere. Chemical Composition and uses of Honey (2021) A Review. Journal of Food Science and Nutrition Research 4: 194-201.

Mungói, Eduarda Maria flora Zandamela (2008) Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Monzabique, Barcelona, p. 290.

Martí, Joana Martínez (2018) Parámetros de Calidad en La Miel. Influencia de Las Condiciones del Procesado, Valencia, p.41.

E.J. Gudiñ a, V. Rocha, J.A. Teixeira and L.R. Rodrigues (2010) Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei ssp.*, Portugal.

Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. (2008) Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu.

François Tapsoba, Kagambèga Boureima, Sawadogo Adama, Zongo Oumarou, Yoda W. Nadia, Ouédraogo Harouna, Cissé Hama, Zongo Cheikna and. Savadogo Aly (2022) Microbiological, Physicochemical and Sensory Characterization of Honey, a Natural Healthy Product in Burkina Faso, Volume 32, p. 32-41.

ISO21527-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the Enumeration of yeasts and moulds, Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal.

ISO 7218. Microbiologie des aliments-Exigences générales et recommandations (2007)

ICMSF (2006) Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods Guia simplificado para a compreensão e uso de Objetivos de Inocuidade de Alimentos (FSO) e Objetivos de Desempenho (PO).

ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods (2011) Microorganisms in Foods 8, Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance

Icontec. Instituto Colombiano de Normas Tecnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. Miel de abejas. NTC 1273, 2007.

ISO 7218. (2007) Microbiologie des aliments-Exigences générales et recommandations.

Júnior Paulo Sérgio Taube, *et al.* (2020). Atividade Antimicrobiana De Méis Produzidos Em Santarém-PA, Brasil Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia 2 recursos eletrônico / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. –Ponta Grossa, PR: Atena Editora.

Kwakman, P. H. S.; te Velde, A. A.; Boer, L.; Speijer, D.; Christina Vandenbroucke-Grauls, M. J.; Zaat, S. A. J. (2010) How Honey Kills Bacteria. *Faseb. J.*, 24, 2576–2582.

Kátia Helena dos Santos, Denise Osiro (2013), Análise da qualidade microbiológica e Antimicrobiana dos méis de abelha produzidos na região de Guaxupé, Revista de Iniciação Científica – UNIFEG, Guaxupé – nº 13.

Llontop, Lucy del Milagro Vélez ; Calderón, Jorhinio Zambrano, (2018). Efecto inhibitorio *in vitro* de la miel de abeja sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de heridas superficiales, Lambayeque-Perú Enero.

Mayara Salgado Silva, Yavor Rabadzhiev, Monique Renon Eller, Ilia Iliev, Iskra Ivanova and Weyder Cristiano Santana (2017), Micro-organismos in Honey.

Microorganisms in honey, Jill A. Snowdon, Dean O. Cliverb (1996) International Journal of Food Microbiology 31.

Maneje bem, Produção de mel orgânico na agricultura familiar, produção de mel orgânico na agricultura familiar. Disponível em www.manejebem.com.br, acesso 2023

Marcellini, Aline Mota de Barros (2023). Micro-organismos Indicadores biológicos de qualidade e segurança dos alimentos, disponível <https://slideplayer.com.br/slide/5247351/>

Melo, Vivianne Vieira; Duarte, Izabel de Paula; Soares, Amanda Queiroz (2012). Guia antimicrobianos.

National Food Safety Standard on Honey draft (2011) This Report Contains Assessments of Commodity and Trade Issues Made by USDA Staff and Not Necessarily Statements of Official U.S. Government Policy, China.

Najla A. Albaridi (2019). Antibacterial Potency of Honey International Journal of Microbiology,

_____O médium de Kligler, disponível <http://probiologiste.blogspot.com/2018/11/le-milieu-de-kligler-principe.html>.

Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997 regulamento técnico sobre as condições higiênic-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos.

Pimentel et al. BMC Complementary and Alternative Medicine (2013). Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manausensis* and commercial honey.

RDC Nº 275, de 21 de outubro de (2002). Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

R Core Team (2023). *R: A Language and environment for statistical computing*. Version 4.3 Computer software. Retrieved from <https://cran.r-project.org>.

