

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

Camila Médola Conquista

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

BAURU

2022

Camila Médola Conquista

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

Monografia de Iniciação Científica do curso de Biomedicina, apresentado a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação do Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO, sob orientação do Prof. Danilo Antonini Alves.

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com  
ISBD

Conquista, Camila Médola

C743c

Caracterização e avaliação antimicrobiana de amostras de mel  
obtidas nas feiras livres na cidade de Lençóis Paulista/SP / Camila  
Médola Conquista. -- 2022.

30f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves

Monografia (Iniciação Científica em Biomedicina) - Centro  
Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP

1. Mel. 2. Antibacteriana. 3. Análise. 4. Composição. I. Alves,  
danilo Antonini. II. Título.

Dedico esse trabalho ao meu professor, Danilo Antonini Alves, por toda a paciência e parceria, assim como aos meus colegas de laboratório, Isabela Fabbron e Luiz Henrique, que me apoiaram em cada etapa, todos os momentos que passamos juntos estará para sempre no meu coração. A meus pais e familiares, pela força e suporte, obrigada, todo amparo foi de extrema importância para a conclusão desse trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha família, em especial a minha mãe, Carla Médola Conquista, e meu pai, Eduardo Augusto Conquista, por todo o apoio e incentivo para lutar por meu futuro e conquistar a carreira dos meus sonhos com coragem e dedicação.

Eterna gratidão por meu orientador, com o qual aprendi muito, e que me apoiou e acompanhou em todas as etapas do projeto.

Ademais, agradeço também a instituição, Centro Universitário do Sagrado Coração, e aos professores do meu curso pela excelência de ensino e comprometimento com o nosso futuro.

**RESUMO**

O mel é o produto alimentício supersaturado produzido pelas abelhas, mais comumente pelo gênero *Apis*, composta basicamente de glicose e frutose. A substância antes de se transformar propriamente em mel comercial passa por diversas ações enzimáticas para maturação e conservação da mesma, começando logo na captação de néctar pelas abelhas, chegando até os favos na colmeia. O mel é conhecido não só por sua propriedade adoçante e calórica, como também por suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, cicatrizantes, protetor de doenças gastrointestinais e probióticos. Portanto, esse atual projeto busca por 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 de fusão em *Mueller Hinton*, com três bactérias de escolha (*S. aureus*, *P.aeruginosa* and *E.coli*). Diante disso, não foram observadas nas cinco amostras analisadas, características antibacterianas suficientes para as bactérias utilizadas no projeto, porém, é necessário maiores estudos para a comprovação. Ademias, 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.

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

**ABSTRACT**

Honey is a supersaturated food produced by bees, most commonly by the genus *Apis*, being composed of glucose and fructose. Before being 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, reaching the combs in the hive. Honey is known not only for its sweetening and caloric properties, but also for its antibacterial, antifungal, healing properties, protector of gastrointestinal diseases and probiotics. Therefore, this project seeks to analysis physicochemical and antimicrobial properties of samples obtained from street 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 needed to prove it. Physicochemical analysis results indicate that all the samples are safe for consumption, being in accordance considering what is regulated by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

**Keywords:** Honey; Antibacterial; Analysis; Composition.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
1.1 COMPOSIÇÃO DO MEL E PROPRIEDADES FÍSICAS.....	10
1.2 MEL FRENTE ÀS BACTÉRIAS.....	12
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
2.1 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE MEL.....	14
2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	14
<b>2.2.1 pH.....</b>	<b>14</b>
2.2.1.1 MATERIAS.....	14
2.2.1.2 MÉTODOS.....	15
<b>2.2.2 Acidez livre.....</b>	<b>15</b>
2.2.2.1 MATERIAIS.....	15
2.2.2.2 MÉTODOS.....	15
<b>2.2.3 Cinzas.....</b>	<b>17</b>
2.2.3.1 MATERIAIS.....	17
2.2.3.2 MÉTODOS.....	17
2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	17
<b>2.3.1 Cultivo dos microrganismos e plaqueamento.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.2 Cultivo e crescimento bacteriano.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.3 Avaliação da atividade antibacteriana utilizando o método de disco-difusão em poço.....</b>	<b>18</b>
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 DETERMINAÇÃO DO pH.....	20
3.2 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ LIVRE.....	20
3.3 DETERMINAÇÃO DAS CINZAS.....	20
3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	21
<b>4. DISCUSSÕES DOS RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>25</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES



<b>Figura 01</b> - amostras de mel previamente pesadas.....	16
<b>Figura 02</b> - balança analítica.....	16
<b>Figura 03</b> - sistema de determinação de acidez livre: pHmetro, agitador magnético, béquer com amostra, suporte de bureta, buretas com reagentes.....	16
<b>Figura 04</b> - placa de Petri inoculada com a bactéria <i>E. coli</i> , sem crescimento de halo de inibição nos poços de análise.....	21
<b>Figura 05</b> - placa de Petri inoculada com a bactéria <i>S. aureus</i> , sem crescimento de halo de inibição nos poços de análise.....	21
<b>Figura 06</b> - placa de Petri inoculada com a bactéria <i>P. aeruginosa</i> , sem crescimento de halo de inibição nos poços analisados.....	22

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> – Composição média do mel de abelha.....	11
<b>Tabela 02</b> – Tabela de resultados da medição de pH das amostras de mel.....	19
<b>Tabela 03</b> – Tabela de resultados da medição da acidez livre das amostras de mel.....	19
<b>Tabela 04</b> – Tabela dos resultados da acidez livre das amostras de mel.....	20
<b>Tabela 05</b> – Tabela de resultados da determinação das cinzas nas amostras de mel.....	20
<b>Tabela 06</b> - Tabela dos resultados da porcentagem das cinzas nas amostras do mel.....	20

## 1. INTRODUÇÃO

O mel foi um dos primeiros alimentos do homem e praticamente todas as civilizações antigas o utilizaram como alimento e recurso medicinal (SILVA *et al.*,2006). No Egito antigo, o era utilizado como o medicamento mais popular, participando de diversos remédios (COUTO e COUTO,2002 *apud* MENDES *et al.*, 2009). Da mesma forma, na Grécia antiga, o mel foi utilizado como alimento, existindo relatos da utilização como medicamento de cerca de 1500 a.C., participando da composição de prescrições de uso externo e interno (BORSATO, 2008 *apud* GOIS *et al.*, 2013).

Primordialmente, entende-se por mel, o produto alimentício supersaturado produzido por abelhas. Uma vez coletado o néctar nas flores, a substância é armazenada em uma estrutura no corpo das mesmas, e ali, entra em contato com a combinação de duas enzimas: a invertase e a glicose oxidase (SILVA *et al.*,2006).

Segundo ASSAD, *et al.* (2016), o mel nada mais é do que uma solução de açúcares, e para chegar a tal, 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, chamados monossacarídeos, como glicose e frutose. Não obstante, a enzima glicose oxidase transforma uma quantidade de glicose em ácido glicônico, tornando o mel mais ácido para protegê-lo de bactérias. Além disso, já na colônia, essa substancia é depositada em favos para armazenamento e maturação. Ademias, o mel ainda necessita passar por um processo de desidratação, ocasionado por meio da agitação das asas das abelhas sobre os favos de mel, para sua conservação.

No Brasil podem ser encontradas as seguintes espécies de abelhas: *Tetragona claviceps* (Borá), *Tetragonisca angustula* (Jataí), *Melipona subitida* (Jandaíra), *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia) e *Plebéia sp.* (Mirins). Contudo, o mel é produzido principalmente pelas abelhas pertencentes ao gênero *Apis* (BERA *et al.*, 2007). Dessa forma, as abelhas africanizadas trazidas ao Brasil são da espécie *Apis mellifera*, essas são classificadas em: *Apis florea*; *Apis andreniformes*; *Apis dorsata*; *Apis cerana*; *Apis mellifera*; *Apis laboriosa* e *Apis koschevnikov* (ESCOBAR, *et al.*, 2013).

Segundo SILVA, *et al.* (2006), o mel é obtido de duas formas distintas, a partir do néctar das flores (mel floral), e de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos

sugadores de partes vivas das plantas (mel de melato), o produto final do mel de melato e mel floral, é diferente nas suas propriedades físico-químicas.

Segundo VENTURINI, *et al.* (2007), as características do mel floral podem ser alteradas de acordo com algumas características externas, como o tipo da flor, clima, solo e umidade.

Logo, o sabor e o aroma do mesmo são diretamente ligados à cor, quanto mais minerais, mais escuro com sabor e aroma fortes, e quanto menos mineral mais leve e claro 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 *et al.*, 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. Ademais, além de ser um alimento, o mel é também utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas, pelas suas conhecidas ações terapêuticas (SILVA *et al.*, 2006).

