

Avaliação da atividade de água e da contaminação por bolores e leveduras em mel comercializado na cidade de São Paulo – SP, Brasil

Assessment of water activity and molds and yeasts contamination in honey traded on São Paulo city -SP, Brazil

RIALA6/1043

Celina Adriana S. DENARDI; Érica Junko NISHIMOTO; Simone C. BALIAN; Evelise Oliveira TELLES*

* Endereço para correspondência: Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 (depto VPS), Cidade Universitária, CEP 05508-031, São Paulo, SP, e-mail: bufalo@usp.br

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Recebido: 20/09/2004 – Aceito para publicação: 17/11/2005

RESUMO

Foram analisadas 60 amostras de mel vendidas em feiras-livres, supermercados e casas de produtos naturais da zona oeste do município de São Paulo, para avaliar a atividade de água – Aa (Aqualab 3TE - Decagon) e a contagem de bolores e leveduras (em ágar batata contendo 2 e 20% de dextrose). A Aa apresentou valor médio de 0,578 e desvio padrão de 0,027, valor mínimo de 0,489 e máximo de 0,661. A contagem de bolores e leveduras apresentou valor mínimo, mediano e máximo, respectivamente de: $<0,5 \times 10^1$; $<0,5 \times 10^1$ e $3,9 \times 10^2$ UFC/g no ágar 2% de dextrose e $<0,5 \times 10^1$; $0,5 \times 10^1$ e $3,9 \times 10^2$ UFC/g no ágar 20%. Não houve diferença significativa entre as contagens obtidas nos meios com 2 e 20% de dextrose, porém houve maior número de amostras com ausência de crescimento no meio 2%. Concluiu-se que 59/60 amostras (98,33%) tinham pouca probabilidade de sofrer fermentação por apresentarem baixas contagens (<15 UFC/g) e/ou Aa ($<0,61$); apenas 1/60 (1,67%) amostra apresentou uma condição potencial de fermentação, com contagem >100 UFC/g e Aa $>0,61$; há necessidade de mais informações sobre a importância da osmolaridade do meio de cultura na quantificação e identificação de bolores e leveduras em mel.

Palavras-Chave. mel, atividade de água, bolores e leveduras, qualidade.

ABSTRACT

Water activity - Aw (Aqualab 3TE - Decagon) and molds and yeasts counting were assessed in 60 honey samples traded on open-air markets, supermarkets and natural products establishments at Western region of São Paulo city. Water activity measures showed a mean value of 0.578, and 0.027 as standard deviation, being 0.489 and 0.661 the minimum and maximum values, respectively. Molds and yeasts counting (performed on culture containing 2 and 20% dextrose potato agar) presented the minimum, median and maximum values of $<0.5 \times 10^1$; $<0.5 \times 10^1$ e 3.9×10^2 CFU/g respectively on 2% dextrose agar, and $<0.5 \times 10^1$; 0.5×10^1 e 3.9×10^2 CFU/g, respectively on 20% dextrose agar. No significant difference in mold/yeast counting on 2 and 20% dextrose agar was evidenced; although high rate of absence of mold and yeast growing was observed onto 2% dextrose agar. In conclusion, 59/60 (98.33%) samples presented low probability for fermenting process, as these honey specimens showed low counts of most and yeast (<15 CFU/g) and/or Aw (<0.61). Of 60 samples, only one (1.67%) showed a potential fermenting condition owing to the counting value of >100 CFU/g and Aw >0.61 . Further studies should be carried out to investigate the culture medium osmolarity for quantifying and identifying molds and yeasts

Key Words. honey, water activity, moulds and yeasts, quality.

INTRODUÇÃO

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel¹, que estabelece requisitos de qualidade, determina 20% o valor máximo permitido para umidade e, embora não estabeleça limite máximo tolerável para bolores e leveduras, define que o produto não pode ter indícios de fermentação.

A Teoria dos Obstáculos de Leistner explica a interação dos fatores que modulam a dinâmica de multiplicação/sobrevivência de microrganismos no alimento, permitindo avaliar a estabilidade e segurança microbiológica do produto².

A importância dessa perspectiva de avaliação está registrada no trabalho de Schweitzer³ que associou o percentual de umidade e a presença de levedura à ocorrência da fermentação no mel; quando a umidade é inferior a 17,1% o produto não fermenta, independentemente do número de leveduras, pois elas não conseguem se multiplicar, mas quanto mais alta a umidade, menor a quantidade de leveduras necessária para a fermentação do produto. Entre 17,1 e 18,0% não haverá fermentação se o número de leveduras for inferior a 1000 por grama de mel, mas se a contaminação for maior, haverá fermentação; entre 18,1 e 19,0% não haverá fermentação se o número de leveduras for inferior a 10 por grama; se entre 19,1 e 20,0% ela não ocorre se o número for inferior a 1 por grama. No entanto, se acima de 20%, sempre haverá risco de fermentação.

Embora a umidade seja o parâmetro oficial adotado para estabelecer a qualidade do mel e haja informações técnicas que correlacione a umidade com o potencial fermentativo do produto, a atividade de água (Aa) é, segundo Franco e Landgraf², o parâmetro que determina a água disponível no alimento para o metabolismo microbiano; a água ligada às macromoléculas, por forças físicas, não está livre para agir como solvente ou para participar de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos.

Quando se fala em quantidade de água no mel, a alta higroscopicidade do produto é uma característica que deve ser considerada. Um ambiente com alta umidade relativa induz a trocas em sua composição⁴, alterando a Aa e, conseqüentemente, favorecendo a deterioração.

Segundo Franco e Landgraf², os valores limítrofes de atividade de água para multiplicação de bactérias halofílicas, bolores xerofílicos e leveduras osmofílicas são, respectivamente, 0,75; 0,65 e 0,61, e o mel varia entre 0,54 e 0,75.

Salamanca et al.⁴ relatam valores entre 0,574 e 0,590 que assegura condição inóspita para atividade microbiana. Montville⁵ afirma que em produtos com Aa menor que 0,60 as principais espécies de leveduras são *Torulopsis famata* e *Saccharomyces rouxii* e de bolores são *Aspergillus echinulatus* e *Xeromyces bisporus*.

Há poucos dados disponíveis na literatura, mas eles mostram que há diferentes níveis de contaminação por bolores e leveduras em méis, desde ausência de crescimento até $5,0 \times 10^3$ UFC/g em Recife, onde *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp foram os gêneros mais freqüentemente

isolados⁶ e de 0,5 a $1,4 \times 10^2$ UFC/g⁷ em São José do Rio Preto.

Talvez por ser um alimento de baixo risco, característica conferida por sua baixa atividade de água/umidade e baixo pH, que determinam um ambiente inóspito para microrganismos, especialmente os patogênicos, associado à ainda baixa taxa de consumo, o mel não tem sido estudado com entusiasmo no Brasil. No entanto, com a crescente procura por produtos naturais percebe-se uma tendência no aumento do consumo do mel e dos produtos que contenham mel ao invés de açúcar e, assim, estudos sobre a estabilidade, ocorrência de fraudes e adulterações desse alimento são necessários.

Esta pesquisa visou determinar a atividade de água e a contagem de bolores e leveduras em méis adquiridos em diversos pontos de venda no município de São Paulo-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre abril e julho de 2003, foram adquiridas no município de São Paulo 60 amostras de mel provenientes de feiras-livres, supermercados e casas de produtos naturais, para análise no Laboratório de Higiene Alimentar da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Bolores e leveduras: uma alíquota de 25 gramas foi homogeneizada em 225ml de água peptonada 0,1% e foram realizadas diluições seriadas e sucessivas até 10^{-5} ; semeadura em ágar batata dextrose 2% e ágar batata dextrose 20% (obtido pela adição de glicose anidra até concentração final de 20%), segundo recomendações do manual “Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos”⁸, e incubação a 25°C/5 dias.

Atividade de água: utilizou-se o Analisador de Atividade de Água Aqualab Serie 3TE- Decagon, seguindo os procedimentos indicados pelo fabricante.

Análise estatística: foram realizados testes de normalidade dos dados (Kolmogorov-Smirnov), pelo pacote estatístico SPSS. Dados com distribuição normal tiveram análise descritiva (média e desvio padrão) e para dados não-normais, foram calculadas a mediana e valores mínimo e máximo, também utilizando o SPSS. Os resultados das contagens nos meios ágar batata dextrose 2 e 20% foram submetidas ao Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Rank Test, usando o SPSS. Para fins de análise estatística, representou-se com o número 0 (zero) os resultados que estavam abaixo do limite de detecção da técnica ($<0,5 \times 10^1$ UFC/g).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores mínimo, da mediana e máximo de bolores e leveduras foram respectivamente: $<0,5 \times 1$, $<0,5 \times 1$, e $3,9 \times 10^2$ UFC/g no ágar batata dextrose 2% e $<0,5 \times 1$, $0,5 \times 10^1$ e $3,9 \times 10^2$ UFC/g no

ágar batata dextrose 20%. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os valores encontrados nos meios contendo 2% e 20% de dextrose. Na Tabela 1 pode-se notar, no entanto, que o meio dextrose 20% revelou melhor desempenho na detecção de amostras com baixa contagem de bolores e leveduras, o que pode ser constatado pela menor frequência de amostras abaixo do limite de detecção. Esse fato poderia ser decorrente da presença de células melhor adaptadas à alta osmolaridade do mel. Sugere-se outros estudos para avaliar o significado dessa observação, especialmente porque a nova metodologia do Ministério da Agricultura, aprovada em agosto de 2003⁹, não mais determina o emprego dos dois meios para quantificar bolores e leveduras em mel.

Nota-se, ainda na Tabela 1, que a contaminação por bolores e leveduras foi > 100 UFC/g em quatro amostras do meio 2% dextrose (e em cinco no meio 20% dextrose); esse grau de contaminação pode levar à fermentação do produto se a umidade for superior a 18%, segundo Schweitzer³. Destaca-se que três dessas amostras excederam 100 UFC/g em ambos os meios empregados.

A máxima contaminação encontrada no presente estudo foi de $3,9 \times 10^2$ UFC/g, registrada nos dois meios. Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Garcia-Cruz et al.⁷, que obtiveram valor máximo de $1,4 \times 10^2$ UFC/g, sendo que 45% das amostras estavam com contagem inferior a 10 UFC/g, mas Barros et al.⁶ registraram valor máximo mais alto, $5,0 \times 10^3$ UFC/g.

A atividade de água apresentou distribuição normal, com os seguintes resultados: média de $0,578 + 0,027$, valor mínimo de 0,489 e máximo de 0,661; ressalta-se que 5 amostras apresentaram Aa acima de 0,61 que é, segundo Franco e Landgraf², o limite mínimo para a multiplicação dos agentes mais resistentes à alta pressão osmótica (leveduras osmofílicas). Os resultados se assemelham aos de Salamanca et al.⁴, que tiveram média de 0,567 + 0,028, com mínimo de 0,512 e máximo de 0,613.

A Tabela 2 mostra os resultados de contagem obtidos nas cinco amostras que apresentaram Aa $> 0,61$. Nota-se que em apenas em uma amostra houve concomitância de Aa superior a 0,61 (0,613) e contagem de bolores e leveduras > 100 UFC/g (140 e 160 UFC/g nos meios com 2 e 20% dextrose, respectivamente).

Em 98,33 % das amostras (59/60), a Aa estava abaixo de 0,61 e/ou o grau de contaminação foi < 15 UFC/g apresentando baixo risco de fermentação, se mantidas as condições de armazenamento em lugar fresco e seco.

Sugere-se estudar a relação da Aa e umidade com a quantificação e identificação de bolores e leveduras no mel.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se depreender que 98,33% das amostras analisadas (59/60) tinham pouca probabilidade de sofrer fermentação, se mantidas as condições de armazenamento em ambiente seco e fresco, por apresentarem contagens de bolores e leveduras < 15 UFC/g e/ou Aa $< 0,61$.

Apenas 1,67% das amostras apresentaram uma condição potencial de fermentação, pois a contagem de bolores e leveduras era > 100 UFC/g e a Aa $> 0,61$.

Há necessidade de mais informações sobre a importância da osmolaridade do meio de cultura na quantificação de bolores e leveduras em mel, bem como a identificação da microbiota.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

Tabela 1. Distribuição das amostras por intervalo de contagem de bolores e leveduras, segundo o meio empregado. São Paulo, abril – julho de 2003.

	< 5 UFC/g	5 — 10UFC/g	10 — 100UFC/g	> 100 UFC/g
Meio com 2% dextrose	35 (58,33%)	11 (18,33%)	10 (16,66%)	4 (6,66%)
Meio com 20% dextrose	27 (45%)	17 (28,33%)	11 (18,33%)	5 (8,33%)

Tabela 2. Resultado das contagens de bolores e leveduras nas amostras de mel que apresentaram atividade de água (Aa) acima de 0,60. São Paulo, abril – julho de 2003.

Aa	Bolores e leveduras (meio com 2% dextrose)	Bolores e leveduras (meio com 20% dextrose)
0,611	< 5 UFC/g	15 UFC/g
0,613	140 UFC/g	160 UFC/g
0,614	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g
0,642	10 UFC/g	< 5 UFC/g
0,661	5 UFC/g	5 UFC/g

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Instrução Normativa n.11, de 20 out. 2000 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: <http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=7797>. Acesso em 9 jun. 2005.
2. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos, 2. ed. São Paulo: Ed Atheneu; 1996.
3. Schweitzer P. Qualidade do mel. Apacame, Disponível em URRL: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/61>. Acesso em: 14 set. 2004.
4. Salamanca GG, Pérez FC, Serra BJA. Determinación de la actividad de agua en mieles colombianos de las zonas de Bocayá y Tolima. Beekeeping. Disponível em URRL: www.beekeeping.com/articulos/salamanca/actividad_agua.htm. Acesso em: 14 set. 2004.
5. Montville TJ. Concepts in physiology and metabolism. In: Food Microbiology Vol. I, 1a. ed. Florida CRC Press, 1987. p.11.
6. Barros GC, Mendes ES, Silva LBG, Oliveira LA. Qualidade físico – química e microbiológica de méis comercializados na grande Recife, PE, Hig Alim 2003, 17, 112: 53-8.
7. Garcia-Cruz CH, Hoffmann FL, Sakanaka LS, Vinturim TM. Determinação da qualidade do mel, Rev Alim Nutric 1999, 10: 23-35.
8. Brasil, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Métodos microbiológicos, Brasília, 1991/1992.
9. Brasil. Instrução Normativa n.62, de 26 ago. 2003. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Disponível em URRL: <http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=2851>. Acesso em: 30 jun. 2005.