

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA, TEOR DE UMIDADE E PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM COMPOSTOS DE MEL¹

DETERMINATION OF WATER ACTIVITY, MOISTURE CONTENT AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS IN HONEY COMPOUNDS

Lara Passamani Merabet²

1. RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o teor da atividade de água (Aa) e da umidade, utilizando-se os métodos do Codex Standard for Honey (2000) e AOAC (2000) em 19 amostras de compostos de mel coletadas no Estado do Rio de Janeiro em 2004, com o propósito de gerar subsídios para a identificação das propriedades físico-químicas do produto, já que este, no período da pesquisa, não possuía legislação própria para fabricação/comercialização. A avaliação dos resultados deu-se por análise da variância (ANOVA) e das médias por teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os valores encontrados para Aa foram 0,583 a 0,831 e 17,40 a <25% para a umidade por refração e 9,44 a 24,59% para a umidade por estufa. Nenhuma das amostras apresentou contaminação microbiológica, contudo as modificações observadas nesses produtos em relação à sua matriz não foram suficientes para assegurar a sua utilização como alimento.

Palavras-chave: Produto apícola. Mel. Características químicas.

2. ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the level of water activity (Aw) and moisture using Codex Standard for Honey (2000) and AOAC methods - (2000) in 19 samples of composite honey collected in Rio de Janeiro in 2004 in order to generate tools for the identification of physical-chemical properties once the product, in the period of research, did not have proper legislation for production/commercialization.

¹ Artigo oriundo da dissertação de mestrado, da primeira autora, em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UFRRJ em 2005.

² Economista Doméstica e Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Colégio Técnico da Universidade Rural, CTUR/UFRRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil (larapassamani@yahoo.com.br).

The results were evaluated by analysis of variance (ANOVA) and averages obtained by Tukey test ($p \leq 0.05$). The results found for A_w were from 0.583 up to 0.831 and from 17.40 up to <25% moisture by refraction and from 9.44 up to 24.59% for stove moisture. None of the samples showed microbial contamination, however, the changes observed in these products in relation to its base were not enough to ensure their use as food.

Keywords: Bee product. Honey. Chemical characteristics.

3. INTRODUÇÃO

O mel é alimento apreciado por seu sabor característico e sua fácil assimilação, constituindo-se numa fonte de energia que contribui para alguns processos biológicos humanos. No entanto, diversas técnicas foram desenvolvidas para difundir seu consumo e sua utilização em vários outros produtos, sem que comprometam as suas características naturais.

A Resolução nº. 12, de 1978, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA (BRASIL, 1978), define o mel como produto natural elaborado por abelhas a partir do néctar de flores e, ou, exsudatos sacarínicos de plantas, sendo sua matriz complexa constituída na sua maioria por frutose, glicose e água e, em menor concentração, por proteínas em forma de enzimas, sais minerais, vitaminas e compostos voláteis responsáveis pelo aroma e algumas outras propriedades. Não é permitida a presença de substâncias estranhas e também a adição de corantes, aromatizantes, espessantes, conservadores e edulcorantes naturais ou sintéticos à sua composição normal.

O teor de umidade é mais um dos parâmetros de qualidade para méis. Assim, a legislação permite um teor máximo de 20 g/100 g. Ele se enquadra dentro dos alimentos tradicionais de umidade intermediária, e a distribuição de água dele está sujeita a variações que podem ocorrer durante o armazenamento devido à cristalização de certos açúcares. Contudo, a taxa de umidade deve estar abaixo de 20 g/100 g, uma vez que o mel excessivamente aquoso é muito propenso a sofrer fermentação por leveduras osmofílicas. Com valores menores que 17 g/100 g, essa fragilidade praticamente desaparece, passando a depender do número inicial de microrganismos em taxas que oscilam entre 17,1 e 20 g/100 g.

O processo de fermentação pode ocorrer mais facilmente naqueles méis chamados "verdes", ou seja, colhidos de favos antes de terem seus alvéolos devidamente operculados pelas abelhas. Nessa situação, o mel ainda apresenta teor elevado de água. Entretanto, mesmo o mel operculado pode ter níveis acima de 18% de água, caso o apiário esteja localizado em região com umidade relativa do ar superior a 60% (m/v).

Franco e Landgraf (1996) e Denardi *et al.* (2005 citados por BERA, 2010) indicaram a Atividade de água (Aa) como um parâmetro que determina a água disponível no alimento para o metabolismo microbiano, em que está ligada às macromoléculas, por forças físicas, não estando livre para atuar como solvente ou para participar de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos. Os produtos com elevado teor de açúcar em geral apresentam Aa baixa, o que os caracteriza como microbiologicamente estáveis, porém tendem a absorver umidade. O mel, por ser um produto composto de açúcares (65 a 70%), apresenta alta higroscopicidade, isto é, pode absorver água, como também ceder (eliminar água). Lengler (2011) citou que experimentos realizados na Universidade de Michigan nos Estados Unidos da América demonstraram que mel armazenado em ambiente com umidade relativa do ar superior a 60% absorve água e, quando a estocagem é feita em ambiente com umidade relativa do ar inferior a 60%, ele libera umidade. A recomendação a partir dos resultados alcançados foi de que a centrifugação ou envasamento de mel não deve ser realizado em dias de chuva, salvo se a sala estiver equipada com desumidificador de ambiente.

