

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

MATUS DA SILVA NASCIMENTO

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE PÓLEN E MEL IN
NATURA ORIUNDOS DA REGIÃO DO LITORAL NORTE ALAGOANO**

Rio Largo, AL
ABRIL/2024

MATUS DA SILVA NASCIMENTO

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE PÓLEN E MEL IN
NATURA ORIUNDOS DA REGIÃO DO LITORAL NORTE ALAGOANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Campus de Engenharia e Ciências Agrárias -
CECA da Universidade Federal de Alagoas -
UFAL, como requisito parcial para obtenção do
título de bacharel em Agronomia pelo sob
orientação da Prof^a. Dr^a. Tania Marta Carvalho dos
Santos.

Rio Largo, AL

ABRIL/2024

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

N244c Nascimento, Matus da Silva

Caracterização microbiológica de amostras de pólen e mel in natura oriundas da região do litoral norte alagoano. / Matus da Silva Nascimento - 2024.

35 f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de conclusão de curso) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2024.

Orientação: Dra. Tania Marta Carvalho dos Santos

Inclui bibliografia

1. Microbiologia dos alimentos. 2. Produtos apícolas. 3. Apicultura - Alagoas. I. Título

CDU: 638.1

FOLHA DE APROVAÇÃO

MATUS DA SILVA NASCIMENTO

CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE PÓLEN E MEL IN NATURA ORIUNDOS DA REGIÃO DO LITORAL NORTE ALAGOANO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Campus de Engenharia e Ciências Agrárias - CECA da Universidade Federal de Alagoas - UFAL, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Agronomia pelo sob orientação da Prof^a. Dr^a. Tania Marta Carvalho dos Santos.

Data da aprovação: 03 / 04 / 2024.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Tania Marta Carvalho dos Santos, CECA/UFAL - Orientadora

Prof^a. Dr^a. Yamina Coentro Montaldo, CECA/UFAL – Examinadora Interna

MsC. Paula Cibelly Vilela da Silva, RENORBIO/UFAL - Examinadora Externa

A Deus, aos meus pais, irmãos e aos meus
amigos...

Pois sem eles eu nada seria...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof.^a Dr. Tania Marta Carvalho dos Santos, por sempre estar perto para me apoiar e motivar.

A minha família, pela força em especial a meu irmão Matias da Silva Nascimento por me ajudar nas mais duras batalhas.

Aos amigos e colegas a quem eu devo muito pelas lições e a companhia ao longo dessa jornada que foi a graduação.

Agradeço também do fundo do coração a UFAL por ter me amparado e acolhido quando tanto precisei, a todos vocês, sou grato!

RESUMO

Os produtos apícolas resultado do trabalho das abelhas da espécie *Apis melífera* como o mel, pólen apícola e a própolis, são valiosas fontes de alimentos e medicamentos bem como fonte de renda para os apicultores. A região do litoral norte do Estado de Alagoas possui grande potencial produtivo apícola, produtos como o mel de mangue e o pólen apícola das palmáceas, extremamente valorizados no mundo. Existe uma preocupação quanto a qualidade e segurança alimentar de produtos de origem animal, dessa forma, objetivou-se analisar o perfil microbiológico de crescimento em amostras de pólen apícola fresco e mel in natura do litoral norte alagoano. Foi avaliado contaminação microbiológica presente nas amostras e quantificados fungos filamentosos e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas, bactérias aeróbias psicotróficas, coliformes totais e coliformes termotolerantes, (*Escherichia coli*), presença de esporos de *Clostridium* e *Salmonella spp.* de mel e pólen. Após análise das amostras de pólen e mel fresco, foi verificado que, não houve presença de *Clostridium*, salmonela, a contagem de bolores e leveduras assim como de bactérias mesófilas e as psicotróficas foram ($< 1.0 \times 10$ UFC), para o grupo dos coliformes totais e termotolerante ($< 3,0$ NMP). Os resultados evidenciaram que as amostras de mel alagoano fresco dos manguezais e pólen das palmáceas do litoral submetidas às análises microbiológicas apresentam excelente padrão de qualidade estando aptas a serem processadas e comercializadas.