Stefany Paola Vela-Santana, Álvaro Tresierra-Ayala, César Delgado Vásquez (2022) Bacteriología de la miel de abeja sin aguijón en Loreto, Perú Bacteriology of honey from stingless bees in Loreto, Peru, Ciencia amazónica (Iquitos) 10 (1-2), 11 – 26.

Santos, R. C. *et al.* (2003). Microbiologia de alimentos- Qualidade e segurança na produção e consumo. Viçosa: UFV.

Silva, Lorrany Matos Cardozo da (2016). Atividade Antibacteriana de Méis dde Meliponíneos Obtidos de Diferentes Regiões do Estado do Paraná (Brasil), Campo Mourão.

Senasa (2009). Servicio Nacional de Salud Animal. Rtc 423: Reglamento Técnico Para Miel de Abejas. Costa Rica.

Suazo Gabriela Elisa Rodríguez (2014). Caracterización física, química y microbiológica de la miel de Melipona beecheii, Honduras.

Salfinger, Yvonne, Tortorello, Mary Lou (2015). Compendium of Methods Microbiological Examination of Foods. Washington: American Public Health Association, 5^a ed., p. 995

Kanlaya Kappeng and Wasu Pathom-aree (2009), Isolation of acetic acid bacteria from honeyMaejo Int. J. Sci. Technol, 3(01), 71-76.

Zamora Luis Gabriel, Arias María Laura (2011) Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón, Rev Biomed; 22:59-66.

Capítulo III

Análise polínica e Autenticidade de Mel Orgânico Comercial

Resumo

O mel orgânico brasileiro se diferencia pela sua qualidade livre de resíduos químicos e fármacos, a análise da origem polínica e autenticidade da segurança na idoneidade do mel. O objetivo deste estudo foi mensurar a qualidade de grãos de pólen e identidade em amostras de mel orgânico comercial. Foram utilizadas amostras de mel orgânico comercial adquiridas no comércio eletrônico (*e-commerce*). O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Foram utilizadas sete marcas comerciais, com quatro repetições, para análise de pólen qualitativo e quantitativo, averiguando os grãos de pólen nas marcas estudadas. Aplicou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), aplicando-se análise de variância o teste de Tukey ($p < 0,05$), através do *software* R Core Team 2023. Das sete marcas estudadas demonstraram que seis apresentaram mel rico em grãos de pólen e classificando-se grupo III e mel floral e mistura com melada estando no grupo II. Na autenticidade o mel foi classificado mel puro sem fraudes de forma direta e indiretamente sem alteração da sua propriedade química, não apresentarão diferenças significativas [Tukey ($p < 0,05$)]. As marcas comerciais de mel orgânico foram importantes para avaliar a sua estrutura polínica e também sua autenticidade.

Palavras-chave: Mel, Análise, Pólen, Autenticidade

Abstract

Brazilian organic honey stands out for its quality, free of chemical residues and drugs, and the analysis of pollen origin and authenticity ensures the honey's suitability. The aim of this study was to measure the quality of pollen grains and identity in samples of commercial organic honey. Samples of commercial organic honey purchased from e-commerce were used. The study was carried out at the Microbiology Laboratory of the Center for Human, Social and Agrarian Sciences (CCHSA) at the Federal University of Paraíba (UFPB). Seven commercial brands were used, with four repetitions, for qualitative and quantitative pollen analysis, checking the pollen grains in the brands studied. A completely randomized design (DIC) was applied, with analysis of variance and Tukey's test ($p < 0.05$), using the R Core Team 2023 software. Of the seven brands studied, six had honey rich in pollen grains and were classified as group III, while floral honey and honeydew mixtures were classified as group II. In terms of

authenticity, the honey was classified as pure honey with no direct or indirect fraud without altering its chemical properties, with no significant differences [Tukey ($p < 0.05$)]. The commercial brands of organic honey were important for assessing its pollen structure and its authenticity.

Keywords: Honey, Analysis, Pollen, Authenticity

1 Introdução

A polinização é um importante serviço ecossistêmicos, que assegura a variabilidade genética das espécies vegetais, além de representar um fator importante na produção e qualidade das culturas agrícolas (Carvalho,2017).

As abelhas se destacam como uns dos maiores polinizadores, tanto de plantas nativas, quanto daquelas utilizadas em cultivos, pois desses animais dependem de néctar e pólen para seu desenvolvimento e as operárias campeiras apresentam constância floral durante o forrageamento, dentre elas são capazes de realizar a polinização por vibração. Pólen é um recurso extremamente nutritivo para diversas espécies de visitantes florais (Guimarães,2018).