Apesar do que foi descrito, a atividade de água (Aa) não é considerada parâmetro a ser estudado na legislação para méis, no entanto o conhecimento desses valores em produtos com alto teor de açúcar ajuda a determinar a vida de prateleira, a escolher melhor os tipos de embalagens e as condições de armazenamento, além de ser um excelente ponto de partida para avaliar sua qualidade (BOLETIM, 2007; RÔDEL *et al.*, 1990 citados por CORREIA-OLIVEIRA *et al.*, 2008). Em produtos constituídos na sua totalidade de água, o teor máximo de Aa é igual a 1,000, enquanto na inexistência de água ou na sua indisponibilidade a medida da Aa será igual a zero (BOLETIM, 2007 citado por CORREIA-OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Zamora *et al.* (2006 citados por BERA, 2010), correlacionando a umidade e a atividade de água no mel, especificaram um limite entre 0,61 e 0,62 de A_w como segurança para evitar o crescimento de leveduras osmotolerantes.

O mel composto é o produto resultante da mistura de mel com extratos vegetais alcoólicos e, ou, hidroalcoólicos, que após ser aquecido (50-55%) e centrifugado torna-se homogêneo. A falta de informações na literatura, por ser um produto ainda não explorado pelo meio científico, impossibilitou a descrição de maiores informações quanto à sua funcionalidade como alimento ou medicamento. Neste estudo, foi possível caracterizar o produto baseando-se nos parâmetros exigidos pela legislação para mel, já que este é base de sua formulação num total de 90-97%.

Passamani (2005) estudou amostras de compostos de méis adicionados de variados extratos de vegetais fabricados no Estado do Rio de Janeiro, assim como Bera (2004) analisou amostras de méis comerciais adicionados de própolis no Estado de São Paulo. Ambos demonstraram, com suas pesquisas, a preocupação e a importância da regulamentação desse produto, sugerindo, na época, mais investigações científicas sobre o assunto, já que a oferta de produtos desta natureza, mel puro misturado com os demais produtos da colmeia ou até mesmo de plantas medicinais, denominado mel composto, estava ampla e alta no mercado varejista, como citaram também Costa e Pereira (2002). Assim, aumentaram a preocupação e a necessidade de garantir ao consumidor segurança para o seu consumo, visto que não se sabia ao certo quais os benefícios e, ou, riscos poderiam ser trazidos por ele.

A problemática da ausência de estudos científicos quanto à legislação de outros produtos apícolas, além do composto de mel, é apontada por Alves e colaboradores (2005), que citaram que a Legislação Brasileira só abrange a padronização dos méis das abelhas africanizadas (*A. mellifera*) para fins de comercialização, o que vem corroborar a sugestão de estudos mais aprofundados sobre diferentes tipos de méis e seus produtos derivados, principalmente os oriundos das espécies nativas, como fizeram Alves *et al.* (2005), Souza *et al.* (2004), Souza *et al.* (2004) e Souza *et al.* (2009), pois produtos derivados desses méis podem apresentar diversas características, que divergem das já apresentadas e padronizadas para méis das abelhas africanizadas, o próprio teor de água (umidade), que o torna menos denso.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Dar contribuição científica à produção de mel do Estado do Rio de Janeiro na conquista da regulamentação do composto de mel como alimento, usando-se como referência as suas propriedades naturais, uma vez que o produto é utilizado como veículo para os extratos e o componente majoritário do produto.

4.2. Objetivo Específico

Caracterizar formulações de diferentes compostos de mel quanto ao teor de umidade e à atividade de água, verificando-se a ocorrência de variações nas propriedades naturais e o possível desenvolvimento microbiano no mel em decorrência da adição dos extratos utilizados na formulação do produto.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material

5.1.1. Obtenção das amostras

As amostras (Tabela 1) de méis foram adquiridas em três entrepostos localizados no Estado do Rio de Janeiro. Procedeu-se à coleta no período de agosto a setembro de 2004.