Palavras-Chave: Microbiologia de alimentos. Produtos apícolas. Apicultura alagoana.

ABSTRACT

Bee products resulting from the work of bees of the *Apis mellifera* species, such as honey, bee pollen and propolis, are valuable sources of food and medicine as well as a source of income for beekeepers. The northern coastal region of the State of Alagoas has great beekeeping potential, products such as mangrove honey and bee pollen from palm trees, which are extremely valued in the world. There is a concern regarding the quality and food safety of products of animal origin, therefore, the objective was to analyze the microbiological growth profile in samples of fresh bee pollen and fresh honey from the north coast of Alagoas. Microbiological contamination present in the samples was evaluated and filamentous fungi and yeasts, mesophilic aerobic bacteria, psychotrophic aerobic bacteria, total coliforms and thermotolerant coliforms (*Escherichia coli*), presence of *Clostridium* spores and *Salmonella* spp. were quantified. of honey and pollen. After analyzing the pollen and fresh honey samples, it was verified that there was no presence of *clostridium*, *salmonella*, the count of molds and yeasts as well as mesophilic and psychotrophic bacteria were ($< 1.0 \times 10$ CFU), for the coliform group total and thermotolerant (< 3.0 MPN). The results showed that samples of fresh Alagoan honey from mangroves and pollen from coastal palm trees submitted to microbiological analyzes present an excellent quality standard and are suitable for processing and commercialization. **Key Word:** Food microbiology. Bee products. Beekeeping alagoana.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 – Imagem de satélite do local da coleta.	18
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantificação de coliformes totais e coliformes termotolerantes Número Mais Provável (NMP/g).	22
Tabela 2. Presença de Salmonela, amostras de mel e pólen frescos.	23
Tabela 3. Caracterização dos valores em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) de bactérias mesófilas e psicotróficas.	23
Tabela 4. Caracterização dos valores em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) de fungos na forma de bolores e leveduras.	24
Tabela 5. Confirmação de Bacilos Gram positivos das culturas em meio AEY.	24

SUMARIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1.	Abelha e sua importância	12
2.2.	Produtos apícolas	12
2.2.1.	Mel	12
2.2.2.	Pólen apícola	13
2.2.3.	Própolis	13
2.2.4.	Cera	14
2.2.5.	Geleia Real	14
2.2.6.	Apitoxina	14
2.3.	As abelhas <i>Apis melífera</i> africanizada, nascimento da apicultura brasileira	15
2.4.	Apicultura Alagoana	16
2.5.	Os produtos apícolas e Micro-organismos nocivos	17
3.	MATÉRIAS E METODOS	21
3.1.	Coleta e preparação da matéria prima	21
3.2.	Análises microbiológicas para mel e pólen	22
3.2.1.	Estimativa da população de coliformes totais e fecais (termotolerantes a 45o C - E. coli)	22
3.2.2.	Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	23
3.2.3.	Contagem de bactérias aeróbias Mesófilas e Psicotróficas	23
3.2.4.	Bolores e leveduras	23
3.2.5.	Clostridium sulfito redutores	24
3.2.5.1.	Semeadura direta	24
3.2.5.2.	Isolamento	24
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1.	Número Mais Provável de coliformes	25
4.2.	<i>Salmonella spp.</i>	25
4.3.	Bactérias aeróbias Mesofilos e psicotrópicos	26
4.4.	Bolores e leveduras	27
4.5.	<i>Clostridium</i>	27

5.	CONCLUSÃO	29
6.	REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A apicultura é considerada parte da zootecnia que trata especificamente das abelhas com ferrão, sendo uma ciência ou arte ou, ainda, capacidade que o homem tem de criar abelhas de forma racional, no intuito de produzir em menos tempo produtos de melhor qualidade, com menor custo e maior lucro (ROCHA, 2008). Barros (2008) a define como a técnica de criação de abelhas produtoras de mel em colmeias artificiais, utilizando métodos e equipamentos desenvolvidos para melhor explorar as capacidades naturais destes insetos.