O mel é um alimento natural produzida pelas abelhas a partir de depósitos doces de plantas. É uma mistura complexa contendo nutrientes e compostos bioativos e sustentáveis e inócuos. A sua qualidade baseia-se nos seus aspectos organolépticas, como aroma, sabor, cor (Mongoi,2008).

O pólen é um pó fino composto de micrósporos produzidos pelas flores por uma estrutura usada para transportar DNA masculino para a parte feminina de uma flor. É também chamado de sêmen de flor, transporta os gametas masculinos (células reprodutivas) das plantas de sementes, é um pó fino amarelado que é transportado de planta em planta pelo vento, por pássaros, por insetos ou por outros animais (Portalsaofrancisco, 2023).

A criação de abelha tem uma característica ecológica essencial permitindo a conservação de espécies de abelhas e plantas esta é uma atividade; importante e crescente para um sistema de produção da agricultura familiar. As abelhas atuam como polinizadores naturais de espécies vegetais contribuindo para o equilíbrio dos ecossistemas e biodiversidade (H.S. Reis *et al.*, 2021).

O mel de abelha carrega numerosos grãos de pólen das plantas; se alimentam fornecendo informações verdadeira sobre a qualidade do mel. A ciência do pólen e esporos servindo na investigação microscópica do mel de abelha, fornecendo informações essencial sobre as condições higiênicas da produção de mel e sua contaminação de pó mineral (Hassanien, 2018).

O surgimento de muitas ameaças mundiais a saúde das abelhas e o aumento ilícito de adulteração, estimularam uma crescente avaliação qualitativa para demonstrar a origem botânica dos méis (Sniderman,2018).

A origem botânica, condição antisséptica, utilidade (medicinal) e aplicações antibacteriana. O estudo baseia-se nas origens florais onde é produzido. As abelhas podem preferir espécies de plantas para fornecer néctar ou pólen onde produzem mel monoclonal; e multifloral, são excelentes polinizadores para a ecologia de vegetais e agricultura. A origem floral permite entender que tipo de mel é obtido dos apiários o presente estudo tem como objeto mostrar a diversidade polínica e do mel de qualidade (Aguilar, 2022).

A Palinologia é uma ciência que estuda os palinófitos, que inclui pólen de Angiospermas e Gimnospermas, esporos de Pteridófitos e fungos, cistos de algas, dinoflagelados, foraminíferos, além de partículas de carvão, tanto fósseis como atuais, com o surgimento da microscopia foram observadas suas estruturas, descobrindo a real papel do pólen no processo de fertilização das plantas, variando de espécie para outra (Ribeiro,2005).

O mel orgânico do Brasil se diferencia pela sua alta qualidade livre de resíduos, pela sua variada paleta de cores em função da biodiversidade existentes, sendo apreciada por vários países principalmente Estados Unidos devido a sua alta qualidade (Ciorgânios,2023).

O Brasil se destaca pela maior produção do mundo em mel orgânico; cerca de 80% da produção é destinada para países do EUA, Alemanha, devido que as abelhas são mestiças mais resistentes a doenças e aos predadores, não necessitando de fármacos e antibióticos (Canalrural,2023).

Para que o apicultor receba o selo de orgânico, necessita de certificação de empresas certificadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo necessário de um organismo de avaliação da conformidade (OAC) orgânica realizados por empresas como Instituto Biodinâmico de Desenvolvimento Rural (IBD), Instituto Chão Vivo, ECOCERT do Brasil e Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR CERT) analisando as condições do apiário para conversão de convencional para orgânico a certificação passa por período de carência. A certificação orgânica é considerada de três tipos: 1. Certificação por Auditoria (AOC), 2. Sistema Participativo de Garantia e 3. Controle Social na Venda Direta, garantindo saúde e sem modificações genéticas e defensivos agrícolas, até que seja certificada.