Tabela 1 - Composição das amostras estudadas

Produtor	Cód.	Descrição	Composição das amostras
A	A1©	Controle: 230 g (base)	10% melaço + 90% mel de laranja
	A11	Composto 1: 230 g	Controle + extrato de própolis (4,30%), extrato de mastruço (8,7%) e aroma natural de menta (0,087%)
	A21	Composto 2: 230 g	Controle + extrato de própolis (1,2%) e agrião (4,2%)
	A31	Composto 3: 230 g	Controle + extrato de própolis (0,43%), eucalipto (1,9%), hortelã (1,9%), guaco (1,9%), poejo (1,9%) e assa-peixe (1,9%)
	A41	Composto 4: 230 g	Controle + extrato de própolis (8,7%) e saião (8,7%), aroma natural de menta (0,01%)
	A51	Composto 5: Mel com própolis (230 g)	Controle + extrato de própolis (2,8%)
B	B1©	Controle de B11 (base) -155 g	40 % mel de eucalipto + 40% mel silvestre + 20% mel de cana
	B2©	Controle de B22 (base) - 155 g	40 % mel de eucalipto + 50% mel silvestre + 10% mel de cana
	B3©	Controle de B33 (base) - 164 g	10 % mel de eucalipto + 80% mel silvestre + 10% mel de cana
	B11	Composto 1:	Controle B11+ própolis (2%) e poejo (1%)
	B22	Composto 2	Controle B22 + agrião (1%), guaco (1%) e própolis (1%).
	B33	Composto 3	Controle B33 + guaraná (1%), catuaba (1%) e ginseng (1%)
C	C1©	Controle 350 g (base)	Mel Silvestre
	C11	Composto 1: 300 g	Controle + Própolis (5%)
	C21	Composto 2: 300 g	Controle + Agrião (3%) e própolis (3%)
	C31	Composto 3: 300 g	Controle + Guaco (3%) e poejo (3%)
	C41	Composto 4: 300 g	Controle + Agrião (1%), assa-peixe (1%), eucalipto (1%), guaco (1%), poejo (1%) e própolis (1%)
	C51	Composto 5: 300 g	Controle + Acerola, (1,8%) gengibre (1,8%) e própolis (1,8%).
	C61	Composto 6: 300 g	Controle + Ginseng (1%), guaraná (1%) e pólen (1%)

Fonte: PASSAMANI, 2005.

5.2. Métodos

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Departamento de Engenharia de Alimentos, nos Laboratórios de Análises Química e Bioquímica de Alimentos e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, respectivamente. Todas as análises seguiram os métodos oficiais recomendados pelo Codex Alimentarius (2000), pela Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2001) e pelo Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA (1981), exceto na determinação de *Salmonella* sp., dos coliformes totais e fecais e dos fungos e leveduras que foram baseadas na metodologia recomendada pela Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.

Os méis e compostos de mel foram avaliados em duplicatas, sendo os resultados expressos pela média das determinações, com o respectivo desvio-padrão e o coeficiente de variação.

5.2.1. Atividade de água

Colocou-se uma pequena quantidade da amostra numa cápsula circular de polietileno, cobrindo apenas o fundo. Em seguida, foi inserida no equipamento AQUALAB CX-2 T Braseq, sendo a leitura feita automaticamente depois de alguns minutos do rastreamento de toda a amostra.

5.2.2. Umidade

Por refratometria – Segundo o método nº 969.38b (AOAC, 2000), recomendado como metodologia oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000). O princípio desse método consiste na determinação do índice de refração do mel a 20 °C, que é convertido para o conteúdo de umidade através de uma tabela de referência a qual, por sua vez, fornece a concentração como função do índice de refração. O equipamento utilizado para a análise foi o refratômetro de ABBE Carl Zeiss Nr. 326011.

Por secagem – Em cápsulas por secagem em estufa a vácuo Weber Electric Vacuum, seguindo metodologia do Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA (1981) para umidade e voláteis em extrato de carne. Este método foi utilizado para verificar adequação em função das características das amostras que

apresentavam valores de umidade por refração superiores ao limite de detecção do equipamento. Para tanto, optou-se pelo sistema de secagem a vácuo com temperatura de 65 °C, usando cápsulas adicionadas de areia previamente tratada, com a finalidade da ação dispersante, propiciando, assim, melhor remoção da água.

5.2.3. Análises microbiológicas

a) *Salmonella* – Posteriormente ao preparo de caldos e meios, foi pesada uma alíquota de 25 g da amostra e adicionada água peptonada, e incubou-se em estufa a 35 °C/24 h. Após o período de incubação, 1 mL dessa solução foi adicionada a um tubo contendo 10 mL de caldo Rappaport e novamente mais 1 mL para tubo contendo 10 mL de caldo selenito, e novamente foram levados à estufa. Transferiu-se uma alçada de cada tubo (Selenito e Rappaport), com o auxílio de alça de platina, para placas contendo ágar BPLS e ágar SS. Incubaram-se as placas em estufa a 37 °C/24 h. Observou-se crescimento de colônias.

b) Coliformes Totais e Fecais – Posteriormente ao preparo dos caldos foram pesadas 10 g de mel e adicionada água peptonada 0,1%. Após essa preparação, 10 mL foram transferidos para tubos de ensaio de Durhan invertidos contendo 10 mL de lauril concentração dupla (10^{-1}) e 1 mL em tubos com 7 mL de lauril concentração simples (10^{-2}) e, ainda, 1 mL para tubo contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, incubando-se os tubos em estufa a 37 °C/24-48 h. Finalmente, observou-se a existência de bolhas nos tubos, e o resultado foi expresso em NMP – Número Mais Provável calculado usando-se uma tabela apropriada para análise.

c) Fungos e Leveduras – Posteriormente ao preparo dos meios, foram pesados 10 g de mel, e adicionaram-se 90 mL de água peptonada glicosada. Transferiu-se 1 mL para duas placas (10^{-1} G) e 1 mL para tubo contendo 9 mL de água peptonada glicosada. Desse tubo com água peptonada, transferiu-se 1 mL para outras duas placas (10^{-2} glicosado). As placas foram cobertas com ABD glicosado, incubando-as em estufa a 30 °C/24-48 h. Fez-se a contagem de colônias.

5.2.4. Análise estatística

Utilizou-se o software *Prism* 2.01 para a análise de variância (ANOVA, one-way) pelo teste de Tukey, com o objetivo de analisar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias aritméticas dos grupos.

6. RESULTADOS

Tabela 2 - Correlação entre dois diferentes métodos para umidade e atividade de água

Amostras	Atividade de Água	Umidade por estufa (%)	Umidade Refração (%)
A1©	0,644 ^e ± 0,004 (0,55%)	13, ^{60d} ± 0,10 (0,74%)	19,50 ^f
A11	0,666 ^{cd} ± 0,006 (0,96%)	19,59 ^c ± 0,01 (0,03%)	21,90 ^d
A21	0,768 ^b ± 0,013 (1,75%)	24,59 ^a ± 0,50 (2,01%)	21,70 ^e
A31	0,683 ^{dc} ± 0,006 (0,83%)	20,27 ^c ± 0,17 (0,84%)	23,30 ^c
A41	0,702 ^c ± 0,014 (2,01%)	21,96 ^b ± 0,28 (1,28%)	23,90 ^b
A51	0,831 ^a ± 0,001 (0,17%)	22,90 ^b ± 0,19 (0,85%)	25,00 ^a
B1©	0,599 ^{ab} ± 0,002 (0,35%)	12,39 ^{ab} ± 0,27 (2,21%)	19,30 ^d
B2©	0,602 ^c ± 0,001 (0,12%)	11,85 ^c ± 0,40 (3,40%)	19,00 ^f
B3©	0,597 ^e ± 0,001 (0,24%)	11,44 ^e ± 1,65 (14,44%)	19,10 ^e
B11	0,618 ^a ± 0,007 (1,14%)	13,44 ^a ± 1,31 (9,72%)	20,10 ^c
B22	0,629 ^b ± 0,004 (0,67%)	11,52 ^{cd} ± 0,19 (1,66%)	20,20 ^b
B33	0,633 ^d ± 0,012 (1,90%)	16,18 ^{ef} ± 2,41 (14,91%)	20,30 ^a
C1©	0,600 ^{bcd} ± 0,000 (0,00%)	9,85 ^{bc} ± 0,06 (0,61)	18,50 ^e
C11	0,595 ^{cd} ± 0,007 (1,19%)	14,55 ^{ac} ± 0,31 (2,13)	17,80 ^f
C21	0,653 ^{ab} ± 0,016 (2,38%)	16,18 ^a ± 2,17 (13,41)	21,00 ^a
C31	0,636 ^{abc} ± 0,001 (0,11%)	13,11 ^{ab} ± 1,49 (11,37)	20,50 ^b
C41	0,607 ^{abc} ± 0,001 (0,23%)	12,06 ^{ab} ± 1,24 (10,26)	18,90 ^d
C51	0,583 ^d ± 0,001 (0,12%)	12,98 ^{ab} ± 0,84 (6,47)	17,40 ^g
C61	0,642 ^b ± 0,029 (4,52%)	9,44 ^b ± 1,38 (14,61)	19,40 ^c

Obs.: © Indica amostras-controle sem adição de extratos, sinais ± indicam desvio-padrão entre as repetições e entre parênteses, o coeficiente de variação

(%) O desvio-padrão e o coeficiente de variação para umidade por refração foram iguais a zero, não sendo expostos na tabela.

Fonte: PASSAMANI, 2005.

6.1. Avaliação da atividade de Água (Aa)

A atividade de água é um importante parâmetro físico para avaliar o estado e a estabilidade relativa, no que diz respeito às propriedades físicas de qualquer alimento, velocidade das reações de alteração e atividade enzimática, assim como crescimento e desenvolvimento de microrganismos. Representa com maior exatidão a disponibilidade potencial da água no alimento para os microrganismos, a qual é a expressão do conteúdo total de umidade do produto (ESTUPIÑÁN *et al.*, 1998a).

Conforme a Tabela 2, observa-se que no produtor A a amostra-controle (A1) não apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) com a amostra A11, assim como esta não apresentou com A31, que por sua vez não mostrou diferença com A41. Entretanto, essas amostras exibiram maior variabilidade e um teor mais elevado da atividade de água, provavelmente pela não uniformidade da concentração dos extratos adicionados em suas formulações. No produtor B, as amostras B2 e B22 e B3 e B33 (respectivos controles e compostos) diferiram entres si. Contudo, observou-se maior homogeneidade nos valores obtidos, possivelmente pelo fato de esse produtor apresentar maior uniformidade na formulação e concentração de suas amostras (3% em todas). O produtor C apresentou valores similares aos do produtor B, no entanto se verificou diferença significativa em número maior de amostras. A C11 diferiu da C21 e C61 e a C51, da C21, C31 e C61.