### 1.1 COMPOSIÇÃO DO MEL E PROPRIEDADES FÍSICAS

Atualmente, o mel é considerado não somente por suas propriedades terapêuticas, mas também como suplemento alimentar, visto que a análise do mesmo demonstra a enorme riqueza nutritiva dessa substância, incluindo micronutrientes como minerais e vitaminas, essenciais a vida (AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; DUTRA, 2003 *apud* ABADIO FINCO *et al.*, 2008).

Sendo assim, é de conhecimento que a entrada da substância do mel nas células humanas, e na metabolização celular não requer muitas transformações, sendo também muito rápida por 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, com sua produção dependente da disponibilidade e qualidade das flores alvo das abelhas. Visto isso, o produto resultante irá ter características distintas, levando em conta o tipo da flor que o néctar foi retirado, e sua localização geográfica, ressaltando a importância do estabelecimento de padrões e a caracterização regional, considerando a diversidade botânica de cada região (ALVES, 2008; PEREIRA *et al.*, 2003 *apud* GOIS *et al.*, 2013).

Não obstante, o mel é constituído basicamente de açúcares como D-frutose e D-glicose, como também de ácidos orgânicos, enzimas e partículas sólidas coletadas pelas abelhas.

Tabela 1. Composição média 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: USDA.

Dessa forma, alguns testes de propriedades física e químicas de qualidade que podem ser aplicados para o mel são pH, acidez titulável, índice de formol, prova de lund , açúcares redutores, umidade e peso específico, cinzas, hidroximetilfurfural (hmf), condutividade elétrica e análise estatística (SILVA *et al.*, 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<sup>-1</sup>, para o mel floral, e mínimo de 60g.100g<sup>-1</sup>, para o melato ou mel de melato e sua mistura com mel floral; umidade máxima de 20 g.100g<sup>-1</sup>; sacarose aparente para o mel floral máxima de 6 g.100g<sup>-1</sup> e para o melato ou mel de melato e sua mistura com mel floral máximo 15 g.100g<sup>-1</sup>; sólidos insolúveis em água máximo de 0,1 g.100g<sup>-1</sup> ., exceto no mel prensado, que se tolera até 0,5 g.100g<sup>-1</sup> , unicamente em produtos acondicionados para sua venda direta ao público; minerais (cinzas) máximo de 0,6 g.100g<sup>-1</sup> para o mel floral e máximo de 1,2g.100g<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup>.

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.*, 2009). Não obstante, a umidade no mel constitui em um dos componentes de qualidade, podendo influenciar em sua viscosidade, peso específico,

maturidade, cristalização, sabor, conservação e palatabilidade (SEEMANN E NEIRA, 1988 *apud* MARCHINI *et al.*, 2004 *apud* MENDES *et al.*, 2009).

Segundo Veríssimo (1991), o HMF é considerado um indicador de qualidade do mel, portanto, quanto menor for à quantidade desta 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.*, 2009).

Não obstante, 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 Igor Galvão SILVA *et al.*,(2010) , a acidez do mel, proveniente da variação dos ácidos orgânicos causadas pelas diferentes fontes de néctar, por ações de enzimas e bactérias durante a maturação do mesmo, pode contribuir para estabilidade frente ao desenvolvimento de bactérias.

## 1.2 MEL FRENTE ÀS BACTÉRIAS

O mel apresenta baixa microbiota, porém não é estéril e esta suscetível à contaminação pela manipulação errada (GOMES *et al.*, 2005; ALHIND,2005 *apud* MENDES *et al.*, 2009). 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 e SOUZA, 2002 *apud* MENDES *et al.*, 2009).

Adicionalmente, em meio às bactérias, têm se dado importância ao *Clostridium botulinum*, causador do botulismo infantil, doença de origem alimentar, a qual afeta quase exclusivamente as crianças com menos de um ano de idade (SOLOMON e LILLY,2001; ARNON *et al.*,1981 *apud* MENDES *et al.*, 2009). Não obstante, o mel é o único registro de alimento veiculador do agente que causa botulismo infantil (REGAZANI *et al.*, 2008 *apud* MENDES *et al.*, 2009).

Por outro lado, o mel de abelha destaca-se com efeito inibidor contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Bacillus*, demonstrando suas 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 *et al.*, 2013). Ademais, possui propriedades curativas, calmantes, estimulantes e regenerativas de tecidos (SILVA *et al.*, 2006).

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

## **1. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE MEL**

Foram obtidas cinco amostras diferentes de Mel artesanalmente produzidos por produtores locais e comercializados em feiras livres na cidade de Lençóis Paulista/SP.

O primeiro mel artesanal de eucalipto analisado, não constava lote, validade na embalagem e registro no ministério da agricultura, assim como a segunda e terceira amostra de mel.

