



B1

ISSN: 2595-1661

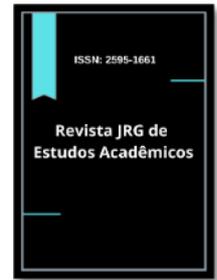
ARTIGO ORIGINAL

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](https://portal.periodicos.capes.gov.br)

Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>



Qualidade Microbiológica de Mel Orgânico Comercial

Microbiological Quality of Commercial Organic Honey

DOI: 10.55892/jrg.v8i18.1916

ARK: 57118/JRG.v8i18.1916

Recebido: 26/02/2025 | Aceito: 08/03/2025 | Publicado *on-line*: 10/03/2025

Jerônimo Galdino dos Santos¹

<https://orcid.org/0009-0003-9248-1381>

<http://lattes.cnpq.br/http://2039876268754438>

Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil

E-mail: jeromicro@gmail.com

Ítalo de Souza Aquino²

<https://orcid.org/0000-0002-7948-8760>

<http://lattes.cnpq.br/8077469301474299>

Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil

E-mail: italo.aquino@terra.com

Alex da Silva Barbosa³

<https://orcid.org/0000-0002-7343-6134>

<http://lattes.cnpq.br/0957218486770990>

Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil

E-mail: aldasibarbosa@cchsa.ufpb.br

Péricles de Farias Borges⁴

<https://orcid.org/0000-0003-3585-1342>

<http://lattes.cnpq.br/0484025301020593>

Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil

E-mail: pericles@cca.ufpb.br

Solange de Sousa²

<https://orcid.org/0000-0002-8587-4828>

<http://lattes.cnpq.br/7706343949977030>

Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil

E-mail: solange_ufpb@yahoo.com.br



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*

¹ Mestre, Ciências Agrárias (Agroecologia), Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Técnico de Laboratório (CCHSA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

² Docente, Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

³ Docente, Colégio Agrícola Vidal de Negreiros (CAVN), Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

⁴ Docente, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

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 hygiene and health 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) of 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, sendo um produto de origem animal, possui uma microbiota única, composta por diversos micro-organismos com características específicas. A manipulação inadequada pode resultar em um perfil bacteriológico que difere do produto original. Um sinal de contaminação fecal é a falta de higiene durante o processamento do mel (Vela-Santana, 2022). Esta substância natural é produzida pelas abelhas melíferas, a partir do néctar de flores, e é o único alimento que representa um fator de risco para o botulismo infantil, especialmente em crianças com menos de 12 meses. Para evitar a contaminação, é recomendado o tratamento térmico, que visa destruir os esporos botulínicos (ICMSF, 2011).

Com base na Lei n.º 10.831, de 23 de dezembro de 2003, define-se um sistema orgânico de produção como aquele que utiliza técnicas voltadas à otimização dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis, respeitando a integridade cultural das comunidades e das unidades de produção rural. Embora não exista uma legislação específica para a produção de mel orgânico, a certificação na apicultura requer a observância de certos parâmetros (Maneje Bem, 2003). A Organização Internacional Agropecuária (OIA) destaca que os produtos orgânicos são integrados a sistemas sustentáveis, pois não utilizam defensivos agrícolas, preservando assim os recursos naturais e a fertilidade do solo. Essa abordagem garante a qualidade dos produtos, validada pelas certificadoras, e oferece vantagens aos produtores que mantêm a sustentabilidade do sistema, mitigando a erosão. Tal sistema é mais acessível e não depende de tecnologias avançadas. Para os consumidores, isso se traduz em uma oferta de alimentos saudáveis, respaldados por certificações que asseguram a qualidade, permitindo ao agricultor oferecer um produto diferenciado e

valorizado. Essa dinâmica estabelece uma relação de confiança com o consumidor (Graziano, 2006).

A ecologia microbiana tem três objetivos principais em relação à compreensão do papel dos micro-organismos: primeiro, estudar a dinâmica populacional; segundo, analisar as características físico-químicas dos microambientes; e, por último, entender os processos metabólicos que os micro-organismos realizam em seus habitats. Com frequência, os alimentos e diversos materiais utilizados pela sociedade são substratos que favorecem o crescimento microbiano, resultando em transformações bioquímicas que levam à deterioração desses itens devido à ação de micro-organismos. A modificação das condições ambientais deve ir além das exigências de crescimento e das margens de tolerância, visando impedir o desenvolvimento de microrganismos potencialmente destrutivos ao controlar a atividade microbiana indesejada (Atlas, 2002).

Os micro-organismos indicadores presentes nos alimentos podem servir como sinais da contaminação de origem fecal, além de indicar a deterioração dos alimentos, o que pode ser um reflexo de práticas inadequadas de higiene durante o processamento e armazenamento (Marcellini, 2023). Entre os principais micro-organismos indicadores de contaminação fecal, destacam-se a *Escherichia coli* e os Enterococos; os indicadores gerais incluem os Aeróbios Mesófilos, Termófilos, Psicrotróficos, Bolores Leveduras. Outras indicações relacionadas à eficiência dos processos são fornecidas por *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e Esporos termófilos, que ajudam a avaliar a higiene de manipuladores e equipamentos (Jay, 2005).

A Comissão do Codex Alimentarius (CAC) estabelece critérios microbiológicos para a aceitação de produtos e lotes alimentares, considerando a presença ou ausência de micro-organismos — incluindo parasitas e suas toxinas ou metabólitos por unidade. Essa abordagem garante a segurança microbiológica dos alimentos por meio de critérios como o controle do fornecedor e a aplicação de boas práticas de higiene. Essas medidas devem ser implementadas ao longo de toda a cadeia produtiva, desde a produção no campo até o produto final. A integração de ferramentas de gestão da segurança alimentar, como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), Boas Práticas de Higiene (BPH), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Gestão de Risco Alimentar (ARM), e normas de qualidade ISO, facilita a comunicação entre fornecedores e autoridades sanitárias (Forsythe, 2013).

O objetivo da segurança alimentar (FSO – Food Safety Objective) e as metas de desempenho (PO – Performance Objective) buscam garantir que os alimentos, quando consumidos, não causem danos à saúde do consumidor. É crucial que a cadeia produtiva alcance esses objetivos sem especificar o método para tal, dado que isso é fundamental para o comércio internacional e para a proteção do consumidor, evitando barreiras comerciais injustificáveis. Esse processo atende a metas de saúde pública que sustentam os princípios de segurança alimentar (ICMSF, 2006). A atividade antimicrobiana visa inibir o crescimento de micro-organismos, tratar ou eliminar infecções e diminuir a presença de patógenos, preservando ao mesmo tempo, a flora microbiana.

No entanto, o uso indiscriminado de antimicrobianos pode levar ao desenvolvimento de resistência. Isso significa que a microbiota pode se adaptar em condições que permitem a sobrevivência mesmo na presença de concentrações antimicrobianas, evidenciando o conceito de dose dependente (Melo, 2012). A atividade antimicrobiana do mel está relacionada a diversos fatores, como sua composição química, a diversidade da flora vegetal, a baixa atividade de água (A_w) e

a presença de fitoquímicos e substâncias voláteis (Silva, 2016). De acordo com Kwakman et al. (2010), o mel contém um peptídeo antimicrobiano conhecido como defensina-1, que atua na proteção da geleia real e do mel contra alterações na microbiota. Este peptídeo também pode ser encontrado em outros tipos de mel.

As propriedades nutricionais e terapêuticas do mel o tornam um produto alimentar valioso, graças à sua diversidade microbiológica e à sua segurança. No entanto, a presença de micro-organismos no mel pode influenciar sua segurança alimentar. Nos intestinos das abelhas, encontramos uma composição que inclui 1% de leveduras, 27% de bactérias Gram-positivas e 70% de Gram-negativas. Um ponto de atenção é a presença de *Staphylococcus aureus*, um patógeno oportunista associado à contaminação humana, que pode causar bacteremia e intoxicação alimentar por estafilococos (Erika, 2017). A ecologia microbiana do mel reflete a biota intrínseca das abelhas, favorecida pela baixa atividade de água (*aw*) de 0,5 a 0,6, alta osmolaridade, além de um pH ácido de cerca de 3,4. O mel é um produto com valor social e econômico, elaborado a partir do néctar de diferentes flores que as abelhas coletam. Dada a sua trajetória no sistema digestivo das abelhas, a contaminação do mel ocorre principalmente durante o processamento e a extração, quando existe manipulação inadequada (Vázquez, 2018). Conforme apontado por Cardoso (2011), as fontes de contaminação do mel podem ser classificadas como primárias, que ocorrem antes da colheita e são mais difíceis de controlar, e secundárias, que podem ser gerenciadas por meio de boas práticas de fabricação (BPF). A Portaria n.º 368, de 4 de setembro de 1997, estabelece requisitos gerais para as boas práticas de higiene e produção de alimentos, enquanto a RDC Nº 275, de 21 de outubro de 2002, aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) aplicáveis aos estabelecimentos industriais de alimentos. Essas normas, juntamente com as listas de verificação das boas práticas, são essenciais para assegurar condições higiênicas-sanitárias adequadas durante o processamento.

Compreender as condições de umidade e temperatura que influenciam o crescimento de micro-organismos no mel é fundamental, pois isso impacta diretamente sua qualidade. A presença de diversas microbiotas, como leveduras, bactérias e formadores de esporos, pode indicar a qualidade sanitária do produto, especialmente em relação a contaminações fecais, como a presença de *E. coli*. Em muitas amostras de mel analisadas, as contagens microbiológicas permanecem abaixo de 100 unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) (Snowdon et al., 1996).

A estabilidade microbiológica do mel é um fator que impede o crescimento de micro-organismos, graças a elementos como o pH ácido, a baixa atividade de água, a alta viscosidade e a elevada concentração de açúcares. Considerado um alimento estável, o mel contém compostos antimicrobianos, como o peróxido de hidrogênio, resultado de sua atividade enzimática. No entanto, a cristalização do mel pode levar a um aumento do teor de água acima de 18%, o que favorece o crescimento de micro-organismos devido à alta concentração de açúcares presentes. As principais bactérias encontradas no mel maduro são *Gluconobacter* e *Lactobacillus*, as quais desaparecem quando a umidade fica abaixo de 18%. Isso pode, por sua vez, favorecer o crescimento de leveduras osmofílicas, resultando na fermentação do mel (Martí, 2018). Alimentos com alta concentração de açúcar são classificados como alimentos de umidade intermediária (IMF – Intermediate Moisture Foods), com teores de água entre 15% e 20%, apresentando valores de atividade de água (*aw*) entre 0,60 e 0,85, o que retarda o crescimento microbiano (Conde, 1999). As leveduras osmofílicas podem causar fermentação no mel, especialmente quando a atividade de

água está elevada, e algumas das bactérias podem ser patogênicas para as abelhas. O crescimento de fungos e leveduras é de grande importância, podendo ocorrer alterações durante o armazenamento (Mungóí, 2008). O gênero *Bacillus* abrange bactérias Gram-positivas em forma de bastonete que têm a capacidade de formar esporos. Existem cerca de 60 espécies com grande diversidade genética, sendo a maioria delas não patogênica (Silva et al., 2017). Os benefícios do mel para os seres humanos dependem de micro-organismos simbióticos, conhecidos como microflora, que favorecem a produção e a absorção de nutrientes essenciais para o nosso organismo, como as vitaminas K e B12, o ácido pantotênico, a piridoxina e a biotina. Além disso, o mel também atua na modulação do sistema imunológico. A microbiota intestinal abriga entre 500 e 600 espécies diferentes de micro-organismos. Devido à alta acidez do estômago, a maioria desses micro-organismos não consegue crescer fora do ambiente intestinal. No intestino, as bactérias são predominantemente aero tolerantes e anaeróbicas facultativas, pois não há oxigênio disponível.

Na produção de mel, as abelhas coletam o néctar e o transformam com a ajuda de enzimas, além de incorporar micro-organismos simbióticos presentes em seu trato digestivo, os quais podem trazer benefícios para a saúde humana e a microbiota. A microbiota humana, por sua natureza estável, necessita da ingestão diária de novos simbiontes para se manter equilibrada.

A bactéria *Gluconobacter oxydans*, por exemplo, demonstra uma impressionante taxa de sobrevivência de 100% em pH 5,0 e 50% após três horas de contato em pH 2,0, além de resistência a 2% de sais biliares. Isso sugere que esse componente pode ser utilizado como probiótico na alimentação. Como o mel é rico em frutose, algumas dessas bactérias têm a habilidade de degradá-la com mais facilidade, sendo conhecidas como ácido láctico frutofílico, pois preferem metabolizar frutose em vez de glicose. No intestino, essas bactérias produzem bacteriocinas que formam uma barreira contra outros micro-organismos e fortalecem o sistema imunológico (Silva et al., 2017).

O mel é um produto saudável composto por carboidratos, como glicose e frutose, água e substâncias aromáticas, cuja composição varia conforme a origem floral, as condições geográficas e a sazonalidade. Ele apresenta diversas funcionalidades e se destaca por suas propriedades benéficas à saúde, como atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes. Essa diversidade complexa confere ao mel uma ação antimicrobiana de amplo espectro contra diversos microrganismos. A eficácia antimicrobiana do mel contra patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, considerados micro-organismos oportunistas, está relacionada ao seu baixo teor de água, alto teor de açúcares, pH ácido e à presença de compostos metabólicos secundários (Júnior et al., 2020).

Produtos naturais como o mel e a própolis, ambos produzidos pelas abelhas, oferecem oportunidades promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos, devido à diversidade química presente em sua constituição. Esses produtos têm sido utilizados há séculos na medicina popular e em civilizações antigas, sendo considerados recursos terapêuticos valiosos. As abelhas transformam o néctar através da evaporação da água e da adição de enzimas, o que possibilita a transferência dos compostos bioativos das plantas de origem para o mel.

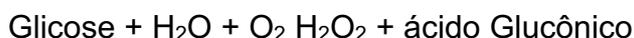
O mel também possui propriedades farmacológicas que despertam interesse em sua potencial aplicação clínica, como ação antioxidante e efeito inibitório sobre cerca de 60 espécies de bactérias, incluindo tanto anaeróbicas quanto aeróbicas, como as Gram-positivas e Gram-negativas. Seu efeito osmótico e baixo pH contribuem para

a ruptura da parede celular bacteriana, além do acúmulo de peróxido de hidrogênio, que intensifica a atividade antimicrobiana do mel.

O mel contém ácido glucônico, além de outros ácidos gerados pela ação da glicose e da enzima glicose-oxidase, oriunda das glândulas hipofaríngeas. Essa combinação resulta em um equilíbrio com a glicolactona, que caracteriza a acidez lactônica do mel. O amadurecimento acontece em decorrência da inversão da sacarose presente no néctar, processo mediado pela enzima invertase.

Além disso, o peróxido de hidrogênio é um agente antimicrobiano amplamente reconhecido, famoso por suas propriedades bactericidas e desinfetantes. Embora sua concentração no mel seja bastante baixa, é considerado eficaz como agente antimicrobiano, contribuindo para a preservação desse alimento natural.

O peróxido de hidrogênio e acidez produzem a seguinte reação:



A atividade microbiana do mel revela-se um promissor agente antimicrobiano, destacando-se como uma alternativa superior a antissépticos e antibióticos (Andrade, 2010). Assim, o objetivo deste estudo é avaliar as condições higiênico-sanitárias do mel orgânico comercial.

2. Metodologia

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 *Escherichia 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, 2007).

$$\text{UFC/g ou mL} = \sum C/V * D * (N1 + 0,1 N2)$$

$\sum C$ =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 inoculo 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 $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ / 48h, 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 (Kanlaya, 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, 2008).

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), incuba-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.

2.2.12 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.

3. Resultados e Discussão

Tabela 1. Representa os resultados obtidos em relação à 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, 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 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).

4. Conclusão

Nos últimos anos, o consumo de mel tem experimentado um crescimento significativo, impulsionado por suas propriedades terapêuticas. No entanto, é importante destacar que o mel pode transportar micro-organismos provenientes de plantas, do solo ou até mesmo de equipamentos utilizados em sua produção. Esses micro-organismos possuem a capacidade de se modificar e multiplicar, o que pode comprometer a segurança do produto. Dessa forma, a realização de controles microbiológicos se torna fundamental para assegurar a segurança alimentar do mel.

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 são 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.

Alcântara, A. L., Cardoso, R. C., de Souza, F. M., & Espinheira, M. J. C. (2019). Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo extraído da cápsula do Eucalipto urograndis: uma contribuição significativa para o ramo farmacêutico. ID on line. Revista de psicologia, 13(43), 455-468.

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

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

Botelho, Marisa Sofia Leandro (2015). Screening da atividade antimicrobiana de extratos de plantas, *Experiência Profissionalizante na Vertente de Investigação, Farmácia Comunitária e Hospitalar*, Covilhã, pag.148.

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.

BRASIL (2000). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. MAPA, Brasília.

CODEX STAN 12 (2001). Codex Alimentarius Commission. Codex Standard for Honey, n.12, rev.2, p.1-8.

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

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

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. (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.

Forsythe, S. J. (2013). *Microbiologia da segurança dos alimentos*. Artmed Editora.

Graziano, G. O., Pizzinatto, N. K., Giuliani, A. C., Farah, O. E., & Neto, M. S. (2006). A certificação de produtores de orgânicos no Brasil: um estudo exploratório. In Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sober (Vol. 1).

ISO 21527-2 (2008). 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. (2007), Microbiologie des aliments-Exigences générales et recommandations.

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

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

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.

Jay James M (2005). Microbiologia de Alimentos. São Paulo: Artmed; p - 712.

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

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

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, Jorhino Zambrano, (2018). Efecto inhibitorio *in vitro* de la miel de abeja sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de heridas superficiales, *Lambayeque-Perú Enero.*

MERCOSUL/GMC/RES Nº 15/94. Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1994-015.pdf. On line. Acesso em: 04 fev 2023.

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.

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.

_____ 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 higiênico-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>.

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

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

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

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

Senasa, (2009). Servicio Nacional de Salud Animal. RTCR 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

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

Vázquez-Quiñones CR, Moreno-Terrazas R, Natividad-Bonifacio I, Quiñones-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C (2018). Microbiological assessment of honey in México. *Rev Argent Microbiol.* 2018 Jan-Mar;50(1):75-80. Doi: 10.1016/j.ram.2017.04.005.

Vela-Santana, S., Tresierra-Ayala, Álvaro, & Delgado Vásquez, C. (2022). Bacteriología de la miel de abeja sin aguijón en Loreto, Perú. *Ciencia Amazónica (Iquitos)*, 10(1-2), 11-26.

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