

PROPRIEDADES ANTI-FÚNGICAS DE MEIS COMERCIAIS

Gomes S., Moreira L., Pereira A.P., Rodrigues P., Estevinho L.*

CIMO / Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Santa Apolónia,
Apartado 1 172, 5301-855 Bragança, Portugal.

Tel +351-273-303342 Fax +351-273-325405 e-mail: leticia@ipb.pt

Palavras-chave: mel, actividade anti-microbiana, caracterização

Resumo: A qualidade do mel é determinada principalmente pelas suas características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas.

Este trabalho teve como objectivo a avaliação da actividade anti-fúngica de cinco méis comerciais, adquiridos no mercado Português. Procedeu-se também, à sua caracterização quanto à qualidade comercial e segurança. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas foram, no geral, satisfatórias, uma vez que praticamente todas as amostras apresentavam valores dentro do permitido por lei [1] para os vários parâmetros analisados.

No que diz respeito à actividade anti-fúngica, verificou-se que os diferentes tipos de méis não variaram na capacidade de limitar o desenvolvimento das várias leveduras analisadas. No que diz respeito à resistência das leveduras aos diferentes méis *Zigosaccharomyces mellis* ESA38 e *Zigosaccharomyces rouxii* ESA56 não foram influenciadas pela presença de mel no meio extracelular (concentrações até 50%). A *Saccharomyces cerevisiae* ESA1 e *Zigosaccharomyces bailii* ISA 1307 evidenciaram uma ligeira sensibilidade.

1. INTRODUÇÃO

O mel é utilizado como medicamento à milhares de anos no tratamento de doenças respiratórias, infecções gastrointestinais, queimaduras, feridas infectadas e úlceras [4], [8]. As suas características físicas e químicas conferem-lhe propriedades únicas como agente antimicrobiano efectivo.

Muitos investigadores têm desenvolvido estudos sobre a actividade anti-microbiana do mel, nomeadamente contra bactérias patogénicas resistentes a antibióticos [2] contra bactérias patogénicas envolvidas em algumas doenças [3] contra bactérias alimentares patogénicas [10] e contra bactérias responsáveis pela deterioração de alimentos [7].

A informação disponível sobre a capacidade do mel para inibir o crescimento de leveduras é limitada, não sendo do nosso conhecimento, a existência de estudos sobre a actividade em leveduras fermentativas, que podem representar um problema comum em méis com elevados teores de humidade (> 20%).

O presente trabalho teve como objectivo a avaliação do efeito de cinco méis comerciais, adquiridos no mercado português, no crescimento de leveduras fermentativas. Além disso, efectuou-se a caracterização físico-química e polínica e, avaliou-se a qualidade microbiológica dos méis analisados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras de mel

Foram estudados cinco méis comerciais de diferentes origens florais e geográficas, adquiridos no mercado Português e mantidos à temperatura ambiente até uma análise mais aprofundada.

2.2. Análises polínicas

A análise polínica foi executada seguindo a metodologia descrita por Erdtman [6] com algumas modificações. Os pólenes foram identificados com base numa palinoteca de referência elaborada na Escola Superior Agrária de Bragança (ESAB).

2.3. Análises físico-químicas

Para os diferentes méis foram determinados os seguintes parâmetros: teor em água, de condutividade eléctrica, cinzas, pH, acidez, Hidroximetilfurfural, açúcares redutores, sacarose aparente e índice diastásico. Seguiram-se os procedimentos descritos na NP 1309/1976. Todos os testes foram realizados em triplicado.

2.4. Avaliação microbiológica

As bactérias aeróbias mesófilas foram quantificadas segundo a norma NP-3788: 2002. Na contagem de bolores e leveduras seguiu-se a norma ISO 21527-2:2008. A contagem microbiana foi expressa em unidades formadoras de colónias por grama de mel (ufc / g). Para determinar os clostrídios sulfito-redutores, as amostras após tratamento térmico a 80 ° C, durante 5 min, foram cobertas com meio agarizado SPS (sulfito-polimixina-sulfadiazina) e incubadas a 37 ° C, durante 5 dias. Os coliformes fecais foram enumerados pela técnica do Número Mais Provável [11]. Na detecção da *Salmonella* utilizou-se a norma ISO 6579:2002 (E). Todos os testes foram realizados em triplicado.

2.5. Actividade antimicrobiana

A actividade do mel no crescimento de leveduras fermentativas (*Saccharomyces cerevisiae* ESA1, *Zigosaccharomyces rouxii* ESA56, *Zigosaccharomyces mellis* ESA38, *Zigosaccharomyces bailii* ISA 1307) foi avaliada pelo método de macrodiluição em caldo. Os efeitos induzidos pelos méis no crescimento foram expressos pela concentração necessária para reduzir em 50% a taxa específica de crescimento (IC 50%).

3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1. Análises Polínicas

A análise dos pólenes presentes no mel permite determinar a sua origem floral. Os pólenes identificados e a sua frequência nos cinco méis analisados apresentam-se na Tabela 1. As diferenças mais relevantes entre os cinco méis foram no tipo e quantidade de pólenes presentes. Quatro dos méis estudados são monoflorais. No mel 5, a quantidade de pólen foi muito baixa, não permitindo a sua quantificação. De facto, segundo Maia (1999) admite-se que percentagens de um tipo de pólen superiores a 45% do total de pólenes identificados são suficientes para a denominação de monofloral, existindo, no entanto algumas excepções. Por exemplo, o mel de castanha necessita de possuir 90% de pólen de *Castanea* para ser monofloral, enquanto que, o mel de lavandula apenas necessita de apresentar 15% de pólen de *Lavandula* sp.

Tabela 1 – Caracterização polínica das amostras de mel

Amostra	Origem Geográfica	Polens dominantes (%)
1	Portugal	<i>Eucaliptus</i> sp. (70.7)
2	Portugal	<i>Echium</i> sp. (69.4)
3	Portugal	<i>Citrus</i> sp. (75.6)
4	EU Mix	<i>Lavandula</i> sp. (23.0)
5	Argentina	--- (*)

(*) Quantidade de pólen muito reduzida

3.2. Análises físico-químicas

Relativamente aos critérios de composição química, na generalidade, todos os méis analisados estavam em conformidade com os valores obtidos na Directiva CE 2001/110. No entanto, duas amostras apresentavam níveis de HMF superiores aos permitidos e uma amostra não cumpriu os requisitos legais para açúcares redutores.

3.3. Avaliação microbiológica

No que diz respeito à qualidade comercial (aeróbios mesófilos, bolores e leveduras), sanitária (coliformes fecais) e segurança (clostrídios sulfito-redutores e *Salmonella*) todas as amostras de mel analisadas foram negativas.

3.4. Actividade antimicrobiana

Utilizando a concentração necessária para reduzir em 50% a taxa específica de crescimento (IC 50%) como parâmetro expressivo dos efeitos inibidores induzidos por cinco méis comerciais no crescimento microbiano apresenta-se na tabela 2 uma análise comparativa do comportamento de quatro leveduras fermentativas.

Da análise dos resultados verifica-se que o crescimento das leveduras *Zigosaccharomyces rouxii* ESA56, *Zigosaccharomyces mellis* ESA38 não foi afectado para concentrações de mel no meio extracelular até 50%. Estes resultados podem ser justificados pelo facto destas leveduras terem sido isoladas a partir de mel em trabalhos anteriores efectuados pela nossa equipa de trabalho [5]. *Saccharomyces cerevisiae* ESA1 e *Zigosaccharomyces bailii* ISA 1307 evidenciaram uma ligeira sensibilidade ao mel. De facto, *S. cerevisiae* embora tendo sido isolada de mel, é de todas as leveduras testadas a que suporta concentrações mais baixas de açúcar (a_w óptima 0,89). *Z. bailii* ISA 1307 foi isolada a partir de vinho, o que poderá justificar a sua susceptibilidade aos méis, provavelmente por não estar adaptada às condições de stress encontradas neste produto, nomeadamente, baixo potencial redox e elevada pressão osmótica.

Verificou-se também, que o crescimento das leveduras em estudo não foi influenciado pelo tipo de mel utilizado, apesar de se observarem algumas diferenças entre eles, nomeadamente no que diz respeito ao pH e à acidez. Estes factores são apontados por muitos investigadores como os principais responsáveis pela actividade antimicrobiana. Este facto pode ser explicado pela presença no mel de outros compostos com a actividade biológica, tais como, peróxido de hidrogénio, compostos fenólicos, compostos voláteis.

Tabela 2 - Actividade antimicrobiana do mel contra microrganismos seleccionados (média \pm desvio-padrão, n = 2).

	IC 50 (%)				
	1	2	3	4	5
<i>S. cerevisiae</i>	43,27	> 50	42,71	42,47	43,27
<i>Z. rouxii</i>	> 50	> 50	>50	>50	>50
<i>Z. mellis</i>	> 50	> 50	>50	>50	>50
<i>Z. bailli</i>	48,39	49,23	>50	44,22	46,23

Referências

- [1] - Council Directive 2001/110 relating to honey. Official Journal of the European Communities, 12.1.2002.
- [2] - A. Kumar, R. Kaushik, M.K. Kashyap. *Indian honey: a natural product with antibacterial activity against antibiotic resistant pathogens, an "in vitro" study*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8 (2005) 190-193
- [3] - A. Mulu, B. Tessema, F., Derbie - *In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common huma pathogens*. Ethiop.J.Health Dev., 18 (2004) 107-112
- [4] - C. Basualdo, V. Sgroy, M.S. Finola, Marioli J. M., *Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds*. Veterinary Microbiology 124 (2007) 375–381
- [5] - C. Carvalho, A. Rocha, L. Estevinho, A. Choupina - *Identification of honey yeast species based on RFLP analyses of the ITS region*, Cienc. Tecnol. Aliment. 1, (2005)11-17.
- [6] - G. Erdtman,. *Pollen Morphology and Plant Taxonomy: An Introduction to Palynology*, Brill Archive. (1986) 565 (ISBN 9004081224, 9789004081222)
- [7] - M.A. Mundo, O.I. Padilla-Zakour, R.W. Worobo, *Groeth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honey*. International Journal of Food Microbiology, 97 (2004) 1-8.
- [8] - M. Küçük, S. Kolaylı, S. Karaoglu, E. Ulusoy, C. Baltacı, F. Candan, - *Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia*. Food Chemistry 100 (2007) 526–534
- [9] - M. Maia, P.A. Russo-Almeida, J.O.B. Pereira - *Contribuição para a caracterização do mel da região do Alvão-Marão*. O Apicultor, 39 (2003) 19-23
- [10] - P.J. Taormina, B.A., Niemira, L.R. Beauchat,. *Inhibition activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power*. International Journal of Food Microbiology, 69 (2001) 217-225
- [11] - ISO 4831:2006 - *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -Most probable number technique*
- [12] - ISO 6579:2002(E) - *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.*
- [13] - ISO 21527-2:2008 - *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds*
- [14] - NP-3788:2002 - *Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a contagem de microrganismos a 30 °C*. IPQ, Portugal.