Ademais, a quarta amostra, que apresenta validade (25/05/23) e lote (H00635) na embalagem, foi adquirida em comercio local, assim como a quinta amostra, também apresentando lote (146/2021) e data de validade (16/03/23).

## 2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

### 2.2.1 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.

#### 2.2.1.1 Materiais

- Béqueres de 50 e 150 mL;
- Proveta de 100 mL;
- pHmetro;
- Balança analítica;
- Espátula de metal;
- Agitador magnético

#### Reagentes

- Soluções-tampão de pH 4, 7 e 10

#### 2.2.1.2 Métodos

Pesou-se 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 que toda a mistura ficar 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.

### **2.2.2 Acidez livre**

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

#### **2.2.2.1 Materiais**

- pHmetro;
- Agitador magnético;
- Balança analítica;
- Espátula metálica;
- Béquer 250 mL;
- Bureta 25 mL;

#### **Reagentes**

- Solução padronizada de hidróxido de sódio 0,05 N;
- Solução de ácido clorídrico 0,05 N;
- Soluções-tampão pH 4 e 7;

#### **2.2.2.2 Métodos**

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. Não obstante, utilizou-se o agitador magnético, 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, adicionou-se nesta 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, titulou-se 75mL de água com hidróxido de sódio 0,05 N (Vb) até pH 8,5

Figura 01 – Amostras de mel previamente pesadas



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 02 – Balança analítica



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 03 – Sistema de determinação de acidez livre: pHmetro, agitador magnético, béquer com amostra, suporte de bureta, buretas com reagentes



Fonte: elaborado pelo autor.

### 2.2.3 Teor de Cinzas

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

#### 2.2.3.1 Materiais

- Cadinho de porcelana;
- Pinça;
- Balança analítica;
- Tripé para bico de Bunsen;
- Mufla;
- Dessecador.

#### 2.2.3.2 Métodos

Uma vez o cadinho identificado, tarou-se o mesmo na mufla por 30 minutos a 550°, e em seguida, foi levado ao dessecador por 30 minutos para resfriar, sendo pesado e anotando o peso da vidraria tarada.

Ademais, pesou-se 10g de mel no cadinho tarado anteriormente, e em seguida, utilizando 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 a mufla por 3 horas, ao dessecador por 30 minutos, e na balança, o material foi pesado e anotando.

## 2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

### 2.3.1 Cultivo dos microrganismos e plaqueamento

Foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC). Estas 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.

### 2.3.2 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).

### **2.3.3 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 feita pelo método de difusão em poço no qual 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, onde se transferiu 20 mL para placas de petri, com auxílio de pipeta de vidro graduada estéril, esse procedimento realizou-se na capela de fluxo laminar.

Com o auxílio de uma alça bacteriológica foi colhida algumas colônias bacterianas em recipientes separados, para suspender em 20mL 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 seja absorvido. Os poços foram feitos na placa com material esterilizado, nos quais se adicionou 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)

## **3 RESULTADOS**

### 3.1 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, foram:

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

Amostras de mel	pH
Amostra 01	4,44
Amostra 02	4,18
Amostra 03	4,79
Amostra 04	4,07
Amostra 05	4,10

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.2 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, foram:

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: elaborada pelo autor.

Branco – 0,1ml

Fator de correção NaOH – 0,98ml

Cálculo –

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

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

V<sub>b</sub> – numero 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;

Deste modo, de acordo com os cálculos, o valor da acidez livre de cada amostra de mel é:

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

Amostras de mel	Acidez livre
Amostra 01	26,78 ml
Amostra 02	35,93 ml
Amostra 03	21,07 ml
Amostra 04	40,34 ml
Amostra 05	30,54 ml

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DAS CINZAS

As cinco amostras de mel foram preparadas e submetidas ao sistema de determinação de cinzas, os resultados obtidos, foram:

Tabela 05 - Tabela de resultados da determinação das cinzas nas amostras de mel.

Amostras de mel	Cinzas
Amostra 01	32,0710
Amostra 02	40,4712
Amostra 03	39,0637
Amostra 04	40,3534
Amostra 05	40,3279

Fonte: elaborada pelo autor.

Cálculo –

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

Deste modo, de acordo com os cálculos, o valor das cinzas de cada amostra de mel é:

Tabela 06 – Tabela dos resultados da porcentagem das cinzas nas amostras do mel.