O intervalo dos valores obtidos neste estudo foi de 0,583 a 0,831 (Tabela 2), maior do que os descritos por Gómez *et al.* (1990), que trabalharam com 18 amostras adquiridas em Córdoba (Espanha). Dessas, três amostras foram diretamente retiradas de colmeias sem sofrer nenhum processo tecnológico, e as outras 15 amostras foram recolhidas em pontos comerciais da cidade, e três delas tinham como matriz o mel de cana. Após analisarem as amostras, os valores encontrados foram bastante uniformes (0,534 a 0,608), com exceção de uma amostra que correspondia ao mel de cana (0,711). Contudo, os resultados encontrados coincidiram com os encontrados por diversos autores, como Alcalá (1977), Esteban e Marcos (1976), Lázaro Alvarez (1977), Mora Ventura (1977) e Ruegg e Blanc (1981 citados por GÓMEZ *et al.*, 1990).

Segundo Coultate (2006), a atividade de água típica está em torno de 0,75. Valores abaixo permitem somente o desenvolvimento de bolores xerofílicos e leveduras osmofílicas. Para Labuza (1980 citado por CORREIA-OLIVEIRA *et al.*, 2008), pode-se

considerar um alimento estável quando a atividade de água é inferior a 0,60, sendo esses alimentos classificados como desidratados.

6.2. Avaliação da Umidade por Refração e Estufa

Nos valores de umidade medida por refração, verificou-se que todas as 19 amostras diferiram entre si. Entre os produtores, o produtor A apresentou resultados mais elevados, percebendo-se também ligeiro aumento dessa umidade quando relacionado a amostras-controle e aos compostos, assim também aconteceu com o produtor B. No produtor C foram encontrados os menores valores e a menor homogeneidade na maioria das amostras, os quais também se diferenciaram da amostra-controle para mais ou para menos, conforme Tabela 6.

Verifica-se ainda que há, na Tabela 2, um valor não mensurável de umidade pelo método refratométrico (>25,00%), pois se encontrava acima dos valores encontrados na tabela de referência. Assim, ao analisar os resultados de umidades pelos dois métodos de quantificação (índice de refração e secagem em estufa a vácuo a 65 °C), diferenças entre os valores foram observadas, destacando-se os mais elevados para a determinação por refratometria (17,40 a um valor não mensurável, maior de 25,00%), enquanto por secagem esses foram de 9,70 a 24,59%.

Quanto à umidade por estufa, no produtor A apenas as amostras A11 e A31 e A41 e A51 não diferiram entre si, sendo os valores obtidos mais elevados dos que os dos outros produtores. Isso pode ser justificado porque essas amostras possuem maior porcentagem de extratos hidroalcoólicos na formulação de seus compostos. No produtor B não existiu diferença ($p \leq 0,05$) em nenhuma de suas amostras, e os valores de umidade foram os menores, mas os mais homogêneos entre todas as amostras analisadas. Entretanto, o produtor C teve proximidade com os valores com o produtor B, mas ainda foram um pouco maiores, e duas de suas amostras ficaram bem abaixo da média da maioria, e apenas C1 diferiu de C21, que por sua vez, assim como C11, diferiu de C61.

Verificou-se que o método de secagem a vácuo até alcançar o peso constante das amostras ocorre interferência na massa real de água evaporada, podendo outras substâncias voláteis na temperatura de 65 °C evaporar, juntamente com a água, como no caso dos extratos adicionados, por serem alcoólicos e hidroalcoólicos. Portanto, neste

estudo o método não foi tido como bom para análise de umidade em méis, considerando-se a refratometria a melhor opção para avaliá-la.

Isengard e colaboradores (2001), no entanto, aplicaram diversos métodos para a quantificação do teor de água no mel de abelha, pois consideravam que os métodos oficiais para essa determinação são métodos indiretos. Por exemplo: a medição refratométrica, utilizando uma fórmula empírica, ou por utilização de uma conversão em tabela e a determinação da perda de massa após secar na estufa. Então, esses autores, comparando as técnicas conhecidas em amostras de méis da Europa, descobriram que a origem botânica e a natureza de seu conteúdo de água podem influenciar na medida por refratometria, dando valores acentuados em certos casos.

No geral, méis são produtos que apresentam valores de umidade próximos de 20 g/100 g. Contudo, se a umidade relativa durante a colheita estiver elevada, a concentração de umidade também estará. Muitos estudos apresentam valores para umidade em méis sem considerar as variações ambientais. Azeredo *et al.* (1999) relataram valores abaixo de 20,00%, dentro do valor máximo permitido pela legislação para a umidade, ao estudarem as variações na estocagem em função da embalagem. Encontraram os resultados: embalagens de vidro 19,10 (t_0) a 18,96 (365 dias), polipropileno 19,40 (t_0) a 19,32 (365 dias), polipropileno sob abrigo da luz – 19,62 (t_0) a 19,52 (365 dias), apresentando redução de apenas 0,1% no teor de umidade do mel. Também, Stonoga e Freitas (1991) efetuaram análise em 15 amostras de mel utilizando o método da refratometria a 20 °C, quando a umidade do mel variou de 16 a 19%.

Muitos outros estudos descrevem variações nos teores de umidade em méis, como os Grande *et al.* (2002), que encontraram em méis da Espanha umidade abaixo de 20 g/100 g condizente com a legislação europeia (20%). Entretanto, nove de suas amostras se encontravam acima de 18%, não podendo ser denominadas “Mel de Galícia”, pois a legislação dessa região na Espanha permite apenas umidades inferiores a esse valor, uma vez que o mel com alto teor de água estará mais sujeito à fermentação, perdendo, conseqüentemente, a qualidade de mercado.

Segundo os resultados obtidos por Rodrigues *et al.* (2003), o mel produzido pelas abelhas *Melipona scutellaris* apresentou maior teor de umidade (25,3%) em relação ao das abelhas *Apis mellifera* (18,1 - 18,8%). Pelos resultados de Alves *et al.* (2005), a umidade das 20 amostras de méis analisadas apresentaram média de 28,78%,

demonstrando que 100% delas estavam com valores acima dos limites especificados nas legislações nacional e internacional para o mel de *Apis*.

O mel, sendo proveniente do néctar, pode-se sugerir que o néctar coletado pela abelha *Melipona* (nativa) tem maior teor de umidade do que o coletado pela abelha *Apis* (africanizada). Outra questão é que na hora da operculação a *Apis* só opercula os favos quando o mel já está pronto para ser coletado, e a *Melipona* opercula os favos quando o mel ainda apresenta umidade alta de aproximadamente 24%, o que poderia justificar a diferença significativa entre os méis.

Terrab *et al.* (2004), analisando méis da Espanha, encontraram nove amostras que estavam com umidade acima do limite permitido pelo Conselho da União Europeia de 2002. Os valores encontrados corresponderam à maturidade dos méis, devido ao uso de colmeias modernas por apicultores na Espanha e ao tempo apropriado de extração e, ainda, ao fato de os valores terem correspondido a méis extraídos no verão.

Segundo Rodriguez *et al.* (2004), seis a oito amostras mostraram teor de umidade entre 17,80 e 19,64 g/100 g, indicando que o mel atingiu o grau de maturidade, e os apicultores encontraram o tempo apropriado para sua extração. Todavia, duas amostras estavam com teor de umidade ligeiramente acima de 20 g/100 g, provavelmente devido à extração prematura do mel dos favos.

Bera (2004), utilizando o método refratométrico, encontrou teor de umidade um pouco elevado e citou que a provável elevação deu-se pela adição da própolis no mel, como ocorrido em estudo de Costa e Pereira (2002), no qual houve aumento gradativo da umidade, conforme a porcentagem de própolis adicionada ao mel aumentava.

6.3. Microbiologia

Tabela 3 - Resultados da análise microbiológica das amostras de compostos de mel

Amostra	Bolors e leveduras (UFC/g)			<i>Salmonella</i> sp.	Coliformes Totais e Fecais (NMP/g)
	Diluições	Meio não glicosado	Glicosado		
A1⊕	10 ⁻¹	0,5	0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	1,5	1,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
A2	10 ⁻¹	1,0	1,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	1,5	1,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
A3	10 ⁻¹	0,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
A4	10 ⁻¹	0,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
A5	10 ⁻¹	1,5	1,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
A6	10 ⁻¹	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	1,0	1,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B1 ⊕	10 ⁻¹	7,5	7,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	1,5	1,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B2⊕	10 ⁻¹	4,5	4,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	2,5	2,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B3⊕	10 ⁻¹	8,5	8,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	4,0	4,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B4	10 ⁻¹	1,5	1,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	3,0	3,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B5	10 ⁻¹	0,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	1,0	1,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
B6	10 ⁻¹	1,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C1⊕	10 ⁻¹	71,5	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,0	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C2	10 ⁻¹	1,0	5,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	2,0	1,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C3	10 ⁻¹	0,5	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10 ⁻²	0,5	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C4	10 ⁻¹	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g

Continua...

Tabela 3 - Resultados da análise microbiológica das amostras de compostos de mel

	10^{-2}	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C5	10^{-1}	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10^{-2}	0,5	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C6	10^{-1}	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10^{-2}	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
C7	10^{-1}	0,0	0,0	Ausência em 25 g	< 3,0 g
	10^{-2}	0,0	0,5	Ausência em 25 g	< 3,0 g

Obs.: ⊗Indica amostras-controle sem adição de extratos.

Fonte: PASSAMANI, 2005.

Conclusão.

A atual legislação brasileira para mel (BRASIL, 2000) não contempla as características microbiológicas aceitáveis para o produto, e esses conceitos precisam ser revistos, principalmente por se tratar de produto consumido por crianças, idosos, gestantes e doentes (TCHOUMBOUE *et al.*, 2007). Esses são os únicos valores de referência estabelecidos pela RDC 012 da ANVISA (BRASIL, 2001), constituindo-se na contagem de bolores e leveduras e na verificação da presença de coliformes a 35 °C e a 45 °C.

As Portarias nº451/97 – Ministério da Saúde (MS) e nº367/97 – Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) determinam um máximo de 10 UFC/g de fungos e leveduras e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g do produto (RALL *et al.*, 2003). Neste estudo, os resultados das análises microbiológicas estavam de acordo com as especificações da legislação brasileira, estando o produto em condições seguras para o consumo humano, conforme descrito na Tabela 3.

Abreu *et al.* (2003), entretanto, analisando 51 amostras de méis não inspecionados, comercializados e coletados em diversos estabelecimentos varejistas do Estado do Rio de Janeiro, revelaram que 17 (33,3%) amostras estavam em desacordo com a legislação vigente. Diante desse resultado, concluiu-se que o índice de amostras consideradas acima do padrão para presença de fungos e leveduras indica deficiência no controle higiênico-sanitário na produção do mel, tornando-se necessário o atendimento por parte dos produtores as normas de boas práticas de fabricação e produção do mel.

Matuella e Torres (2000) não encontraram *Salmonella* sp. ou coliformes totais em 25 g das amostras, que também não foram testadas quanto à presença de *Shigella*. Mas obtiveram resultados quanto a fungos e leveduras $3,2 \times 10^2$ e $1,2 \times 10^4$ UFC/g, similares aos encontrados por Rall *et al.* (2003), que obtiveram $1,5 \times 10^5$ UFC/g. Baseados nesses resultados, esses autores concluíram que 25% das amostras de mel vendidas no Estado de São Paulo não obedeciam aos padrões exigidos pela legislação nos termos da presença de fungos e leveduras.

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de mel analisadas por Sakanaka *et al.* (1996) apontaram que as contagens de bactérias aeróbias mesófilas variaram de 20 até 2.220 UFC/g; já para bactérias aeróbias termófilas variaram de <10 a 45 UFC/g e as de fungos e leveduras, de <10 a 140 UFC/g. Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras.

Passamani (2005), apesar de não ter realizado nenhuma análise sobre o microrganismo *Clostridium botulinum*, mencionou trabalhos de diversos autores (NAKANO *et al.*, 1994; CENSI, 1990 citados por ESTUPIÑÁN *et al.*, 1998; SCHOCKEN-ITURRINO *et al.*, 1999; RALL *et al.*, 2003), relacionados à questão da contaminação de méis por essa bactéria, que provoca uma toxinose bastante grave e que pode levar à morte, relevando a importância de estudos sobre o assunto, já que o aparecimento de amostras contendo a bactéria patogênica em méis nos Estados Unidos fez que o Food Drug Administration (FDA) e o Codex Alimentarius Commission (CDC) recomendassem que o produto fosse proibido para crianças menores de 1 ano de idade.

7. CONCLUSÕES

As alterações apresentadas pelas amostras com relação às matrizes (controles), a partir da adição de extratos indicam que estes modificam as características relativas ao mel natural, conforme os parâmetros da legislação brasileira. Os valores de atividade de água apresentados nas amostras são superiores aos dos seus controles. No produtor A, esses valores foram elevados, bem como para umidade. Isso ocorreu em razão das maiores concentrações do extrato adicionado, fazendo que esse grupo estivesse mais suscetível às alterações durante a vida de prateleira do produto.

Todas as amostras analisadas mostraram-se seguras em relação às características microbiológicas no momento do estudo.

8. RECOMENDAÇÕES

A ausência de padronização nas formulações desses extratos, assim como o desconhecimento dos seus efeitos sobre a sua matriz (controle), gera a necessidade de continuidade nos estudos, ampliando o número de amostras, bem como a maior padronização do extrato adicionado.

9. REFERÊNCIAS

ABREU, B. X.; RISTOW, A. M.; CAVALLO, E. G. Pesquisa de fungos e leveduras em méis não inspecionados comercializados no estado do Rio de Janeiro. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, SP, 2003.

ALVES, R. M. de O.; CARVALHO, C. A. L. de; SOUZA, B. de A.; JUSTINA, G. D. **Sistema de produção para abelhas sem ferrão: uma proposta para o estado da Bahia.** Cruz das Almas, BA: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI, 2005. 18 p. (Série Meliponicultura, 03).

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis.** 17 th. ed. Gaithsburg: [s.n.], 2000.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis-RJ. **Cien. Tecnol. Alim.**, v.19, n.1, p. 3-7, 1999.

BERA, A. **Composição físico-química e nutricional do mel adicionado com própolis.** 2004. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BERA, A. **Efeito nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais em amostras de mel de abelhas submetidas à radiação gama.** 2010. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2010.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução n. 12, de 24 de julho de 1978. Estabelece fixar padrões de identidade e qualidade para alimentos e bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretária de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.11, de 20 de Outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 23 de outubro de 2000. Seção I, p. 16-17.

BRASIL. Ministério da Saúde. Alimentos legislação específica da área por assunto. Rotulagem de alimentos. Resolução RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – CAC. **Revision Codex Standard for Honey**, n. 12, p. 1-7, 2001.

CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; FERREIRA, A. F.; PODEROSO, J. C. M.; LESSA, A. C. V.; ARAÚJO, E. D.; CARNELOSSI, M. A. G.; RIBEIRO, G. T. Atividade de água (Aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do Estado de Sergipe. **Revista da Fapese**, v. 4, n. 2, p. 27-36, jul./dez. 2008.

COSTA, C. C.; PEREIRA, R. B. The influence of propolis on the reological behavior of pure honey. **Food Chem.**, Amsterdam, v. 76, p. 417-421, 2002.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

ESTUPIÑÁN, S.; SANJUÁN, E.; MILLÁN, R.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A. M. Parámetros de calidad de la miel I. Microbiología, caracteres físico-químicos y de envejecimiento: Revisión. **Alimentaria**, n. 296, p. 89-94, 1998.

GÓMEZ, R.; CABEZAS, L.; ALCALÁ, M.; SALGUERO-FERNÁNDEZ, J. Determinación y calculo de la actividad del agua en diferentes muestras de miel. **Alimentaria**, n. 21, p.33-36, 1990.

GRANDE, R. S.; MIGUÉLEZ, J. de la M.; BÉRNADEZ, M. M. Composición de mieles gallegas y su adecuación a las normativas vigentes. **Alimentaria**, Madri, n. 332, p. 127-132, 2002.

ISENGARD, H. D.; SCHULTHEIR, D.; RADOVIC, B.; ANKLAM, E. Alternatives to official analytical methods used for the water determination in honey. **Food Control**, v. 12, p. 459-466, 2001.

LANARA. **Laboratório Nacional de Referência Animal**. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II Métodos Físicos e Químicos. Parte IV: Extrato de Carne, 2. Umidade e Voláteis. Ministério da Agricultura. Brasília, 1981.

LENGLER, Silvio. **Controle de qualidade do mel**. Disponível em: <http://www.portaldoagrovot.com.br/agro/fruticultura/controle_de_qualidade_do_mel.pdf>. Acesso em: 4 mar. 2011.

MATUELLA, M.; TORRES, V. S. Teste de qualidade microbiológica do mel produzido nos arredores do lixão do município de Chapecó-SC. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 70, p. 73-77, 2000.

PASSAMANI, L. **Estudo das características físicas, químicas e microbiológicas de compostos de mel produzidos no Estado do Rio de Janeiro**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2005.

RALL, V. L. M.; BOMBO, A. J.; LOPES, T. F.; CARVALHO, L. R.; CARVALHO, M. G. Honey consumption in the State of São Paulo: a risk to human health? **Anaerobe**, p. 1-5, 2003.

RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S. da.; BESERRA, E. M. F. **Análise físico-química de méis das abelhas *Apis Mellifera* e *Melipona Scutellaris***. Disponível em: <http://www.agronline.com.br/agrociencia/pdf/public_50.pdf>. Acesso em: 18 out. 2003.

RODRÍGUEZ, G. O. de.; FERRER, B. S. de.; FERRER, A.; RODRÍGUEZ, B. Characterization of honey procedure in Venezuela. **Food Chem**, n. 84, p. 499-502, 2004.

SAKANAKA, L. S.; GARCIA-CRUZ, H.C.; HOFFMANN, F. L.; VINTURIM, T. M. Determinação da qualidade do mel. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – QUALIDADE DE VIDA, 15., 1996, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas, MG, 1996. 287 p.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; CARNEIRO, M. C.; KATO, E.; SORBARA, J. O. B.; ROSSI, O. D.; GERBASI, L. E. R. Study of presence of spores of *Clostridium botulinum* in honey in Brazil. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, n. 24, p. 379-382, 1999.

SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. DE.; SODRÉ, G. da s.; MARCHINI, L. C. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciênc. Rur.**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.

SOUZA, R. C. da s.; YUYAMA, K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA, F. P. M. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. **Acta Amazônia**, v. 34, n. 2, p. 333-336, 2004.

SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C. T. dos S.; SOUZA, M.; CARVALHO, C. A. L. de.; ALVES, M. de O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 798-802, 2009.

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

TCHOUMBOUE, J. et al. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, p. 908-913, 2007.

ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J.; ROLDÁN, D. On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. **Food Control**, Amsterdam, n.17, p. 642-647, 2006.

Determinação da atividade de água...

*Recebido em 9 de junho de 2011 Aceito em 6 de setembro de 2011.

Oikos: Revista Brasileira de Economia Doméstica, Viçosa, v. 22, n.2, p. 213-232, 2011