Os produtos apícolas resultado do trabalho de milhões de abelhas da espécie *Apis melífera* africanizada proporcionam alimentos e medicamentos de alta qualidade para população, bem como fonte sustento de apicultores em todo país.

O mel é um alimento natural de grande valor agregado, que contém em sua composição açúcares, água, sais minerais e vitaminas, é produzido pelas abelhas que colhem e transformam o néctar encontrado nas flores, é depositado nos alvéolos dos favos, onde o mel amadurece, ficando pronto para o consumo (RIBEIRO, 2019). O pólen apícola é coletado das flores e manipulado pelas abelhas, sendo depois depositado nos alvéolos. É usado para alimentar as larvas e abelhas adultas e graças a seu alto valor nutritivo, é usado como alimento humano em sua forma desidratada (Embrapa, 2007).

O estado de Alagoas, mais especificamente na Região do litoral possui potencial produtivo de produtos apícolas extremamente valorizados no mundo todo como é o caso do mel dos manguezais, o pólen apícola das palmáceas em cima dos quais desenvolve-se esta pesquisa.

Por se tratar de produtos alimentícios de origem animal há uma preocupação constante quanto a qualidade e segurança alimentar do mel e do pólen apícola, a qual evidencia a necessidade dos estudos de caracterização da microbiota presente nos produtos cujos padrões são estabelecidos Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Objetivou-se analisar o perfil microbiológico de crescimento em amostras de pólen apícola fresco e mel in natura dos manguezais do litoral norte alagoano. Também buscou-se avaliar possíveis contaminação e se presentes quantificar bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas, bactérias aeróbias psicrófilas, coliformes totais e coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*), e esporos de *Clostridium* e *Salmonella* spp. de mel e pólen.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Abelha e sua importância

As abelhas são insetos da ordem Hymenóptera que evoluíram de vespas insetívoras e modificaram sua fonte de sustento para se alimentar a partir de então de néctar e pólen dos vegetais. Estimasse que existam mais de 40 mil espécies de abelhas pelo mundo, das quais mais 20 mil já foram descritas, e dessas apenas 2% vivem em sociedade e produz mel (CAMARGO, et al, 2002).

As abelhas desempenham um papel vital como polinizadores de angiospermas, que são as plantas com flores. A polinização realizada por abelhas é essencial para a reprodução e perpetuação de muitas espécies de plantas, incluindo muitas culturas importantes para a agricultura e para os ecossistemas naturais. Cerca de 75% dos alimentos vegetais consumidos pelos seres humanos estão diretamente ligados ao serviço de polinização prestado pelas abelhas (MARQUES, et al, 2015). O papel das abelhas na polinização faz com que seu valor como componente para produção de alimentos e manutenção biodiversidade seja inestimável, visto que sem uma polinização eficaz, a reprodução e produção de frutos e sementes na maioria das culturas teriam suas produções prejudicadas resultando em prejuízos financeiros e escassez de alimentos (BARETA, 2018).

Além de polinizar eficientes, as abelhas produzem matérias primas diversas e extremamente valorizadas comercialmente, são elas mel, pólen, própolis, cera, geleia real e apitoxina, produtos que geram renda e sustento para milhares de apicultores ao redor mundo.

2.2. Produtos apícolas

Apicultura como várias outras culturas na agropecuária tem produtos finais diversos, da criação de abelhas africanizadas são obtidos 6 produtos comercializáveis, são eles mel, pólen, própolis, cera, geleia real e apitoxina.

2.2.1. Mel

Mel é o produto natural elaborado por abelhas a partir de néctar de flores e/ou exsudatos sacarínicos de plantas (ANDRADE, 2017), quando de origem extrafloral o mel recebe nome de melato, produto extremamente rico em antioxidantes. O mel é um produto de fácil acesso amplamente consumido pela população, devido ao seu status de remédio natural, doce e alto valor nutritivo (OKANEKU, 2020). Sua composição, cor, sabor e cheiro variam de acordo com sua origem botânica, porém segundo KHAN (2007), o mel possui cerca de 80% de açúcares em

sua maioria glicose e frutose, esse fato lhe confere um sabor cerca de 25% mais doce que o açúcar a base de sacarose, sendo assim por tanto um substituto de alta qualidade para o açúcar convencional, além disso o mel é munido também de ácidos orgânicos, flavonoides, hormônios, enzimas, água, , sacarose, maltose, sais minerais e vitaminas, seu uso é relatado desde a antiguidade e a cada dia ganha novos mercados consumidores (RIBEIRO, 2019).

2.2.2. Pólen apícola

O pólen é gameta masculino da flor, grãos microscópicos de diversas formas, cores e sabores, localizados nas anteras, extremidades dos estames, de onde é retirado pelas abelhas e levado até à colmeia e depositado nos alvéolos dos favos. O pólen é a principal fonte de proteínas e lipídios para as operárias e larvas (MELO et al., 2009).

O corpo das abelhas é recoberto por finos pelos nos quais o pólen adere quando as abelhas visitam as flores. As abelhas os acondicionam nas patas traseiras, as corbículas. Após estocado nos favos e pela ação de enzimas presentes na saliva das abelhas este pólen estocado sofre algumas transformações e recebe o nome de “pão de abelhas” é essencial para a reprodução das colônias (MORETI, 2006).

O pólen apícola é coletado das abelhas na entrada das colmeias padrão Langstroth com auxílio de coletores de pólen para alvado com tela coletora em acrílico, chamada de trampa, com furos de 4 mm e furos com 4,6 mm de diâmetro, ela faz a retenção de 70% do pólen trazido pelas operarias, a gaveta tem fundo telado em inox permitindo a ventilação do pólen que é derrubado das corbículas das abelhas (MORETI, 2006).

É usado para alimentar as larvas e abelhas adultas, graças a seu alto valor nutritivo, é usado como alimento humana. É vendido seco, misturado com mel, em cápsulas ou tabletes com altíssimo valor agregado (FUNARI et al., 2003).

2.2.3. Própolis

A palavra própolis vem do grego pro e polis, que significa respectivamente, em defesa e cidade ou neste a colmeia. Posteriormente a palavra foi empregada por Plínio em latim para nomear a resina extraída da polpa da árvore, estas que as abelhas utilizam para fortalecer os favos e revestir a entrada em suas colmeias objetivando proteger contra micro-organismos, fechar pequenas fendas e mumificar insetos mortos (PEREIRA, ET AL., 2002).

A própolis é complexa, composta por resinas coletadas pelas abelhas das plantas, varia dependendo de sua origem botânica, os vegetais possuem mecanismos de proteção dos seus órgãos contra infecções, através da produção de uma substância resinosa com potencial antimicrobiano, que impede a putrefacção, à prova de água e com propriedades de isolamento térmico (ALBUQUERQUE, 2021).

2.2.4. Cera

A Cera é uma resina produzida pelas próprias abelhas para a construção de favos, tem aspecto mole e coloração amarelada, excretada, ou secretada pelas glândulas abdominais especializadas das abelhas (ANDRADE, 2017). A cera de abelhas é um produto de valor acentuado na produção apícola, sua qualidade é essencial para o bom desenvolvimento de uma colônia e consequentemente na quantidade e qualidade do mel (BARROS E NUNES, 2017). A cera é um produto versátil, os usos da cera fora do universo apícola vão desde as indústrias de cosméticos e alimentos até seu uso como lustra moveis.

2.2.5. Geleia Real

A geleia real, um produto das secreções das glândulas hipofaríngeas (de consistência aquosa) e mandibulares (de consistência leitosa), localizadas na cabeça das abelhas operárias (Haydak, 1970), é um dos mais valorizados produtos apícolas, sendo produzida por operárias de 5 a 12 dias de idade, denominadas nutrízes. A geleia real, para as abelhas, tem três aplicações: alimentação das larvas das abelhas operárias de até 90 horas de vida larval; alimentação da rainha durante toda sua vida (Wang, 1965); e alimentação das larvas de zangões durante toda a sua fase larvária. De consistência espessa e cremosa com sabor levemente ácida, de coloração esbranquiçada ao amarelo claro e certa transparência, é produzida nas glândulas secretoras, chamadas de hipofaríngeas, mandibulares e salivares, considerada a substância mais completa e concentrada de elementos vitais encontrada na natureza, explicando o tempo de vida prolongado da rainha em relação as abelhas operárias e a capacidade extraordinária de pôr o seu próprio peso em ovos (ANDRADE, 2017).

2.2.6. Apitoxina

Veneno secretado pelas abelhas durante a picada, qual é obtido utilizando-se um coletor de elétrico com placas de vidro, que por meio de pequenos choques estimulam as abelhas a expelirem

a substância que após secagem das placas é raspada e comercializada com valores que ultrapassam os 80 reais o grama para uso na indústria de fármacos e estética (G1, 2016).

2.3. As abelhas *Apis mellífera* africanizada, nascimento da apicultura brasileira

As abelhas europeias da espécie *Apis mellifera* foram introduzidas no Brasil pelo Padre Antônio Carneiro em 1840 vindas da Espanha e Portugal. Em 1845, imigrantes alemães introduziram no Sul do País *Apis mellifera mellifera*. Entre os anos de 1870 a 1880, as abelhas italianas *Apis mellifera ligustica* foram introduzidas no Sul e na Bahia. A dispersão dos enxames dessas espécies europeias no resto do país se deu naturalmente com o passar dos anos, entretanto os apicultores possuíam poucas colmeias manejadas nos próprios quintais, em razão da baixa agressividade, a criação se dava de forma rústica (CAMARGO, 2002).

A produção de mel tinha fins apenas pra consumo próprio das famílias e comunidades porem a partir do ano 1939 o Estado do Rio de Janeiro passou a produzir comercialmente. Em 1950, o setor passou a enfrentar sérios problemas de sanidade devido ao aparecimento de várias doenças e pragas (nosemose, acariose e cria pútrida europeia), levando à redução de 80% da produção apícola no país (PEREIRA; VILELA, 2003).

Em 1956, o professor Warwick Estevan Kerr foi à África, enviado pelo Ministério da Agricultura Brasileiro para trazer rainhas africanas da *Apis mellífera scutella*, subespécie agressiva, mas produtiva e resistente a doenças. Com intenção de pesquisar e comparar a produtividade, rusticidade e agressividade entre as abelhas europeias, africanas e seus híbridos no clima brasileiro, porem a experiência falhou e muitas colmeias enxamearam e se multiplicaram descontroladamente pelo continente americano, a alta agressividade lhe concederam a fama de "abelhas assassinas" sendo consideradas pragas, com campanhas para a sua erradicação inclusive, que levaram vários apicultores a desistirem da atividade. A solução foi distribuir rainhas italianas virgens, que se acasalavam com zangões africanos, obtendo uma prole mais produtiva e menos agressiva (CAMARGO, 2002).

A abelha africanizada é o resultado do cruzamento entre abelhas africanas da subespécie *Apis mellifera scutellata* e abelhas europeias de outras raças, como a *Apis mellifera mellifera* e a *Apis mellifera ligustica*. Esses cruzamentos ocorreram principalmente no Brasil na década de 1950, quando as abelhas africanas foram implementadas para melhorar a produção de mel, mas acabaram cruzando com as abelhas europeias já presentes no país. Como resultado, as abelhas africanizadas,

também conhecidas como “abelhas africanas” se tornaram uma raça predominante no Brasil e em várias outras regiões da América Latina. A *Apis mellifera* é conhecida pelo seu comportamento altamente organizado e social, além disso, as características comportamentais incluem instinto defensivo, organização social, comunicação e migração, comportamento este que pode ser controlado com o uso de técnicas adequadas (ALBUQUERQUE, 2021).

Com a africanização das demais subespécies existentes no país, e daquelas posteriormente introduzidas (*Apis mellifera caucasica* e *Apis mellifera carnica*), houve avanço significativo da apicultura nacional. Após o desenvolvimento de técnicas adequadas de manejo, ocorrido em 1970, a criação de abelhas passou a ser intensamente praticada em todos os estados da federação. Em 1980, foi considerada agronegócio e conquistou produtores em todo o território brasileiro. No ano de 1990, a cultura zootécnica alcançou pequenos e médios produtores que vislumbravam, na atividade apícola, uma maneira de explorar a mão de obra familiar (SOUZA, 2004; SANTOS; RIBEIRO, 2009).

Além das características negativas das abelhas africanizadas, também existem boas qualidades que incentivaram os apicultores a adotá-las, como: As características de alta enxameação contribuíram consideravelmente para povoar novas colmeias e aumentar a população apícola no Brasil; motivaram a fundação de Associações de Apicultores em todo país; foram motivo para a realização de encontros, congressos e surgimento da indústria de materiais, equipamentos e apetrechos para apicultura. As abelhas africanizadas são responsáveis pelo atual sucesso da apicultura brasileira, possuem tolerância a várias doenças que assolam a atividade em todo o mundo, mas não as abelhas africanizadas de modo a causar problemas econômicos sérios no Brasil, o país também conquistou posição de destaque no mercado de exportação mundial (SILVA, 2016).

O elevado potencial apícola de muitos estados brasileiros é referenciado em função da diversidade da flora melitófila, condições edáficas da região que influenciam na vegetação (MARQUES, 2011) e rusticidade às doenças inerentes às abelhas (PAULA, 2008). De acordo com (MARTINEZ; SOARES, 2012), a atividade tem potencial de expandir mais no país. O Brasil possui reservas botânicas e florais que podem proporcionar milhares de toneladas de mel e outros produtos apícola de primeira qualidade, aceito pelos mercados mais exigentes do mundo (WIESE, 1982).

A apicultura é uma das atividades do Nordeste brasileiro que mais tem crescido nos últimos anos, constituindo-se em uma alternativa capaz de elevar o nível socioeconômico dos produtores rurais aproveitando o potencial de diversos biomas onde é possível a produção apícola (SILVA, 2003).

2.4. Apicultura Alagoana

No Estado a apicultura vem sendo praticada desde o final da década de 80 e início da década de 90. Nos primeiros anos devido a abundância de enxames encontrados nas propriedades rurais atividade era desenvolvida de forma artesanal, sem o uso dos equipamentos adequados, muitas vezes fabricados pelos próprios apicultores de forma rudimentar não existia a presença de empresas comercializadoras de insumos, equipamentos e ferramentas apícolas. Na segunda metade da década de 90 a apicultura teve seu início como atividade profissional nos municípios de Marechal Deodoro e Maceió, isso se deu a partir da chegada de linhas de financiamento em bancos e Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) que fomentaram a atividade no estado. A partir dos anos 2000 as relações entre entidades públicas, privadas, pesquisadores, instituições de fomento e pesquisa, entidades de crédito, entidades e representativas dos apicultores se estreitaram constituindo a cadeia de comércio dos produtos apícolas (SOUZA, 2006).

A exploração racional da apicultura representa uma atividade de elevada importância econômica para Alagoas, devido seu grande potencial para produção de mel, pólen e própolis vermelha.

A abundância de pastos apícolas variados, com ênfase para as regiões de caatinga do agreste e semiárido alagoano constitui um potencial altíssimo para produção de mel com características naturais necessárias e suficientes ao seu reconhecimento como orgânico o que lhe proporcionará melhores cotações no mercado, principalmente no mercado internacional (ALBUQUERQUE, 2021).

Em outro extremo do estado temos os biomas mangue e da mata atlântica no litoral que proporcionam a produção de um mel diferenciado com características únicas e alto valor agregado, além das possibilidades da expansão na produção de pólen, devido a extensa área do litoral alagoano com cobertura vegetal de coqueiros, planta decididamente polinífera, responsável por boa parte da produção de pólen das regiões litorâneas Brasileiras. O litoral também propicia a produção pelas abelhas da própolis vermelha dos manguezais (RODRIGUES, 2023).

2.5. Os produtos apícola e os micro-organismos nocivos

A Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000, aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos de Origem Animal, assim como para outros produtos das abelhas, em conjunto com a Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 determinam a tolerância e os padrões, bem como os métodos de quantificação de contaminantes para a sanidade e a qualidade microbiológica dos produtos apícolas, os quais são exigidos pela Anvisa (OKANEKU, 2020).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel - RTIQM não estabelece especificamente padrões microbiológicos para o mel (BRASIL, 2000). Apesar da grande capacidade higiênica das abelhas africanizadas alguns organismos ainda escapam de seu crivo e podem se proliferar, porém substâncias como o mel e a própolis atuam para retardar essas contaminações.

O potencial do mel de impedir o crescimento de várias bactérias deriva, em parte da ação de compostos fenólicos e flavonoides (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010), produzidos pelo metabolismo secundário das plantas que fornecem o néctar base para produção do mel, esses também são responsáveis pelo efeito antioxidante (SILICI; SAGDIC; EKICI, 2010). Outras propriedades do mel que contribuem para sua atividade antimicrobiana são reação enzimática glicoseoxidase, elevada pressão osmótica/baixa atividade de água, baixo pH/meio ácido, baixo conteúdo proteico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, a viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos (TAORMINA et al, 2001).

Com relação às análises de qualidade microbiológica dos produtos das abelhas, os micro-organismos indicadores de qualidade comercial (bactérias aeróbias mesófilas e psicrótróficas, bolores e leveduras), qualidade sanitária (coliformes totais e seu subgrupo que são os coliformes termotolerantes (também chamados fecais) com ênfase para espécie *Escherichia coli*), e de segurança (esporos de *Clostridium sulfito* redutores e *Salmonella* spp.) (BARBARA et al, 2018).

O grupo dos micro-organismos mesófilos, engloba grande parte das bactérias acidificantes, se multiplicam em temperaturas moderadas, entre 20 e 40 °C, sua presença em altos números sugere falhas nos métodos de higiene sendo indicadores da qualidade produto (Barbosa, 2020). Segundo Silva (2002) Um indicador direto da qualidade do alimento, ou do processamento ao qual ele foi submetido é a quantidade de micro-organismos aeróbios mesófilos encontrados no mesmo.

Dessa forma, a contagem dessas bactérias permite saber também a provável vida útil do produto e se ele está sendo armazenado em temperatura correta.

Santos (2001) descreve as bactérias aeróbias psicotróficas como o grupo que apresentam temperaturas de crescimento abaixo de 7 °C, temperatura na qual o pólen é conservado no período que antecede o beneficiamento. O tempo prolongado de armazenagem em temperaturas de refrigeração favorece o crescimento e predomínio de bactérias psicotróficas (BOOR et al., 1998).

As leveduras ocorrem naturalmente no mel com exceção das leveduras osmofílicas, causando fermentação quando agem sobre a glicose e frutose, formando álcool e gás carbônico, o álcool, na presença de oxigênio, pode ser desdobrado em ácido acético e água, alterando o sabor original do produto.

Segundo (ROLIM, 2018) os fungos filamentosos (bolors) não se reproduzem no mel, porem podem correr no pólen, o fato de serem frequentemente encontrados, indicando possível contaminação ambiental. Alguns produzem micotoxinas, sendo *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicilium* e *Saccharomyces* predominantes.

Coliformes totais são encontrados geralmente no solo ou vegetais, que são encontradas em fezes são consideradas termotolerantes, onde a mais estudada é *Escherichia coli*, sendo micro-organismo indicador de contaminação durante a manipulação no processamento, produção ou armazenamento (Franco; Landgraf, 2008). Mesmo estando presente, a identificação de *E. coli* remete um risco baixo de toxinfecção, depois do consumo do mel (Pereira et al., 2007).

A *Salmonella* spp. são bactérias gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam endósporos e possuem forma de bastonetes curtos. Elas fermentam a glicose produzindo gás e ácido (BRASIL, 2011). A composição do mel e do pólen é favorável ao desenvolvimento de *Salmonella* spp. (ROLIM et al., 2018). As bactérias do gênero *Salmonella* estão amplamente distribuídas na natureza (VARNAM & EVANS, 1991). Está presente em todas as espécies animais, especialmente nas aves e nos suínos, sendo patogênica para humanos e muitas espécies de animais (HOLT et al., 1994). A Salmonelose, patologia causada pela *Salmonella*, é apontada como a zoonose mais disseminada do mundo (BRASIL, 2011).