Amostras de mel	% das cinzas
Amostra 01	0,49%
Amostra 02	0,39%
Amostra 03	0,67%
Amostra 04	0,38%
Amostra 05	0,29%

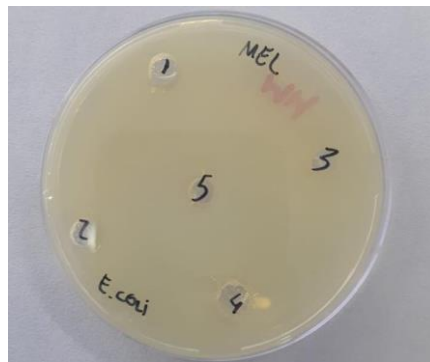
Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.4 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 feitas em numerosas tentativas.

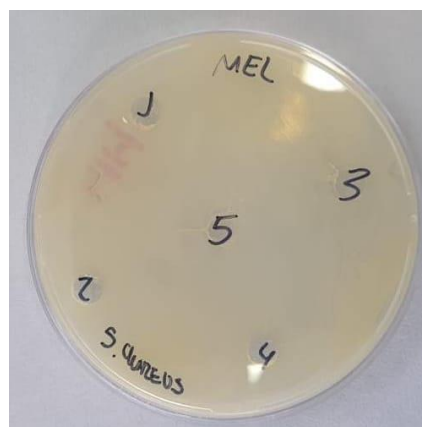
Em algumas tentativas, houve uma leve formação do halo de inibição, porém não foi significativo, sendo assim, foi-se observado que não houve crescimento de halo de inibição, caracterizando essa proporção do mel analisando, insuficiente para funcionar como antimicrobiano nas bactérias estudadas.

Figura 04 – placa de Petri inoculada com a bactéria *E. coli*, sem crescimento de halo de inibição nos poços de análise



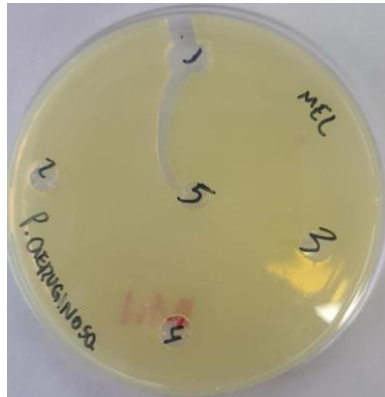
Fonte: elaborado pelo autor

Figura 05 – placa de Petri inoculada com a bactéria *S. aureus*, sem crescimento de halo de inibição nos poços de análise,



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 06 – placa de Petri inoculada com a bactéria *P. aeruginosa*, sem crescimento de halo de inibição nos poços analisados.



Fonte: elaborado pelo autor



#### 4 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o pH ideal para o Mel de abelha deverá ter o valor médio de 3,3 á 4,6, 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.

Nessa presente pesquisa, os resultados obtidos do pH por meio da média das amostras analisadas estão todas dentro do permitido por lei na portaria Nº 6, de 25 de julho de 1985, exceto a amostra número 03, que se encontram com o pH superior do 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) das amostras analisadas estão todos dentro dos parâmetros citados na portaria Nº 11, de 20 de outubro de 2000.

Cláudia Schlabit *et al.*, (2010), demonstra 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, 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, na pesquisa feita nos estados do Nordeste, do mel das abelhas *Apis mellifera*, foi demonstrado 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 á 118,41 meq. Kg<sup>-1</sup> e o valor de cinzas entre 0,02 á 2,67 (RODRIGUES *et al.*, 2013)

Não obstante, foi observado 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 á 3,71, assegurando valores 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 á 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)

Nada obstante, apesar da concentração de mel utilizada na presente pesquisa 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 do mesmo, sendo necessário mais estudos e pesquisas com o Mel.

Laguna (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 mínima, 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, obteve resultados positivos proporcional 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 amostras bacterianas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, obteve-se resultados positivos, 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 *et al.*, 2010).

## 5. 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 mesmo, é fundamental para se asseverar a segurança e eficácia desses produtos.

Desse modo, os resultados físico-químicos obtidos na presente pesquisa, 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, o estudo realizado, apesar de refeito inúmeras vezes para comprovação do resultado final, não obteve dados significativos, o que não descarta a possibilidade de haver alguma característica antimicrobiana no alimento açucarado, sendo necessário um estudo mais avançado e com concentrações diferentes do mesmo 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 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 LUCIA 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](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. Se- ção 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 LUCIA 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; BARBOSA DE LIMA, Cristina aparecida; SILVA, Luzia Trajano; EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana. 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](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.

SOUZA, Florisvaldo 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](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](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl).