

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE MEL ARTESANAL COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS- SP

Sarah Stephanie Paiva Silva¹, Nathália Cristina de Carvalho Sousa¹, Sônia Khouri Sibelino², Anelise Cristina Osorio Cesar Doria¹.

¹Universidade do Vale do Paraíba, Faculdade de Ciências da Saúde/ Centro de Diagnóstico Laboratorial – São José dos Campos-SP, Brasil, sarahpaiva@gmail.com, nathaliac.sousa@hotmail.com, ane.doria@gmail.com

²Doutora em Ciências Biomédicas em Microbiologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas pela Universidade de São Paulo - USP. E-mail: skkhour@gmail.com

Resumo

O mel é um alimento naturalmente resistente à proliferação microbiana em razão de sua baixa atividade de água, entretanto, pode sofrer contaminação decorrente de manipulação inadequada. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de amostras de mel artesanal comercializado em São José dos Campos- SP. Foram analisadas dez amostras quanto à contagem de microrganismos mesófilos, bolores e leveduras, além da identificação de fungos filamentosos por microcultivo. Os resultados demonstraram crescimento de fungos filamentosos em nove amostras, com destaque para os gêneros *Rhizopus spp.*, *Aspergillus sp.*, *Scopulariopsis sp.*, *Histoplasma capsulatum* e *Penicillium spp.* A contagem de bolores e leveduras ultrapassou os limites estabelecidos pela Resolução em cerca de 30% das amostras, caracterizando não conformidade. Conclui-se que o mel artesanal, quando produzido sem adequado controle de qualidade, pode oferecer riscos à saúde do consumidor, reforçando a necessidade de adoção de boas práticas de produção e manipulação, bem como maior fiscalização sanitária para assegurar a segurança alimentar.

Palavras-chave: Mel. Micologia. Contaminação de Alimentos. Microbiologia de Alimentos.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde, Biomedicina.

Introdução

O mel é uma substância naturalmente estável frente à proliferação microbiana, devido à baixa disponibilidade de água livre em sua composição. A água presente no mel encontra-se fortemente associada às moléculas de açúcares, principalmente glicose e frutose, o que restringe sua disponibilidade para os microrganismos. Esse parâmetro é quantificado por meio da atividade de água (aw), que corresponde à fração de água disponível no alimento para reações bioquímicas e crescimento microbiano (Camargo *et al.*, 2006). Os valores de atividade de água (Aw) comuns variam entre 15% e 21%, porém valores acima de 20% podem favorecer a proliferação de microrganismos, fermentando e dificultando a conservação do produto (Ferreira; Souza, 2012).

Os bolores são formados por hifas que originam o micélio. O micélio vegetativo fixa o bolor e absorve nutrientes, enquanto o reprodutivo produz esporos. A multiplicação ocorre por reprodução assexuada, sexuada ou ambos. A aparência das colônias, influenciada pelo micélio, pode ser algodoadas, ressecada, úmida, compacta, aveludada ou gelatinosa, com variadas cores, auxiliando na identificação dos gêneros fúngicos (Franco; Landgraf, 2008).

A portaria número 6 de 25 de julho de 1985 dispõe sobre normas higiênicas-sanitárias e tecnológicas na produção de mel desde a colmeia até a comercialização. Mel comercializado de maneira formal segue as boas práticas recomendadas para produção, dentre elas a higienização previa de todos os utensílios e equipamentos que serão utilizados na manipulação deste mel e a higiene pessoal do funcionário juntamente ao uso do uniforme, normas que corroboram com a redução de contaminações orgânicas e inorgânicas (Brasil, 1985).

Diante desse cenário o presente estudo tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do mel artesanal, uma vez que a ausência de fiscalização sanitária pode comprometer a segurança do consumidor.

Metodologia

Foram coletados 10 frascos de mel artesanal, de diversos estabelecimentos e de produtores rurais nas zonas central, sul, norte e leste, destes, 7 não apresentaram nenhuma descrição de sua origem, composição nutricional e data de validade do produto, 2 apresentaram rotulagem com informação adequada e 1 se apresentou incompleto dentre os méis comercializados no município de São José dos Campos-SP utilizados no presente estudo. As análises foram realizadas em ambiente adequado e seguindo as boas práticas laboratoriais do Centro de Diagnósticos Laboratoriais da Universidade do Vale do Paraíba.

Primeiramente, foi realizada a pesquisa de microrganismos mesófilos, utilizando metodologia adaptada de Silva *et al.* (2017) e realizadas em duplicatas. Foram pesados 5 g da amostra, os quais foram homogeneizados em 45 mL de água peptonada estéril. A amostra resultante correspondeu à diluição inicial 10^{-1} e procedeu-se à diluição 10^{-2} . Após a preparação das diluições, alíquotas de 100 μ L das diluições foram inoculadas em placas contendo meio *Plate Count Agar* (PCA). O plaqueamento em superfície foi realizado utilizando alça de Drigalski descartável, assegurando a absorção e distribuição uniforme da amostra. Foram realizadas análises da amostra pura através da técnica de *Pour Plate* que consistiu em transferir 1g da amostra para a placa de petri estéril, feito isso, foi adicionado o ágar PCA ainda em estado líquido, homogeneizado e aguardado a solidificação, conforme a metodologia adaptada. As placas foram então incubadas a 35 °C por um período de 7 a 15 dias, visando o desenvolvimento das colônias para posterior contagem.

Para bolores e leveduras, 1 g de cada amostra foi pesado e analisado por *Pour Plate* em Sabouraud dextrose ágar (SDA), conforme Silva *et al.* (2017). A amostra foi transferida para placa de Petri estéril, adicionando-se ágar e homogeneizando. Foram feitos dois plaqueamentos por amostra e incubação a 37° C para pesquisa de levedura, por até 72 horas e 25 °C para pesquisa de bolores, por 7 a 20 dias. Após incubação, devido ao crescimento de fungos filamentosos, realizou-se a técnica de microcultivo adaptada de Brasil (2004) para identificação, processo que consiste em cultivar a colônia fúngica em um bloco de ágar Sabouraud em lâmina de vidro, local que favorece a adesão das hifas a uma lamínula que será posteriormente utilizada, juntamente com o corante Azul de Lactofenol (Azul de Algodão) para a visualização das estruturas microscópicas dos corpos de frutificação de cada gênero encontrado, em aumentos de 400X e 1000X ao microscópio ótico comum, para posterior identificação dos gêneros encontrados.

Resultados

Dentre as 10 amostras analisadas, foi observado crescimento de fungos filamentosos em 9 delas, ou seja 90% das amostras evidenciando a presença desses microrganismos no material avaliado, dentre as 9 amostras, 22 colônias foram isoladas e 21 foram identificadas, não tendo sido possível identificar uma das colônias da amostra 5, pois não foi possível realizar a avaliação microscópica, devido a falta de crescimento de estruturas que permitissem a identificação de seu gênero. A identificação fúngica se dá pela avaliação das características microscópicas e macroscópicas. Na figura 1, observa-se como exemplo o verso e o reverso de uma colônia gigante de bolor, amostra 09, que apresentou colônia característica do fungo *Rhizopus spp.*

Figura 1- Avaliação da colônia gigante semeada em meio Sabouraud; A: Reverso; B: Verso



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Dentre os fungos identificados está o *Rhizopus spp.* que foi identificado nas amostras 06, 08 e 09, ou seja, em 30% das amostras e em aproximadamente 27% das colônias isoladas. As imagens

microscópicas evidenciaram estruturas características do gênero como o rizoide, columelas, esporângios em fase de dispersão de esporos e estolão, que podemos observar na figura 2(A).

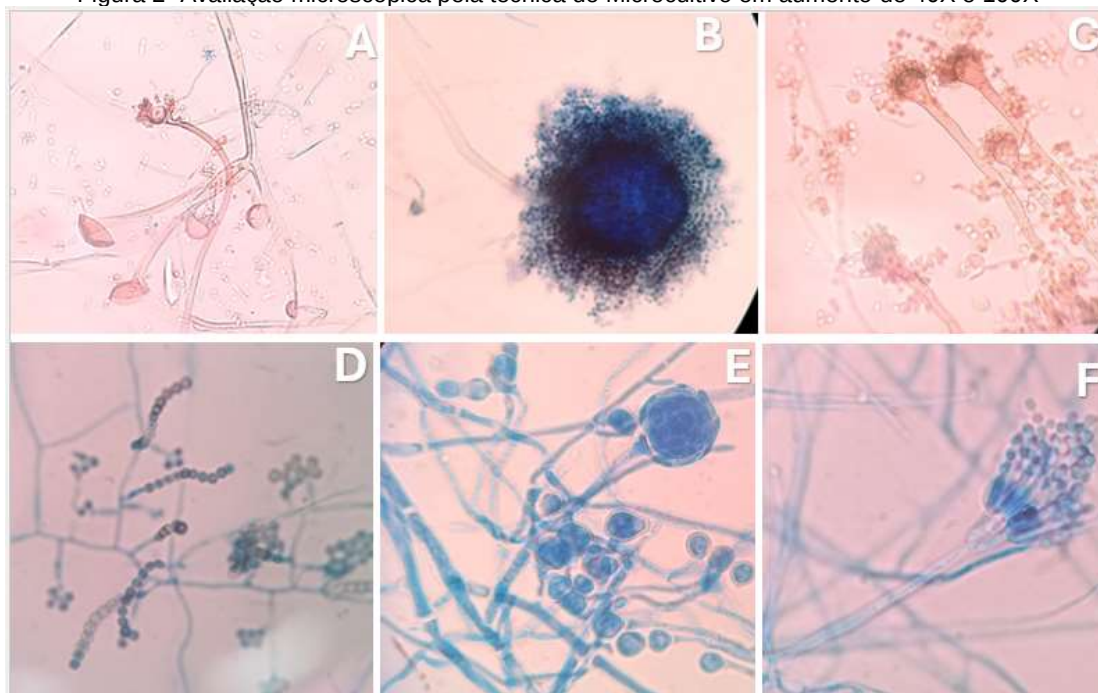
Verificou-se também a presença de *Aspergillus sp.* nas amostras 03, que foi identificada apenas utilizando a microscopia por conta de múltiplo crescimento fúngico na mesma placa, impossibilitando isolamento da colônia e nas amostras 04, 06, 07, 08, apresentando crescimento em 50% das amostras e em aproximadamente 36% das colônias isoladas. O gênero *Aspergillus sp.* é caracterizado por uma estrutura microscópica marcada por uma cabeça radiada ou colunar, podendo ser também bisseriada (apresenta métula) ou monosseriada (apresenta apenas fiáides e conídios), e uma vesícula que pode se apresentar globosa ou espatulada, as características dependem da espécie do gênero, como podemos observar na figura 2(B). Uma das colônias da amostra 01 foi identificada como *Aspergillus flavus* como podemos observar na figura 2(C) pois além das características gerais do gênero essa amostra apresentou uma colônia com pigmentação característica da espécie.

Foi observada a ocorrência também do gênero *Scopulariopsis sp.* em colônias das amostras 01 e 04, ou seja 20% das amostras e em aproximadamente 13% das colônias isoladas. É caracterizado por conidióforos ramificados, cadeia de conídios globosos com base truncada em sucessão basípeta que sai de uma célula especializada chamada anelídeo, como podemos observar na Figura 2(D).

Na amostra 10, ou seja 10% das amostras foi observado a ocorrência de *Histoplasma capsulatum* identificado em aproximadamente 13% das colônias isoladas, o gênero pode se apresentar na forma leveduriforme e filamentosa, na sua forma filamentosa observada foi constatado microconídios e macroconídios com hifas septadas e hialinas, e sua colônia branca e pulverulenta coincidiu com as características do gênero como podemos observar na Figura 2(E).

Observamos também o *Penicillium spp.* nas amostras 05 e 09, ou seja cerca de 20% das amostras e aproximadamente 9% das colônias isoladas. As estruturas características do gênero podem ser observadas na figura 2(F) que apresenta estipe, ramo, métula, filíade e conídio, se apresentando também monoverticilado.

Figura 2- Avaliação microscópica pela técnica do Microcultivo em aumento de 40X e 100X



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Após o crescimento das colônias no *pour plate* foi realizada a contagem de colônias utilizando a fórmula que considera o número de colônias contadas multiplicada pelo fator de diluição multiplicado pelo valor em gramas utilizado na semeadura, após obter esses valores foi realizada uma média de colônias entre as duplicatas como podemos observar na tabela 1.

Tabela 1- Média entre as duplicatas da contagem de Microorganismos Mesófilos e Bolores e fungos de Unidades Formadoras de Colônia por grama encontrada em cada amostra.

Amostra	Microrganismos mesófilos (UFC/g)	Bolores e fungos (UFC/g)
01	0	20
02	0	0
03	1	89
04	10	149
05	7	657
06	0	0
07	0	196
08	0	93
09	0	0
10	1	7

Fonte: Autora, 2025.

Discussão

Dentre as 10 amostras de mel artesanal analisadas, sete apresentaram rotulagem inadequada, em não conformidade com o Regulamento Técnico para a Rotulagem de Alimentos Envasados, o qual estabelece que a embalagem deve conter, obrigatoriamente, informações sobre ingredientes, conteúdo líquido, origem, lote, data de vencimento e, no caso do mel, a advertência de que o produto não é recomendado para crianças menores de 1 ano (Mercosul, 1993).

Gonçalves (2017) e Ferreira e Souza (2012) ressaltam que os microrganismos presentes no mel podem ser tanto por manipulação incorreta do produto, não respeitando as boas práticas, quanto das próprias abelhas que trazem dos locais em que se alimentam, dificultando assim um controle dos contaminantes presentes, por esse motivo faz-se presente a importância de processos de pasteurização do mel, visando diminuir esse risco, porém isso não acontece em produtos artesanais que geralmente colhem o mel e o envasam sem outros processos de controle.

Segundo Martins *et al.* (2004), *Rhizopus sp.*, encontrado em aproximadamente 27% das amostras (seis colônias), está frequentemente associado às mucormicose. De acordo com Brasil (2021), trata-se de uma infecção fúngica oportunista cuja transmissão pode ocorrer pela via digestiva, por meio do consumo de alimentos contaminados, como observado nas amostras 06, 08 e 09.

Conforme mencionado por Bullerman (2003) o gênero *Aspergillus sp.* é um tipo de fungo com importância em alimentos como o mel por estar envolvido na distribuição do produto, na produção de micotoxinas e em processos de fermentação. A presença desses fungos nas amostras de mel artesanal analisadas, 03, 04, 06, 07 e 08, é um indicador de riscos à saúde do consumidor, pois algumas espécies, como o *Aspergillus flavus* como citado por Hocking (2006) e Payne (2016) são capazes de produzir aflatoxinas e ocratoxinas. A exposição crônica a essas toxinas pode causar danos hepáticos e efeitos teratogênicos em humanos. A presença de *Aspergillus sp.* em amostras de mel artesanal reforça a necessidade de maior fiscalização sanitária e a adoção de boas práticas de produção e manipulação para garantir a qualidade e a segurança alimentar. A pasteurização, embora não seja um processo comum para produtos artesanais, poderia ajudar a mitigar os riscos dessa contaminação.

Como citado por Steinbach *et al.* (2004) o gênero *Scopulariopsis sp.* pode ser patogênico e geralmente é isolado do solo, alimentos e materiais orgânicos, cerca de 8 espécies do gênero foram retratadas como patogênicas. No entanto foi mencionado por Paredes *et al.* (2016) que apesar de patogênico o *Scopulariopsis sp.* raramente infecta humanos e está principalmente associado a pacientes imunocomprometidos e infecções localizadas. Portanto, a presença deste gênero pode estar associada à manipulação incorreta por um indivíduo acometido com a infecção ou por contaminação do solo perto da área de coleta.

O *Histoplasma capsulatum* é um fungo saprófito que se alimenta de matéria morta no solo, prosperando em ambientes com altas concentrações de nitrogênio, como solos contaminados com excrementos de aves e morcegos. O Ministério da Saúde, do Brasil, informa que a contaminação geralmente ocorre pela inalação de esporos do fungo presente em locais como galinheiros e pombais (Brasil, s.d). Assim, a presença deste fungo, na amostra 10 do presente estudo, sugere que o local de coleta ou a instalação da colmeia pode ter sido inadequada, indicando a falta de boas práticas de higiene na produção do mel.

O *Penicilium spp.* é um gênero capaz de crescer em ambientes extremos inclusive altas concentrações de açúcar, como no presente estudo, o gênero é geralmente associado a contaminações alimentares e possui espécies capazes de produzir toxinas como Ocratoxinas A, que é listada como provável carcinogênico humano (Classe 2B), Patulina, que causa danos celulares e mutagênicos e a citrinina que é um potencial agente causador de nefropatia endêmica humana, toxinas que também podem ser encontradas no gênero *Aspergillus sp.* que também foi observado no presente estudo. É importante salientar que apesar dos gêneros serem encontrados nas amostras a incidências destas toxinas são incomuns no mel, sendo mais associado a toxina botulínica, produzida pelo *Clostridium botulinum* (Perrone; Susca, 2017).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel do Mercosul, aprovado pela Resolução GMC nº 15/94 (e posteriormente incorporado em legislações internas dos países membros, como a Instrução Normativa nº 11/2000 no Brasil), estabelece critérios claros para a qualidade microbiológica do mel e de acordo como o regulamento as amostras de mel deveriam conter até 100UFC/g de bolores e leveduras o que não foi condizente com as algumas amostras como 04, 05 e 07 que obtiveram resultados entre 149,5 e 657 UFC/g evidenciando que 30% das amostras se mostraram fora do regulamento, enquanto 60% tiveram resultados entre 0 e 93 UFC/g que evidenciou resultados condizentes com os permitidos no regulamento. Segundo Brasil (2021) o mel não possui padrões microbiológicos relacionados a microrganismos mesófilos, pois possui características intrínsecas que geralmente não permitem a proliferação de microrganismos, como a baixa atividade de água, sendo um padrão condizente com os resultados encontrados.

Conclusão

O presente estudo evidenciou que as amostras analisadas de mel artesanal comercializadas em São José dos Campos-SP apresentaram contaminação fúngica significativa, principalmente por fungos filamentosos (bolores) dos gêneros *Rhizopus spp.*, *Aspergillus sp.*, *Scopulariopsis sp.*, *Histoplasma capsulatum* e *Penicillium spp.* Em algumas amostras, a contagem de bolores e leveduras ultrapassou os limites estabelecidos pela Resolução, indicando não conformidade em aproximadamente 30% das amostras analisadas. Esses achados reforçam a necessidade de maior fiscalização sanitária e da adoção rigorosa de boas práticas de produção e manipulação, considerando que a presença desses microrganismos representa riscos tanto de deterioração do alimento quanto de potenciais agravos à saúde do consumidor.

Portanto, conclui-se que o consumo de mel artesanal, embora culturalmente valorizado, pode representar riscos microbiológicos, quando produzido e comercializado sem os devidos cuidados higiênico-sanitários. A implementação de medidas de controle, como processos de pasteurização e boas práticas de manipulação, é essencial para garantir a qualidade e a segurança do produto destinado ao consumo humano.

Referências

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde: edição comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar**. Salvador: ANVISA, 2004.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Padrões microbiológicos**. 4. ed. Brasília, DF: ANVISA, 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 23 out. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985. Aprova as Normas Higiênico-Sanitárias e Tecnológicas para Mel, Cera de Abelhas e Derivados. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 25 jul. 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Mucormicose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/mucormicose>. Acesso em: 10 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Histoplasmose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, (s.d) Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/histoplasmose>. Acesso em: 10 ago. 2025.

BULLERMAN, L. B. Fungi in Food – An Overview. **Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition**. Oxford: Academic Press, 2003. p. 5511-5522.

CAMARGO, R. C. R. *et al.* **Mel: características e propriedades**. 1. ed. Teresina: Embrapa meio-norte 2006. 28 p.

FRANCO, B. D.G. M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu. 2008. p.196.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

FERREIRA, D. C. M.; SOUZA, M. F. F. Contaminação do mel: a importância do controle de qualidade e de boas práticas apícolas. **The Scientific World Journal**, São Paulo, 2012, p. 1-19, 2012.

GONÇALVES, K. D. *Efeitos da fermentação natural sobre os parâmetros físico-químicos do mel de abelha sem ferrão Melipona flavolineata (uruçu-amarela) do Estado do Pará*. Monografia (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

HOCKING, A. D. Aspergillus and related teleomorphs. **Food spoilage microorganisms**. Amsterdam: Elsevier, 2006. p. 451–487.

MARTINS, C. E. J. *et al.* **Atlas de micologia médica**. Ed. 1ª. São Paulo: Manole Saúde, 2004. 212 p.

MERCOSUL. **Resolução GMC nº 15/94: Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Mel**. Buenos Aires: XIV GMC, 3 ago. 1994.

MERCOSUL. **Resolução GMC nº 36/93. Regulamento técnico MERCOSUL para rotulagem de alimentos envasados**. Montevideu, 1993.

PAREDES, K.; *et al.* **Virulence and resistance to antifungal therapies of Scopulariopsis species**. American Society for Microbiology, v. 60, n. 4, p. 2063-2068, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02275-15>.

PAYNE G. A., Mycotoxins and Product Safety. **Peanuts: Genetics, Processing, and Utilization**. North Carolina: AOCs Press, 2016. p. 347- 361.

PERRONE, G.; SUSCA, A. Penicillium species and their associated mycotoxins. In: **Methods in Molecular Biology**. New York: Humana Press, 2017. v. 1542, p. 107–119.

SILVA N., *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água** 5 ed São Paulo Editora: Edgard Blücher, 2017.

STEINBACH, W. J. *et al.* Fatal Scopulariopsis brevicaulis infection in a paediatric stem-cell transplant patient treated with voriconazole and caspofungin and a review of Scopulariopsis infections in immunocompromised patients. **Journal of Infection**, v. 48, n. 2, p. 112-116, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0163-4453\(03\)00134-8](https://doi.org/10.1016/S0163-4453(03)00134-8).