

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA
DE AMOSTRAS DE MEL OBTIDAS NAS FEIRAS LIVRES NA CIDADE DE
LENÇÓIS PAULISTA/SP**

*PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL EVALUATION
OF HONEY SAMPLES OBTAINED FROM FARMER'S MARKETS IN THE CITY OF
LENÇÓIS PAULISTA/SP*

Recebido em: 14/10/2022

Aceito em: 16/11/2022

DOI: 10.47296/salusvita.v41i02.386

CAMILA MÉDOLA CONQUISTA¹
DANILO ANTONINI ALVES²

¹ *Discente de Bacharelado em Biomedicina. Centro Universitário Sagrado Coração,
Bauru, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-5659-5352>.*

² *Docente do curso de Farmácia. Centro Universitário Sagrado Coração, Bauru, São
Paulo, Brasil.*

Autor correspondente:
CAMILA MÉDOLA CONQUISTA
E-mail: camila.medola@hotmail.com
Estudo Original

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE AMOSTRAS DE MEL OBTIDAS NAS FEIRAS LIVRES NA CIDADE DE LENÇÓIS PAULISTA/SP

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL EVALUATION OF HONEY SAMPLES OBTAINED FROM FARMER'S MARKET IN THE CITY OF LENÇÓIS PAULISTA/SP

RESUMO

O mel é o produto alimentício supersaturado produzido pelas abelhas, mais comumente pelo gênero *Apis*, composto basicamente de glicose e frutose. A substância, antes de se transformar propriamente em mel comercial, passa por diversas ações enzimáticas para maturação e conservação, que começa logo na captação de néctar pelas abelhas, chegando até aos favos da colmeia. O mel é conhecido não só por sua qualidade adoçante e calórica, mas também por suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, cicatrizantes, probióticas e como protetor de doenças gastrointestinais. Portanto, este trabalho buscou colocar, em análises físico-químicas e atividades antimicrobianas, as amostras de mel obtidas nas feiras livres na cidade de Lençóis Paulista/SP. Cinco amostras foram analisadas pela técnica de disco difusão em *Mueller Hinton*, com três bactérias de escolha (*S. aureus*, *P.aeruginosa* e *E.coli*). Diante disso, não foram observadas, nas cinco amostras analisadas, características antibacterianas suficientes para as bactérias utilizadas no trabalho, porém, se fazem necessários maiores estudos para comprovação. Ademais, os parâmetros físico-químicos estudados indicam que todas as amostras são seguras para consumo, estando de acordo com o regulamento do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).

Palavras-chave: Mel; Antibacteriana; Análise; Composição.

ABSTRACT

Honey is a supersaturated food produced by bees, most commonly by the genus Apis, composed of glucose and fructose. Before transformed into commercial honey, the substance undergoes several enzymatic actions for its maturation and conservation, starting right from the capture of nectar by the bees, and reaching the combs in the hive. Honey is known for its sweetening and caloric properties; antibacterial, antifungal, and healing properties; protection against gastrointestinal diseases, and probiotics. Therefore, this study seeks to analyze the physicochemical and antimicrobial properties of samples obtained from farmer's markets at Lençóis Paulista/SP. Five samples were analyzed by disc diffusion method in Mueller Hinton, with three bacteria of choice (S. aureus, P.aeruginosa, and E.coli). The antimicrobial tests showed that antimicrobial responses are incipient; however, further studies are necessary to prove it. Physicochemical analysis results indicate all the samples are safe for consumption, according to what is regulated by the Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply.

Keywords: Honey; Antibacterial; Analysis; Composition.

INTRODUÇÃO

O mel foi um dos primeiros alimentos do homem e praticamente todas as civilizações antigas o utilizaram como alimento e/ou recurso medicinal (SILVA *et al.*, 2006). No Egito antigo, o mel era conhecido por ser o medicamento mais popular, participando de diversos remédios (COUTO; COUTO, 2002 *apud* MENDES *et al.*, 2009). Na Grécia antiga, o mel foi utilizado tanto como alimento quanto como medicamento, existindo relatos de sua utilização datados de cerca de 1500 a.C., que destacavam a participação do item em prescrições de uso externo e interno (BORSATO, 2008 *apud* GOIS *et al.*, 2013).

A priori, o mel pode ser descrito como o produto alimentício supersaturado produzido por abelhas. Uma vez coletado o néctar nas flores, a substância é armazenada em uma estrutura no corpo dos insetos e entra em contato com a combinação de duas enzimas: a invertase e a glicose oxidase (SILVA *et al.*, 2006).

Segundo Assad e Villari (2016), o mel é uma solução de açúcares que, para chegar a sua composição final, necessita passar por todo o processo de transformação química ainda como néctar no corpo das abelhas. Desse modo, a enzima invertase, presente no papo desses insetos, converte a sacarose do néctar em açúcares mais simples (monossacarídeos) como a glicose e a frutose. A enzima glicose oxidase, por sua vez, transforma uma quantidade de glicose em ácido glicônico, tornando o mel mais ácido para protegê-lo de bactérias. Com o retorno à colônia, a abelha deposita essa substância em favos para armazenamento e maturação. Por fim, o mel ainda necessita passar por um processo de desidratação, ocasionado por meio da agitação das asas dos insetos sobre os favos, para sua conservação.

No Brasil, podem ser encontradas as seguintes espécies de abelhas: *Tetragona clavipes* (Borá), *Tetragonisca angustula* (Jataí), *Melipona subitida* (Jandaíra), *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia) e *Plebéia sp.* (Mirins). Contudo, o mel é produzido principalmente pelos insetos pertencentes ao gênero *Apis* (BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007). Dessa forma, as abelhas africanas, trazidas ao Brasil, são da espécie *Apis mellifera*, sendo subdivididas em: *Apis florea*; *Apis andreniformes*; *Apis dorsata*; *Apis cerana*; *Apis mellifera*; *Apis laboriosa* e *Apis koschevnikov* (ESCOBAR; XAVIER, 2013). Segundo Silva, *et al.* (2006), o mel é obtido de duas formas distintas:

- I. A partir do néctar das flores (mel floral);
- II. Por meio de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores dessas partes (mel de melato).

Ainda segundo os autores, o produto final do mel de melato e mel floral difere nas suas propriedades físico-químicas. Segundo Venturini, Sarcinelli e Silva (2007), as características do mel floral podem ser alteradas de acordo com algumas características externas, como o tipo da flor, clima, solo e umidade. Sendo assim, o sabor e o aroma do composto

estão diretamente ligados à cor. Ou seja, quanto mais minerais, mais escuro será, tendo também sabor e aroma mais fortes. Em contrapartida, quanto menos mineral, mais leve e clara a substância será. O sabor ácido é derivado dos ácidos presentes no mel, como o glucônico, citrino, málico, fórmico, acético, butírico e outros (SILVA, 2005 *apud* ESCOBAR; XAVIER, 2013).

Portanto, suas variedades podem ser identificadas de acordo com sabor, cor, maneira de cristalização, esporos, condutividade específica e componente do sabor específico da variedade. Sendo assim, além de ser um alimento, o mel é também utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas, pelas suas conhecidas ações terapêuticas (SILVA *et al.*, 2006).

COMPOSIÇÃO DO MEL E PROPRIEDADES FÍSICAS

O mel é considerado um importante composto não somente por suas propriedades terapêuticas, mas também para utilização como suplemento alimentar. Visto que, ao ser analisado estruturalmente, foi encontrada uma enorme riqueza nutritiva nessa substância, incluindo micronutrientes como minerais e vitaminas que são essenciais à vida (AZEREDO, ; AZEREDO; DUTRA, 2003 *apud* ABADIO FINCO; MOURA; SILVA , 2008).

Sendo assim, tanto a entrada do mel nas células humanas como no processo da metabolização celular não requer muitas transformações físicas. Ou seja, há uma absorção rápida por a substância ser constituída basicamente de açúcares simples. Suas propriedades são importantes não só na ação enzimática, mas também nas vitaminas e elementos essenciais para o funcionamento do organismo humano como os oligoelementos, e minerais como selênio, manganês, zinco, cromo e alumínio (SILVA *et al.*, 2006).

Ademais, o mel, por ser produzido a partir do néctar das plantas, possui diferentes propriedades físicas e químicas, dada sua produção ser dependente da disponibilidade e qualidade das flores alvo das abelhas. Desse modo, o produto resultante terá características distintas, levando em conta o tipo da flor que o néctar foi retirado e sua localização geográfica. Por isso, há a importância do estabelecimento de padrões e a caracterização regional, considerando a diversidade botânica de cada localidade (ALVES, 2008; PEREIRA *et al.*, 2003 *apud* GOIS *et al.*, 2013).

Não obstante, o mel é constituído basicamente de açúcares como a D-frutose e D-glicose, além de ácidos orgânicos, enzimas e partículas sólidas coletadas pelas abelhas, conforme a tabela 1 expõe.

Tabela 1. Média da composição do mel de abelha.

Valor calórico e composição centesimal		Minerais		Vitaminas	
Calorias (kcal/100g)	304	Cálcio (mg/100g)	6	Vit. C (mg/100g)	0,5
Umidade (g/100g)	17,10	Fósforo (mg/100g)	4	Riboflavina (mg/100g)	0,03
Carboidratos totais (g/100g)	82,40	Sódio (mg/100g)	4	Niacina (mg/100g)	0,12
Frutose (g/100g)	38,50	Potássio (mg/100g)	52	Ac. Pantotênico (mg/100g)	0,06
Glicose (g/100g)	31,00	Ferro (mg/100g)	0,42	Vit. B-6 (mg/100g)	0,02
Maltose (g/100g)	7,20	Zinco (mg/100g)	0,22	Folato total (mg/100g)	2
Sacarose (g/100g)	1,50	Magnésio (mg/100g)	2		
Outros carboidratos	4,00	Selênio (mcg/100g)	0,8		

Fonte: Adaptado do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

Dessa forma, existem alguns testes de propriedades físicas e químicas para compreensão da qualidade que podem ser aplicados para o mel. Eles são: avaliação de pH, acidez titulável, índice de formol, prova de lund, açúcares redutores, umidade e peso específico, cinzas, hidroximetilfurfural (hmf), condutividade elétrica e análise estatística (ABADIO FINCO; MOURA; SILVA, 2010).

Segundo Silva *et al.*, (2006, p. 2)

[...] a legislação brasileira define os padrões para o mel de abelhas melíferas, estabelecendo os requisitos mínimos de qualidade que o mel destinado ao consumo humano deve possuir: açúcares redutores (calculados como açúcar invertido), mínimo de 65g.100g⁻¹, para o mel floral, e mínimo de 60g.100g⁻¹, para o melato ou mel de melato e sua mistura com mel floral; umidade máxima de 20 g.100g⁻¹; sacarose aparente para o mel floral máxima de 6 g.100g⁻¹ e para o melato ou mel de melato e sua mistura com mel floral máximo 15 g.100g⁻¹; sólidos insolúveis em água máximo de 0,1 g.100g⁻¹ , exceto no mel prensado, que se tolera até 0,5 g.100g⁻¹ , unicamente em produtos acondicionados para sua venda direta ao público; minerais (cinzas) máximo de 0,6 g.100g⁻¹ para o mel floral e máximo de 1,2g.100g⁻¹ no melato ou mel de melato e suas misturas com mel floral. Além disso, o mel deve necessariamente apresentar grãos de pólen. Em relação à deterioração, o mel não deve ter indícios de fermentação, apresentar acidez máxima de 50 mil equivalentes por quilograma, atividade diastásica: como mínimo, 8 na escala de Göthe e teor de hidroximetilfurfural máximo de 60 mg.kg⁻¹.

Os açúcares redutores, como monossacarídeos e os dissacarídeos, podem causar alterações, dependendo de seus teores, na viscosidade, densidade e cristalização do mel (CAMPOS, 1987 *apud* MENDES *et al.*, 2014). A umidade no mel, por sua vez, constitui-se como um dos componentes de qualidade, podendo influenciar em sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (SEEMANN; NEIRA, 1988 *apud* MARCHINI *et al.*, 2004 *apud* MENDES *et al.*, 2014).

O hidroximetilfurfural (HMF) é considerado um indicador de qualidade do mel, portanto, quanto menor for a quantidade dessa substância no mel, menor será o valor nutritivo pela distribuição de algumas vitaminas e enzimas. Ademais, as cinzas constituem um método de avaliação de irregularidades como a falta de higiene, e filtração (EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005 *apud* MENDES *et al.*, 2014).

Para a pesquisa de adulterantes, a prova de Lund se faz muito eficiente para indicar a presença de substâncias albuminoides, componentes normais e que são precipitados adicionados na amostra (BERTOLDI *et al.*, 2004, *apud* MENDES *et al.*, 2009). Segundo Abadio Finco, Moura e Silva (2010), a acidez do mel, proveniente da variação dos ácidos orgânicos, causada pelas diferentes fontes de néctar, por ações de enzimas e bactérias durante a sua maturação, pode contribuir para a estabilidade frente ao desenvolvimento de bactérias.

MEL FRENTE ÀS BACTÉRIAS

O mel apresenta baixa concentração de microbiota, porém não é estéril e está suscetível à contaminação em decorrência de manipulação errada (GOMES *et al.*, 2005; ALHIND, 2005 *apud* MENDES *et al.*, 2014). Sendo assim, em sua microbiota, encontram-se dois grupos: os inerentes ao mel, em que bolores e leveduras, se em condições normais, não são patogênicos, e os de contaminação secundária, diretamente relacionada à extração e ao beneficiamento (MURATORI; SOUZA, 2002 *apud* MENDES *et al.*, 2014).

Adicionalmente, em meio às bactérias, têm se dado importância ao *Clostridium botulinum*, causador do botulismo infantil, doença de origem alimentar, que afeta quase exclusivamente crianças com menos de um ano de idade (SOLOMON; LILLY, 2001; ARNON *et al.*, 1981 *apud* MENDES *et al.*, 2014). Além disso, o mel é o único registro de alimento veiculador do agente que causa botulismo infantil (REGAZANI *et al.*, 2008 *apud* MENDES *et al.*, 2014).

Por outro lado, o mel de abelha destaca-se com efeito inibidor contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* e *Bacillus*, demonstrando também potencial para características antimicrobianas (CUMMINGS *et al.*, 1989; SHAMALA *et al.*, 2000; ADELEYE; OPIAH, 2003).

Além disso, o mel possui a característica benéfica de facilitar a cicatrização, auxiliar em queimaduras e possuir barreira viscosa, assim, impedindo a entrada de substâncias e a perda de fluido para o meio externo (ALVES *et al.*, 2008 *apud* ESCOBAR; XAVIER, 2013). Ademais, também apresenta propriedades curativas, calmantes, estimulantes e regenerativas de tecidos (SILVA *et al.*, 2006).

Desse modo, este trabalho tem por objetivo principal testar diferentes amostras de mel floral das abelhas da espécie *Apis mellifera*, produzidos por produtores locais na cidade de Lençóis Paulista/SP, considerando características físico-químicas e a reação frente a bactérias patogênicas, uma vez que o Mel é amplamente utilizado pela população por décadas para diversas finalidades medicinais.

METODOLOGIA

1.1. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE MEL

Foram obtidas cinco amostras diferentes de mel artesanalmente produzidas por apicultores locais e comercializados em feiras livres na cidade de Lençóis Paulista/SP.

As três primeiras amostras de mel artesanal, produzido a partir de eucalipto, não traziam em suas embalagens informações como: lote, validade e registro no Ministério da Agricultura. As demais amostras foram adquiridas em comércios locais. A quarta apresentava, em sua embalagem, a validade do produto estipulada para 25/05/23, como também o lote (H00635). Assim como a quinta, que apresentava a validade de 16/03/23 e lote (146/2021).

1.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

1.2.1. pH

O pH é definido como a concentração de íons de hidrogênio presentes em uma solução, sendo também, um parâmetro associado ao desenvolvimento microbiano em qualquer alimento analisado (GOIS *et al.*, 2013).

2.2.1.1 Processo de execução da análise

Foram pesadas 10g da amostra do mel em um béquer e diluído 100 mL de água destilada. O conteúdo foi agitado com o auxílio de uma colher até toda a mistura ter ficado uniforme. Por fim, o pH foi determinado pelo aparelho pHmetro KASVI, número de série SS06750212, previamente calibrado, de acordo com o manual presente no laboratório.

1.2.2. Acidez livre

A acidez livre é a determinação da concentração da solução ácida, pela titulação com uma solução básica de concentração conhecida.

1.2.2.1. Processo de execução da análise

Foi calibrado o pHmetro KASVI, número de série SS06750212, de acordo com as informações do fabricante, pesado 10g da amostra e dissolvido com 75mL de água em um béquer de 250mL. Em sequência, o agitador magnético foi utilizado, com o eletrodo mergulhado na solução, anotando-se o pH. O hidróxido de sódio de valor 0,05 N foi titulado até atingir um pH de 8,5 e anotado o valor (V).

Ademais, foi adicionado a essa solução 10 mL de solução hidróxido de sódio 0,05 N e titulado com ácido clorídrico 0,05 N até pH 8,30 (Vb). Por fim, foi titulado 75mL de água com hidróxido de sódio 0,05 N (Vb) até pH 8,5

Por fim, foi utilizado o seguinte cálculo para a obtenção do resultado final:

Branco – 0,1ml

Fator de correção NaOH – 0,98ml

Cálculo – $(V-V_b) \times 50 \times f / p$ = acidez livre, em miliequivalentes por kg.

Em que:

V – número de ml da solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação;

V_b – número de ml da solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação do branco;

f – fator da solução de NaOH 0,05 N;

p – massa da amostra em gramas;

1.2.3. Teor de Cinzas

O teor de cinzas (%) foi determinado pelo método proposto por Pregnotato (1985), que se fundamenta na perda de massa ocorrida na incineração do produto por meio da calcinação em mufla a 550 °C, com destruição da matéria orgânica.

Processo de execução da análise

Uma vez o cadinho identificado, foi realizado o processo de tara dele na mufla por 30 minutos a 550°, e, em seguida, foi direcionado dessecador por 30 minutos para resfriar, sendo pesado e anotado o peso da vidraria tarada.

Em sequência, foi pesado 10g de mel no cadinho tarado anteriormente, em seguida, foi utilizado o sistema de tripé para o bico de Bunsen. O material analisado foi gradativamente carbonizado. Logo após, o material retirado do sistema de tripé foi levado à mufla por 3 horas, ao dessecador por 30 minutos, e na balança, o material foi pesado e anotado.

Por fim, foi utilizado o seguinte cálculo para a obtenção do resultado final:

Cálculo – % de cinzas: $\text{peso final} - \text{peso da vidraria} / \text{peso da amostra} \times 100$

1.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

1.3.1. Cultivo dos microrganismos e plaqueamento

Foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC). Essas cepas foram escolhidas por apresentarem estabilidade genética e por serem padronizadas para a monitoração de vários parâmetros principais no controle de qualidade do teste de disco-difusão. Sendo elas: *S. aureus* (ATCC 25923), *P. aeruginosa* (ATCC 10145) e *E. coli* ATCC 25922 mantidas pelo Laboratório de Biociências II da UNISAGRADO.

1.3.2. Cultivo e crescimento bacteriano

Para o crescimento bacteriano, foi utilizado o meio *Ágar Mueller-Hinton*. Após 18 a 24 horas de incubação, as placas foram examinadas para verificar o crescimento resultante e a presença de contaminantes (NCCLS, 2002).

1.3.3. Avaliação da atividade antibacteriana utilizando o método de disco-difusão em poço

Foi realizada a avaliação da capacidade de inibir o crescimento de bactérias pelo método de difusão por disco em *Mueller Hinton*, respectivamente, com incubação a 37°C e leitura do diâmetro após 24 e 48 horas de incubação.

A avaliação foi realizada pelo método de difusão em poço, que é aceito pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e estabelecido como padrão pelo NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*). Foram preparadas placas com o meio de cultivo *Mueller-Hinton*, autoclavadas anteriormente. Também foram transferidos 20 mL para placas de petri, com auxílio de pipeta de vidro graduada estéril, procedimento realizado na capela de fluxo laminar.

Com o auxílio de uma alça bacteriológica, foram colhidas algumas colônias bacterianas em recipientes separados para suspender em 20 mL de salina a fim de se obter uma turvação correspondente a 0,5 da escala de *McFarland*. Após a homogeneização do inóculo, foram transferidos para *Ágar Mueller-Hinton*. As placas foram deixadas em cima da bancada ao redor do Bico de Bunsen, por aproximadamente cinco minutos, para permitir que o excesso de umidade da superfície do ágar fosse absorvido. As diluições das amostras de mel foram feitas a partir da diluição de 0,17 mL de mel para 0,25 mL de soro fisiológico, utilizando o agitador vórtex. Os poços foram feitos na placa com material esterilizado, nos quais foi adicionada a diluição do mel com soro fisiológico autoclavado anteriormente. Foram levados para estufa a 37°C e posteriormente realizada a leitura do diâmetro após 24h e 48h. (NCCLS, 2002).

RESULTADOS

1.4. DETERMINAÇÃO DO PH

As cinco amostras de mel foram preparadas e submetidas, em triplicata, ao equipamento de medição de pH. Os resultados da média obtida podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2 – Tabela de resultados da medição de pH das amostras de mel.

Amostras de mel	Ph	Valor de referência do pH (MAPA)
Amostra 01	4,44	3,3 – 4,6
Amostra 02	4,18	3,3 – 4,6
Amostra 03	4,79	3,3 – 4,6
Amostra 04	4,07	3,3 – 4,6
Amostra 05	4,10	3,3 – 4,6

Fonte: Elaboração própria (2022).

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

1.5. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ LIVRE

As cinco amostras de mel foram preparadas e submetidas, em triplicata, ao sistema de determinação da acidez livre. Os resultados da média obtida podem ser observados na tabela 3.:

Tabela 03 - Tabela de resultados da medição da acidez livre das amostras de mel.

Amostras de mel	pH	Volume 01	Volume 02
Amostra 01	4,4	5,5 ml	7,2 ml
Amostra 02	4,1	7,4 ml	6,7 ml
Amostra 03	4,7	4,4 ml	6,5 ml
Amostra 04	4,0	8,3 ml	7,2 ml
Amostra 05	4,0	6,3 ml	6,3 ml

Fonte: Elaboração própria (2022).

Desse modo, de acordo com os cálculos, os valores da acidez livre de cada amostra de mel encontrado variaram entre 21,07 ml e 40,34 ml, conforme a tabela 4 exemplifica.

Tabela 04 – Tabela dos resultados da acidez livre das amostras de mel.

Amostras de mel	Acidez livre	Valor de referência da acidez livre (MAPA)
Amostra 01	26,78 ml	
Amostra 02	50 mil equivalente por kg	
Amostra 03	35,93 ml	
Amostra 04	50 mil equivalente por kg	
Amostra 05	21,07 ml	
	50 mil equivalente por kg	
	40,34 ml	
	50 mil equivalente por kg	
	30,54 ml	
	50 mil equivalente por kg	

Fonte: Elaboração própria (2022).

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

1.6.

1.7. DETERMINAÇÃO DAS CINZAS

As cinco amostras de mel foram preparadas e submetidas ao sistema de determinação de cinzas. Os resultados encontrados, tanto em peso quanto na porcentagem, conforme exemplifica a tabela 5, foram:

Tabela 05 - Tabela de resultados da determinação das cinzas nas amostras de mel, considerando peso e porcentagem.

Amostras de mel	Cinzas	% das cinzas	Valor de referência das cinzas (MAPA)
Amostra 01	32,0710		
Amostra 02		40,4712	
Amostra 03		39,0637	
Amostra 04		40,3534	
Amostra 05		40,3279	
	0,49%		0,6 g/100g
	0,39%		0,6 g/100g
	0,67%		0,6 g/100g
	0,38%		0,6 g/100g
	0,29%		0,6 g/100g

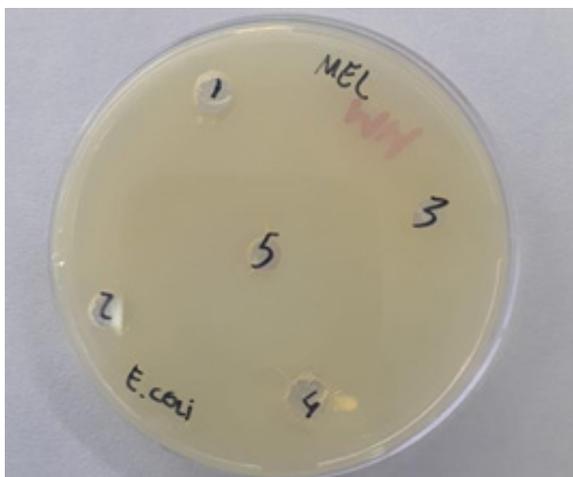
Fonte: Elaboração própria (2022).

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

1.8. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

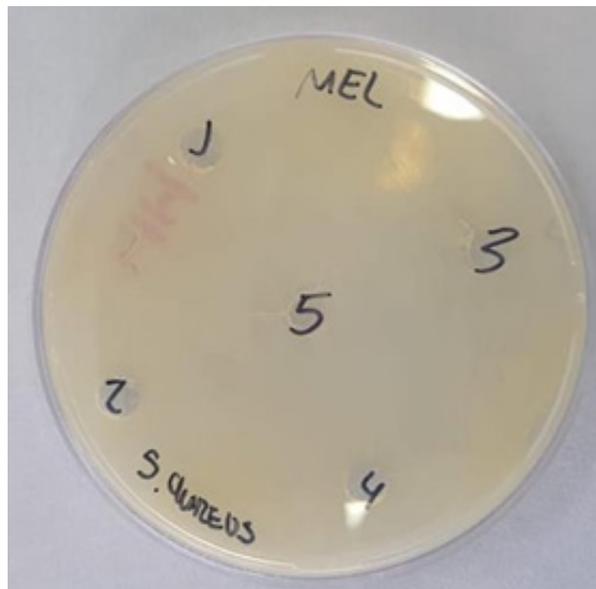
As análises realizadas a partir da diluição de 0,17 ml de mel para 0,25ml de soro fisiológico, frente às três bactérias estudadas (*S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*), foram realizadas em séries, totalizando dez testes. Os resultados podem ser observados nas imagens a seguir:

Figura 01 – placa de Petri inoculada com a bactéria *E. coli*, sem formação de halo de inibição nos poços de análise



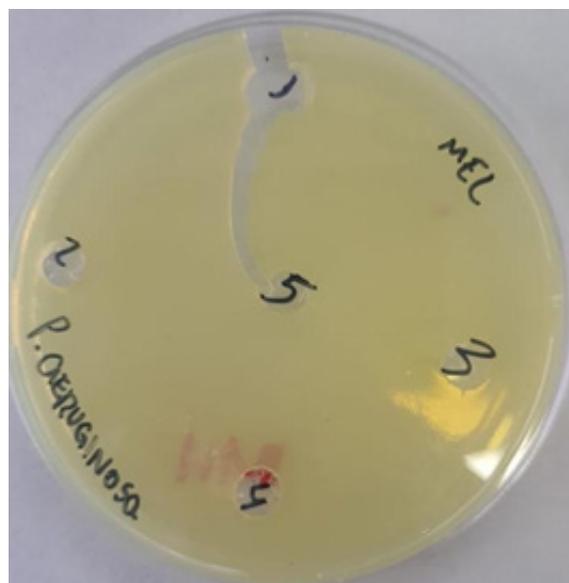
Fonte: Elaboração própria (2022).

Figura 02 – placa de Petri inoculada com a bactéria *S. aureus*, sem formação de halo de inibição nos poços de análise.



Fonte: Elaboração própria (2022).

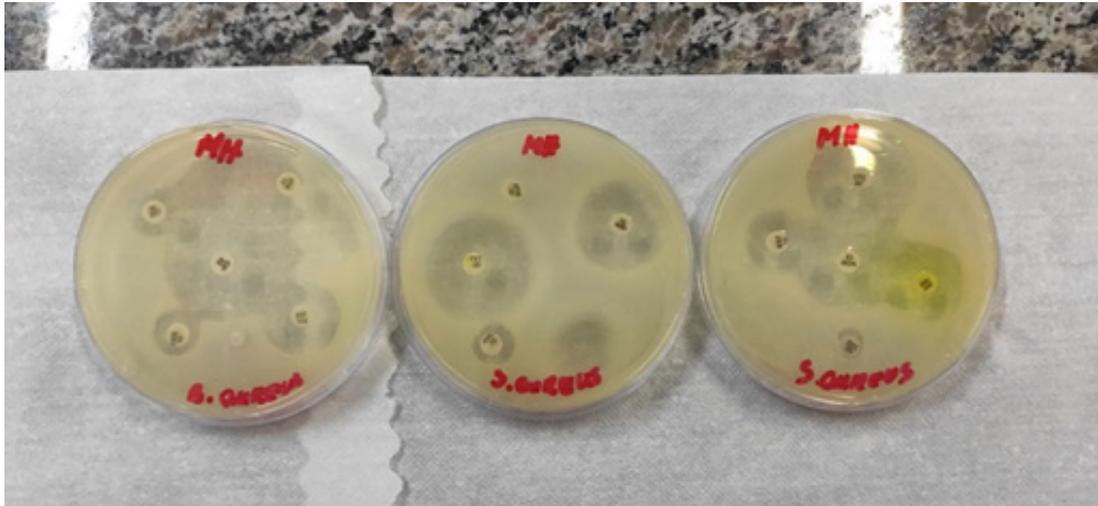
Figura 03 – placa de Petri inoculada com a bactéria *P. aeruginosa*, sem formação de halo de inibição nos poços analisados.



Fonte: Elaboração própria (2022).

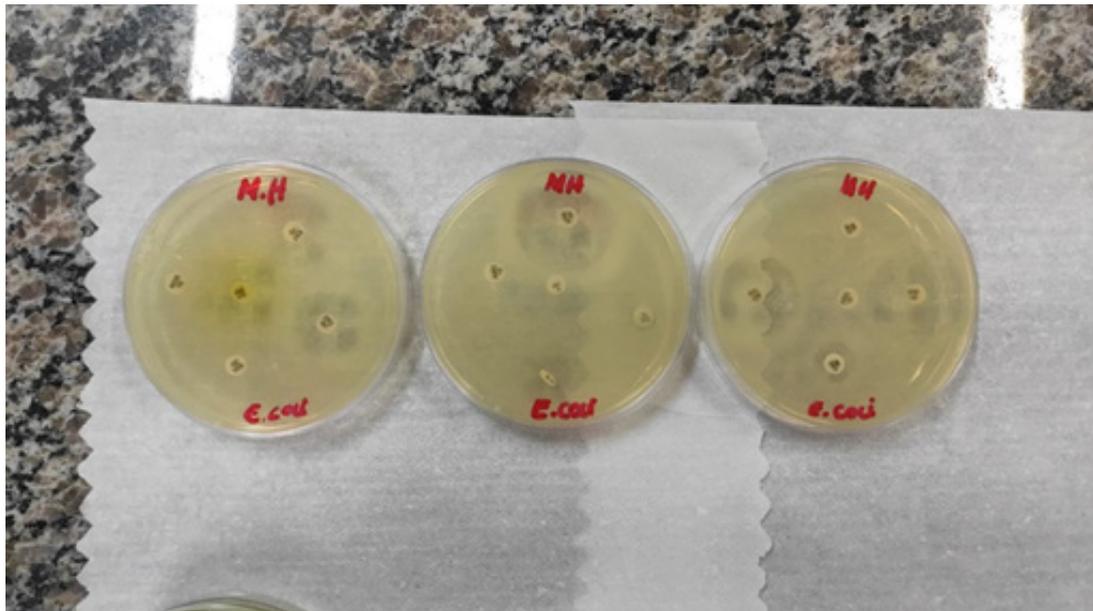
Para a validação dos resultados obtidos, foi realizado um controle positivo, com o método de antibiograma, utilizando 15 discos de antibióticos conhecidos, sendo eles: - Ciprofloxacina; Penicilina; Imipenem; Piperacilina/Tazobactam; Ceftazidima; Sulbactam; Cefazolina; Estreptomicina; Nitrofurantoina; Norfloxacin; Aztreonam; Gentamicina; Clindamicina; Amoxicilina; Tetraciclina. Os resultados do controle positivo podem ser observados nas imagens a seguir:

Figura 04 – placa de antibiograma inoculada com a bactéria *S. aureus*, com a formação de halo de inibição.



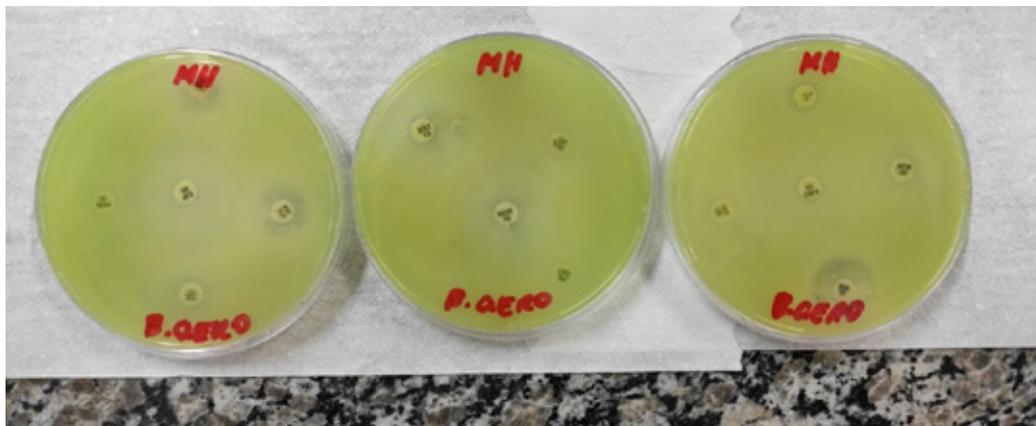
Fonte: Elaboração própria (2022).

Figura 05 – placa de antibiograma inoculada com a bactéria *E. coli*, com a formação de halo de inibição.



Fonte: Elaboração própria (2022).

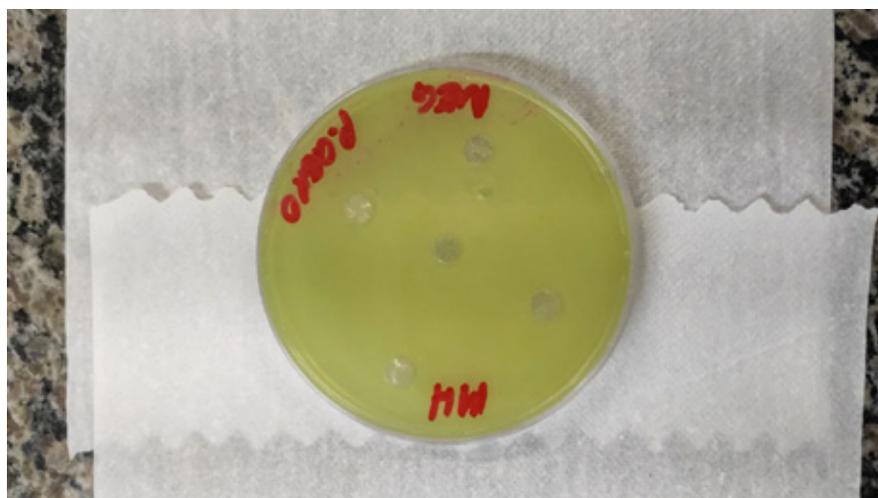
Figura 06 – placa de antibiograma inoculada com a bactéria *P. aeruginosa*, com a formação de halo de inibição.



Fonte: Elaboração própria (2022).

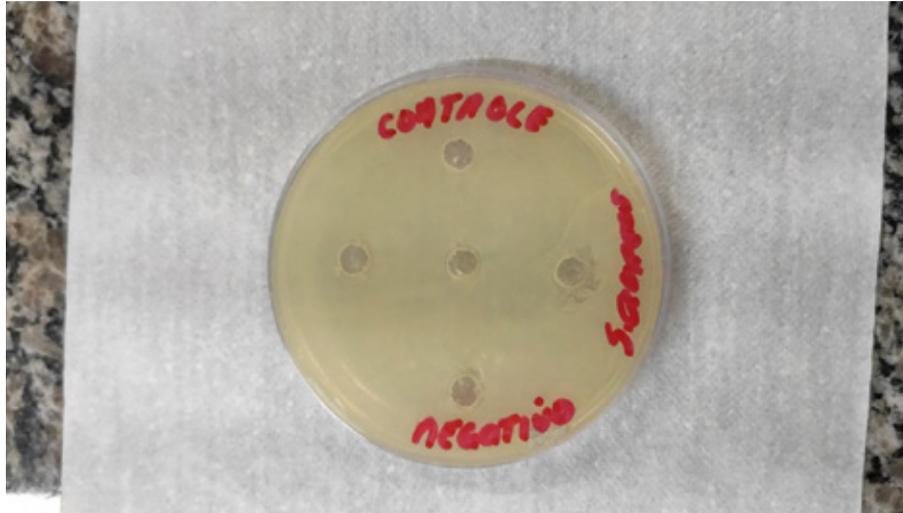
Por fim, foi realizado um controle negativo, adicionando apenas solução fisiológica nos poços feitos em três placas de meio de cultura, uma para cada bactéria analisada. Os resultados podem ser observados nas imagens a seguir:

Figura 07 – placa de Petri inoculada com a bactéria *P. aeruginosa*, sem a formação de halo de inibição.



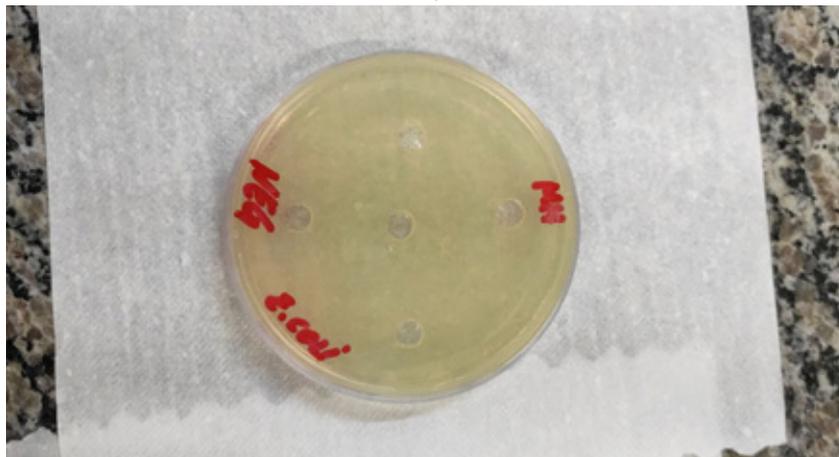
Fonte: Elaboração própria (2022).

Figura 08 – placa de Petri inoculada com a bactéria *S. aureus*, sem a formação de halo de inibição.



Fonte: Elaboração própria (2022).

Figura 08 – placa de Petri inoculada com a bactéria *E. coli*, sem a formação de halo de inibição.



Fonte: Elaboração própria (2022).

Ao longo dos diferentes testes, percebeu-se um conjunto de resultados distintos. As situações encontradas foram que, num total de dois casos, houve a leve formação do halo de inibição, porém não sendo significativo. Sendo assim, foi observado que não houve crescimento de halo de inibição, o que possibilitou a caracterização dessa proporção do mel analisando como insuficiente para funcionar como antimicrobiano nas bactérias estudadas.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1985), o pH ideal para o mel de abelha deverá ter o valor médio de 3,3 a 4,6. Já a acidez máxima, de 50 mil equivalentes por quilograma, e o máximo de minerais (cinzas) permitido na substância é de 0,6 g/100 g.

Neste trabalho, os resultados obtidos do pH, por meio da média das amostras analisadas, estão todos dentro do permitido por lei na portaria N° 6, de 25 de julho de 1985. Com exceção da amostra de número 03, que apresentou valores de pH superiores ao recomendado e permitido por lei.

Os resultados da acidez nas amostras estão todos dentro do permitido por lei, assim como os resultados obtidos por meio do cálculo das porcentagens de minerais (cinzas). Sendo assim, estão todos dentro dos parâmetros citados na portaria N° 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000).

Semelhante a este trabalho, Schlabitz *et al.*, (2010) demonstram, em seu estudo do mel produzido por apicultores da região do Vale do Taquari/RS, os valores de pH de todas as doze amostras analisadas. Ainda segundo os autores, seus resultados apontam que as amostras estudadas estão dentro do valor médio exigido, assim como os valores das análises de acidez livre e cinzas também dentro da lei exigida pelo ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Ademais, em outra pesquisa correlata, feita nos estados do Nordeste, considerando o mel das abelhas *Apis mellifera*, foram demonstrados valores de pH entre 2,66 e 4,61, estando dentro do permitido por lei. Contudo, os valores de acidez livre e minerais totais (cinzas), comparados com o exigido por lei, se encontravam em grandes proporções, sendo os valores da acidez livre mensurados na pesquisa entre 14,81 e 118,41 meq. Kg⁻¹ e o valor de cinzas entre 0,02 e 2,67 (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Já na pesquisa da análise do mel de pequenos produtores no Vale do Médio Araguaia-Tocantins, os valores de pH das 5 amostras analisadas entre os valores de 3,45 e 3,71, assegurando estarem dentro da média exigida por lei, assim como os valores mensurados da acidez livre. Todavia, os valores de cinzas das 5 amostras analisadas entre os valores de 1,06 e 1,16% estão caracterizadas fora do valor médio de teor de resíduo mineral (cinzas) exigido pelo ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SOUZA *et al.*, 2012).

Apesar da concentração de mel utilizada neste trabalho não ter obtido resultados significativos contra as bactérias testadas, não se pode excluir a ação antimicrobiana do mel frente a outras bactérias e com outras concentrações, sendo necessários mais estudos e pesquisas com o mel.

Miroin (2003), em sua pesquisa da composição química e atividade antibacteriana do mel e da própolis de *Apis mellifera* contra *Staphylococcus aureus*, obteve resultados positivos quanto à atividade antibacteriana frente à bactéria, encontrando concentrações inibitórias mínimas, sendo $\hat{>}$ 126 mg/ml (méis) e $\hat{>}$ 0,36mg/ml (própolis).

Mendes *et al.*, (2014), na pesquisa da atividade microbiana e qualidade físico-química do mel de *Apis mellifera* e *Tetragonisca angustula* (jataí) produzidas no estado de Mato

Grosso, obtiveram resultados positivos proporcionais à concentração de mel utilizada, com maior inibição do crescimento do *Staphylococcus aureus* do que para *Escherichia coli*.

Ademais, na pesquisa da atividade antimicrobiana do mel de abelhas *Apis mellifera L.* e *Melipona subnitida L.* frente a amostras bacterianas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, obteve-se resultados positivos que demonstraram uma suscetibilidade para o MRSA, atingindo halos de inibição de até 31 mm de diâmetro e para a *Pseudomonas aeruginosa*, as zonas de inibição chegaram até 19 mm, dando ênfase em especial a atividade antimicrobiana do mel de *Apis mellifera* (ANDRADE, 2010).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É de conhecimento que o mel é utilizado para meios medicinais desde os tempos antigos, e garantir a qualidade dos produtos, avaliando as características físico-químicas e antimicrobianas do mel é fundamental para se asseverar a segurança e a eficácia desses produtos.

Desse modo, os resultados físico-químicos obtidos neste trabalho demonstraram que as cinco amostras analisadas, adquiridas nas feiras livres de Lençóis Paulista, estão, em sua maioria, dentro das normas impostas pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento em todos os aspectos analisados.

Contudo, na verificação antimicrobiana, foram realizadas análises das amostras de mel frente a três bactérias possivelmente patogênicas, sendo elas: *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*.

Logo, apesar de os testes terem sido refeitos inúmeras vezes para comprovação do resultado final, não foram obtidos dados significativos. No entanto, não se descarta a possibilidade de haver alguma característica antimicrobiana no alimento açucarado, sendo necessário estudos mais avançados e com concentrações diferentes de mel para comprovação.

REFERÊNCIAS

- ABADIO FINCO, FERNANDA DIAS BARTOLOMEU, MOURA, LUCIANA LEARTE E SILVA, IGOR GALVÃO. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. *Food Science and Technology* [online]. 2010, v. 30, n. 3 [Acessado 29 Novembro 2022] , pp. 706-712. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000300022>>. Epub 25 Out 2010. ISSN 1678-457X. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000300022>. Acesso em: 12/09/22
- ABADIO FINCO, Fernanda Dias Bartolomeu; MOURA, Luciana Learte; SILVA, Igor Galvão. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Food Science and Technology** [online]. 2010, v. 30, n. 3 [Acessado 2 Agosto 2022] , pp. 706-712. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000300022>>. Epub 25 Out 2010. ISSN 1678-457X. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000300022>.
- ALIMENTOS. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v.1, 533 p.
- ALVES da Silva et al. Análises de mel: revisão. **Revista Caatinga** [en linea]. 2009, 22 (2), 7-14 [fecha de Consulta 1 de Abril de 2021]. ISSN: 0100-316X. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237117600039>
- ANDRADE NETO, Francisco Vicente de. **Atividade antimicrobiana do mel de abelhas *Apis mellifera* L. e *Melipona subnitida* L. frente amostras bacterianas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa***. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2010. Acesso em: 13 set. 2022.
- ASSAD, Ana Lúcia Delgado; VILLARI, Antonio Celso. **Conheça 12 tipos de mel ideais para o seu dia a dia**. São Paulo, 20 de junho 2016. Disponível em: <https://abelha.org.br/conheca-12-tipos-de-mel-ideais-para-o-seu-dia-dia/#>. Acesso em: 22 de mar. 2021.
- BERA, Alexandre; ALMEIDA-MURADIAN, Ligia Bicudo de. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas , v. 27, n. 1, p. 49-52, Mar. 2007 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100009-&lng=en&nrm=iso>. access on 15 Mar. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100009>.
- BRASIL. Ministério da agricultura e abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 out. 2000. Seção 1, p.16-17. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/IN-11-de-2000.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- BRASIL. Ministério da agricultura e abastecimento. Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985. **Secretaria de inspeção de produto animal**. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/portaria-6-de-1985-mel.pdf>. Acesso em: 15 mar.2021.
- DECAGON. Aqualab - water active meter: operator's manual. Washington, 2005.112 p.
- ESCOBAR, Ana Lúcia Silva; XAVIER, Fábio Branches. Propriedades fitoterápicas do mel de abelhas. **REVISTA UNINGÁ**, [S.l.], v. 37, n. 1, set. 2013. ISSN 2318-0579. Disponível em: <<http://34.233.57.254/index.php/uninga/article/view/1115>>. Acesso em: 15 mar. 2021.

GOIS, Glayciane Costa et al. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.7, n.2, p.13 -147, 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/acta/article/view/3009/5219>. Acesso em: 12/09/22

GOIS, Glayciane Costa; LIMA, Cristina Aparecida Barbosa de; SILVA, Luzia Trajano; RODRIGUES, Adriana Evangelista. Composição do mel de *apis mellifera*: requisitos de qualidade. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.7, n.2, p.137-147, 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/acta/article/view/3009>. Acesso em: 02 de jul. 2022.

<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/120/133>

https://www.agais.com/telomc/b01107_caracteristicas_mel.pdf

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by fehling's solution with methylene blue**. London: Normam Rodge, 1934. 8 p.

MENDES, Clebson Rodrigues de Jesus, *et al.* **Atividade antimicrobiana e qualidade físico-química do mel de *Apis mellifera* e *Tetragonisca angustula* (jataí) produzidas no estado de Mato Grosso / Antimicrobial activity and physicochemical quality *Apis mellifera* honey and *Tetragonisca angustula* (jataí) produced in the state of Mato Grosso. set.-out. 2014. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-92567>. Acesso em: 13 set. 2022.**

MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **SECRETARIA DE INSPEÇÃO DE PRODUTO ANIMAL. PORTARIA Nº 6, DE 25 DE JULHO DE 1985**. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/portaria-6-de-1985-mel.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2022

MIROIN, Patrícia Laguna. **Composição química e atividade antibacteriana do mel e da própolis de *Apis mellifera* e *tetragonisca angustula* contra *Staphylococcus aureus***. 2003. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. . Acesso em: 13 set. 2022.

MORAES, R.M. **Análise de mel**. Pindamonhangaba: IZ/SAA, 1994. 1v.

MORAES, R.M.; TEIXEIRA, E.W. **Análise do mel (Manual técnico)**. Pindamonhangaba: [s.n.], 1998. 41 p.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002. Acesso em: 15 mar. 2021.

PREGNOLATO, W. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. In: PREGNOLATO, W.; PREGNOLATO, N.P. (Coord). **Métodos químicos e físicos para análise de mel - 4ª Edição 1ª Edição Digital**. São Paulo, 2008. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.

RODRIGUES, Adriana Evangelista, *et al.* Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de qualidade. *Rev. Veterinaria Brasilica*. v. 7 n. 2 (2013). Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/acta/article/view/3009>. Acesso em: 12/09/22

SCHLABITZ, Cláudia, *et al.* Avaliação de parâmetros físico – químicos e microbiológicos em mel. **Rev. Bras. De Tecnologia Agroindustrial**. Curitiba, v. 4, n. 1 (2010). Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/468>. Acesso em: 12/09/22.

SILVA, Robson Alves et al. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. *Rev. Alim. Nuti. Araraquara*, V.17, n.1, p.113-120, jan/ mar. 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/49599717_Composicao_e_propriedades_terapeuticas_do_mel_de_abelha. Acesso em: 12/09/22.

SOUZA, Florivaldo Gama, *et al.* Análise do mel de pequenos produtores do vale do médio Araguaia – Tocantins. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p. 101, 2012. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20agrarias/analise%20do%20mel.pdf>. Acesso em: 12/09/22.

TAVARES, Janaina P. et al . Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa , v. 16, n. 3, p. 350-356, Sept. 2006 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2006000300012&lng=en&nrm=iso>. access on 15 Mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300012>

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Release, Release 16. Disponível em: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl. Acesso em: 12/09/22

VENTURINI, Katiani Silva; SARCINELLI, Miryelle Freire; Silva, Luís César. Características do mel. Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. 2007. Disponível em: <https://docplayer.com.br/21886214-Characteristicas-do-mel.html>. Acesso em: 12/09/22