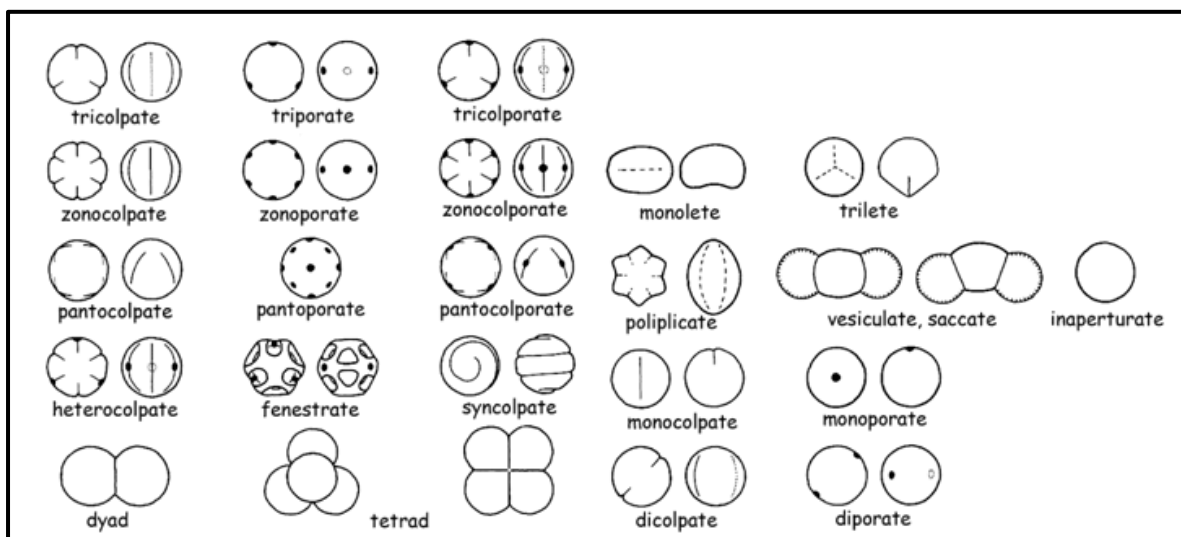


Figura 3. Morfologia polínica segundo as diferenças microscópicas, Fonte: Botany.unibe, Andrade

A necessidade de pólen para as abelhas se deve pelo fato de ser uma única fonte de vitaminas, aminoácidos, lipídios, proteínas, da colmeia em uma grande variedade de plantas, mesmo que espécie de abelhas sejam seletiva usando uma única espécie de planta, representa uma fonte insubstituível de carboidrato e outros componentes, uma série de reações bioquímicas com consequência da fermentação láctica fruto da ação microbiana fruto do forrageamento e sua secreção salivar rica em enzimas, junto com o aumento da acidez e quando se transforma em mel de abelha (Pintor, 2018).

No Brasil a Palinologia é amplamente difundida com destaque pesquisas no cerrado. (Oliveira, 2007). Um mel genuíno deve necessariamente conter grãos de pólen e vestígios de cera junto aos cristais de açúcar; nenhum grânulo de amido deve ser encontrado, estes produtos são particularmente susceptíveis à adulteração, mistura de mel ou imprecisão ou rotulagem fraudulenta de mel de menor valor, a melissopalínologia pode ser qualitativa, identificando espécies de pólen em mel ou quantitativo pela quantificação absoluta e números relativos de grãos de pólen (Naggar *et al.*, 2020).

Devido a ocupação de terras e uso de defensivos agrícolas a população de abelhas tem-se reduzido drasticamente colocando em risco o bioma onde as abelhas vivem (Barbosa, 2017).

O mel é adulterado diretamente ou indiretamente com xaropes de açúcar baratos, como alto teor de frutose, xarope de milho, xarope de açúcar invertido, cana-de-açúcar e xarope de açúcar mascavo (Fakhlaei *et al.*, 2020).

O açúcar é extraído principalmente da cana-de-açúcar ou do açúcar beterraba e é composto principalmente por sacarose (99,8%) e 0,2% de polissacarídeos, compostos não açucarados orgânicos e inorgânicos e polímeros corantes. O mel é vulnerável à adulteração com mel de baixa qualidade e xaropes de açúcar, o que compromete seu valor nutricional e valor

medicinal, exigindo ferramentas analíticas rápidas e confiáveis para avaliação da qualidade. Uma adulteração indireta é atribuída à alimentação manual das abelhas com açúcar artificial no estágio durante o período de escassez. Esse tipo adulteração pode ser não intencional, como quando causada por erros cometidos pelos apicultores, o uso indevido de sua tecnologia, principalmente quando há a necessidade de alimentar as abelhas colônias antes do inverno ou antes das estações do ano (Ali, 2022).

A alimentação com sacarose e xarope de sacarose invertida tem demonstrado afetar o conteúdo de água e HMF, atividade diastásica, acidez livre e valor de pH de méis (Ozcan *et al.*, 2006). Adulteração, ou alimentar as abelhas com tais soluções ou mesmo sacarose cristalina, tornou-se recentemente um problema sério. Tal adulteração indireta é extremamente difícil de detectar (Damto, 2021).

2 Material e Métodos

2.1 Material

Foram utilizadas amostras de mel orgânico comerciais em comercio eletrônico (e-commerce). Sete amostras de regiões A (Paraná); B (São Paulo); C (Santa Catarina); D (Minas Gerais); E (São Paulo); F (Piauí); G (Paraíba) com quatro repetições cada sendo conduzidas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias UFPB-CCHSA, Campus III Bananeiras- Paraíba. Realizando as avaliações, análise polínica e autenticidade.

2.2 Método

Princípio

Diluição da amostra e separação do sedimento examinando em microscópico ótico, quantitativo e qualitativo.

Preparação e montagem de pólen de mel

Pesou-se 10g de mel em um Becker de 100 mL, 20 ml de água acidificada ácido sulfúrico (H_2SO_4) e homogeneizar em agitador magnético sem aplicar calor. A solução obtida é dividida em dois tubos graduados de centrífuga de 10 mL, e centrifugando por 6 min. a 2500 rpm (para evitar quebrar os grãos de pólen). O líquido sobrenadante é decantado, o sedimento é dissolvido em 10 mL de água destilada e centrifuga-se novamente por 6 min. a 2500 rpm. O

sobrenadante é removido com uma pipeta tipo Pasteur até sedimento de 0,5 ml. Agita-se um pouco o tubo para homogeneizar o sedimento polínico, tirar 20µl de ambos os tubos com uma micropipeta e depositar em umas lâminas limpas e desengorduradas numa área aproximada de 2x2 cm. Adicionar uma gota da solução básica de fucsina com uma pipeta tipo Pasteur e cobrir com uma lamínula. Prepare o microscópio ótico. No exame quantitativo a suspensão contendo o pólen foi adicionado a cada compartimento de uma câmara de Neubauer e a contagem do pólen purificado foi realizada em cinco quadrantes. A proporção de cada espécie de pólen que aparece, para se calcular a quantidade de pólen por grama de mel, utilizando a equação (Aguilar *et.al.*, 2022)

$$X = A \times 50.000 / 10$$

Onde:

X = número de grãos de pólen em cada grama de mel;

A = a média aritmética dos grãos de pólen nos dois compartimentos da câmara de Neubauer;

50.000 = a constante para calcular o volume da amostra. As unidades finais são o pólen.

Tabela 4. Classificação dos Cincos Grupos Proposto por Maurizio

Grupos	Número de pólen por 10g de mel	Origem do mel
I	< 20.000	Méis florais pobres em pólen
II	20.000 - 100.000	Méis florais e misturas com melato
III	100.000 - 500.000	Méis florais ricos em pólen
IV	500.000 - 1.000.000	Méis florais muito ricos em pólen e alguns pressionados
V	> 1.000.000	Mel prensado rico em pólen

Espectroscopia UV para mel original e para investigar a autenticidade das marcas.

Investigou-se a proporção de fraude no mel medindo a porcentagem proporção de solução de açúcar no mel. O mel puro foi utilizado para normalização da curva, misturas em diferentes proporções, diluindo em água destilada o volume de cada mistura foi de 10 mL, fez-se a leitura em espectrofotômetro UV a um comprimento de 260nm (Lateef, 2021).

Tabela 5. Percentagem de mel natural e solução de açúcar que foram realizadas para obter a curva.

Percentagem (%)	Significando
0	Zero de mel + 100% de solução de açúcar
20	20 % de mel + 80% de solução de açúcar
40	40% de mel + 60% de solução de açúcar
60	60% de mel + 40% de solução de açúcar
80	80% de mel + 20% de solução de açúcar
100	100% de mel + zero de solução de açúcar

3 Resultados e Discussão

Tabela 6. Valores médios da análise polínica quantitativa de mel orgânico comercial.

Marca	Número de pólen	Grupo	Origem do mel
A	215.000 ^{ab}	III	Mel floral rico em pólen
B	215.900 ^{ab}	III	Mel floral rico em pólen
C	172.500 ^{abc}	III	Mel floral rico em pólen
D	261.000 ^a	III	Mel floral rico em pólen
E	103.000 ^{cd}	III	Mel floral rico em pólen
F	51.200 ^d	II	Mel floral e mistura com melada
G	120.500 ^{bcd}	III	Mel floral rico em pólen

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O número de pólen analisado mostra que as concentrações de grãos de pólen variaram de 51.200 a 261.000. Das sete amostras apresentada seis pertencem ao grupo III, mel floral rico em pólen e uma amostra pertencem ao grupo II, mel floral com mistura de melado de acordo com a classificação de Maurizio.

De acordo com (Layek, 2020) o mel analisado tinha um baixo teor de pólen, de classe I, os méis extraídos e exprimidos mostraram superior ao número de pólen analisados os grupos II e III, devido a sazonalidade os de tipos de pólen pela disponibilidade de plantas, os métodos de amostragem podem diferenciar o pólen na composição do mel.

A complexidade dos fenômenos ecológicos e ambientais envolvidos no forrageamento das abelhas numa forma heterogenia e complexa de paisagem não reproduzam espectros confiáveis de pólen, em regiões tropicais as abelhas consideram-se como vetores predominantes (Ponnuchamy, 2014).

Paredes (2020), identificou 40 tipos de pólen de 28 famílias de plantas estava no grupo V rico em pólen e cinco amostras estava no grupo II, sete amostras está no grupo. Este considerou que os méis amazônicos polinizados por insetos houve uma frequência de grãos de pólen secundários e dominantes.

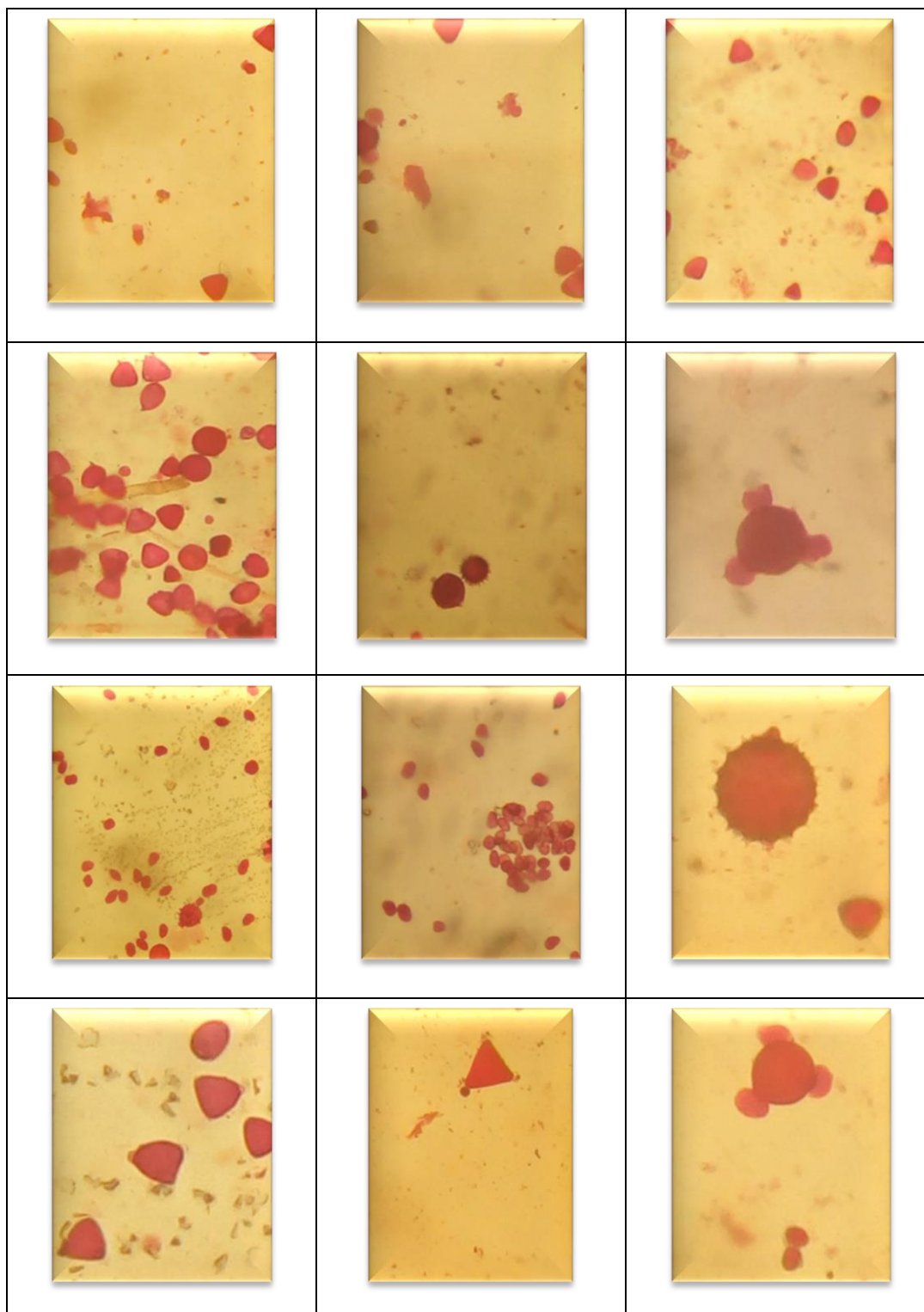


Figura 1. Imagens da microscopia de grãos de pólen estudados no trabalho.

A análise polínica realizada nas amostras mostrou-se uma rica diversidade polínica de plantas.

Segundo Silva (2018), o pólen é importante para a nutrição das abelhas fornecendo energia para sua existência, registrou-se que as abelhas no Sri Lanka são politécnicas, não se

restringe a um único tipo de pólen, por isso que contém diferentes tipos de pólen, demonstrou que apresentou 4 tipos de pólen as amostras de mel estudadas foram classificadas multifloral por não conter um único tipo de pólen dominante.

A análise polínica é um método indispensável para caracterizar e autenticar a origem e características do mel.

Tabela 7. Valores médios do teste de autenticidade dos mis orgânicos comerciais avaliados.

Resultados	Marcas						
	A	B	C	D	E	F	G
Autenticidade (%)	96,6 ^d	98,6 ^{bc}	100,0 ^{ab}	97,2 ^{cd}	99,8 ^{ab}	100,0 ^a	83,0 ^e

Médias seguidas das mesmas letras são estatisticamente iguais entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise de autenticidade do mel permite classificar como verdadeiro ou falso, através de um conjunto separando de adulterado e não adulterado, capaz de fornecer informações importantes sobre a qualidade do mel.

Para Damto (2021) o mel, sendo um produto de valor alto e oferta limitada é uma tendência a adulteração, afeta a qualidade do mel. A adulteração do mel pode de forma direta ou indireta, na direta é adição de substâncias externas como adição de açúcar na forma indireta é alimentação manual com açúcar artificial devido à escassez de pasto apícola, podendo afetar a qualidade do mel em termos como o pH, água, HMF.

De acordo com o conjunto de dados avaliados sobre a autenticidade do mel orgânico comercial das marcas analisadas, classificou-se como mel puro sem alteração de adulteração de forma direta ou indiretamente, sem afetar a qualidade do produto.

A técnica de espectrofotometria de NIR (*Near Infrared Spectroscopy*) para detectar adulterações no mel é, que pode prever a presença de açúcar e sendo usada para monitoramento e garantir o controle de qualidade do mel (Kumaravelu, 2015).

Uma preocupação mundial é a falta de ação e políticas, sobre a adulteração do mel, um produto medicinal e nutritivo, prejudicando as suas propriedades físico-químicas de qualidade proporcionando a deteriorações.

4 Conclusão

A investigação da análise de pólen do mel demonstrou informações de qualidade do mel e o forrageamento das abelhas, promovendo uma avaliação de qualidade comercial, beneficiando produtores e o consumidor direto. No conjunto de dados, o mel orgânico comercial classifica-se como puro, sem adulteração de substâncias diretas.

O teste de autenticidade analisada das sete marcas de mel orgânico comercial não evidenciou presença de adulteração nos aspectos direto ou indiretamente, fornecendo atributos de qualidade, proporcionando legitimidade ao produto final.

Referências

Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 10520: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro: ABNT, 2023.

Attia El-Sofany, Yahya Al Nagggar, Elsaied Naiem, John P. Giesy & Amal Seif (2020). Authentication of the botanical and geographic origin of Egyptian honey using pollen analysis methods, Journal of Apicultural Research.

Abbas Abed Lateef and Ayad Khalaf Alhashimy (2021). UV-Spectroscopy for Original Honey and Comparing with Some Types of Honey in Iraqi Market to Investigate the Cheat in Them

Andrade, A (1990) Atlas palinológico del entorno de Alcalá de Henares. Tese de Bacharelado, Universidade de Alcalá.

Bonhomme, Ponnuchamy R. *et al.* (2014). Honey Pollen: Using Melissopalynology to Understand Foraging Preferences of Bees in Tropical South India.

Chellakutty Kumaravelu & Aravamudhan Gopal (2015). Detection and Quantification of Adulteration in Honey through Near Infrared Spectroscopy, International Journal of Food Properties, 18:9, 1930-1935.

Carvalho, Raysa Sales Teixeira Borges de (2017) A polinização por *Apis mellifera* e a qualidade de frutos em *Solanum lycopersicum* (*Solanaceae*), Uberlândia, p.42.

Deise Barbosa, Eliane Fátima Crupinski, Rosângela Nunes Silveira, Daniela Cristina Hass Limbe, As abelhas e seu serviço Ecossistêmico de polinização.

Damto T (2021). A review on status of honey adulteration and their detection techniques in Ethiopia. J Nutr Food Sci. 11: p180

Fábio Antônio de Oliveira (2007). Análise Palinológica de Sedimentos Neógenos da região Madre de dios, Amazônia peruana: abordagem bioestratigráfica e paleoecológica, Goiânia – Goiás, Brasil, p. 140

Guimarães, Bárbara Matos da Cunha (2018). Polinização Por Abelhas em Cultivo Convencional e Agroflorestal Bárbara Matos da Cunha Guimarães, Polinização por Abelhas Em Cultivo, p.58

Hina Ali¹ · Khalid Rafique, Rahat Ullah, · M. Saleem, Iftikhar Ahmad (2022) .Classification of Sidr honey and detection of sugar adulteration using right angle fluorescence spectroscopy and chemometrics.

Aguilar José Luis Villalpando, *et. al.* (2022). Pollen Types Reveal Floral Diversity in Natural Honeys from Campeche, Mexico Diversity, 14, 740

Layek, Ujjwal, *et. al.* (2020). Honey sample collection methods influence pollen composition in determining true nectar-foraging bee plants.

Louveaux, J., Maurízio, A. and Vorwhol, G. (1978). Methods of Melissopalynology. International Commission for Bee Botany of IUBS, pp. 139-157.

Mai, M. Hassanien; M.E. M. El- Sherif; A.A.A. Salem and M.A.M. Ali, (2018) Quantitative pollen analysis of bee honey at certain apiaries in qalyubia governorate and available honey , J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 26(1), p.303-311.

_____Mel orgânico, disponível em www.canalrural.com.br/brasil/brasil-deve-alcancar-superproducao-de-mel-em-2022.

_____Pólen disponível www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/polen

Paredes, Rossana, and Bryant, Vaughn M. (2020) .Pollen Analysis of Honey Samples from the Peruvian Amazon, *Palynology*, 44(2), p. 344-354

Pintor, Santiago Escribano y Jorge O. (2018). Cáceres Pólen, Elemento Clave de la Miel Vida Apícola 12, 6 pp. 12-23.

Pólen disponível em www.portalsaofrancisco.com.br, acesso em 2023.

Ribeiro, Matheus de Souza Lima & Barberi Maira (2005) Análise Palinológica Fundamentos e Perspectivas na pesquisa arqueológica, *Goiana*, v.3, p.261 a 290.

Rafieh Fakhlaei *et al.*, (2020) The Toxic Impact of Honey Adulteration: A Review, *Foods* 9, 1538; doi: 10.3390/foods9111538

Spiderman JMK, Matley KA, Haberle SG, Cantrill DJ (2018). Pollen analysis of Australian Honey.

Silva H.G.Y. *et. al.* (2018) Pollen Analysis of Natural Bee Honeys from Different Regions of Sri Lanka *Journal of Food and Agriculture*, 11(1): 23 – 36.

_____Types of apertures in microspores disponível em www.botany.unibe.ch/paleo/pollen_e/apertures.