O *Clostridium botulinum* comumente encontrado no solo e nas águas, é uma bactéria do tipo bacilar, reta ou semi-curva, Gram-positiva, esporulada, móvel, anaeróbia estrita (SILVA, 2013). O *C. botulinum* é uma espécie de bactéria que pode acarretar perigo à saúde em especial de

crianças menores que 1 idade, devido ao risco de intoxicação pela ingestão da neurotoxina causadora do botulismo produzida durante o crescimento do micro-organismo no estômago, favorecido pelo pH. Os esporos do *C. botulinum* estão frequentemente distribuídos na natureza e podem ser carregados às colmeias, presos às asas e patas das abelhas, ou através da força dos ventos (Ragazani, 2008). O mel é uma fonte potencial de transmissão do botulismo (SILLOS; FAGUNDES, 2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia do Campus de Engenharia e Ciências Agrárias – CECA/Universidade Federal de Alagoas UFAL.

3.1. Coleta e preparação da matéria prima

As coletas foram realizadas no Apiário Cana brava (Coordenadas: -9.031988,-35.235348) localizado no município de Maragogi, extremo norte litoral alagoano, as amostras foram acondicionadas em potes de vidro estéreis no caso dos favos e sacos plásticos virgem para o pólen, e posteriormente levadas para o Laboratório de Microbiologia.

Figura 1 – Imagem de satélite do local da coleta (Apiário Cana Brava).



Fonte: Imagem extraída do software Google Earth® 2 de fevereiro de 2024.

As amostras de mel in natura corresponderam a favos de mel, coletados em diferentes colmeias do tipo Langstroth de forma aleatória no apiário, cada amostra foi correspondente a 100g, sendo coletado 3 amostras para cada enxame em 3 enxames diferente.

O pólen apícola fresco foi obtido, utilizando coletores de pólen modelo Langstroth esterilizados com chamas através de um maçarico, as amostras foram coletadas das mesmas colmeias que os favos, pesando 100g cada amostra, de forma similar ao mel foram recolhidas 9 amostras, para uma melhor amostragem dos dados para ambos ocorre a mistura e homogeneização

das amostras, constituindo assim uma amostra composta para as diferentes análises posteriormente realizadas.

3.2. Análises microbiológicas para mel e pólen

As análises microbiológicas foram realizadas seguindo a metodologia descrita nas normas internacionais (DOWNES; ITO, 2001) para cada grupo de micro-organismo, metodologia do Manual de microbiologia de alimentos (SIQUEIRA, 1996) e metodologia para controle microbiológico de alimentos do International Commission Microbial, Specification for Foods – ICMSF (1992).

Foi realizada a contagem padrão de bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, esporos de Clostrídios sulfito redutores e *Salmonella spp.* e pesquisadas as presenças de coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C nas amostras. Uma alíquota de 25,0 g das amostras de mel e pólen foi tomada para preparação da primeira diluição (10^{-1}) em 225,0 ml de água peptonada tamponada 0,1% ou solução salina a 0,85% e as preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos contendo 9,0 ml do mesmo diluente para obtenção das concentrações 10^{-2} e 10^{-3} .

3.2.1. Estimativa da população de coliformes totais e fecais (termotolerantes a 45o C - E. coli)

Foram pesadas 25g da amostra e adicionada em erlenmeyer contendo 225 ml de água peptonada a 0,1%, sendo agitada, constituindo a diluição 10^{-1} e então procedeu-se pipetando as demais diluições de forma seriada para se obter as amostras (10^{-2} , 10^{-3}), logo após, realizou-se o teste presuntivo, onde transferiu-se 1 ml para tubos, contendo um tubo de Durham invertido e 9 ml de caldo Lauril (LST), em triplicatas para as três diluições.

Para realização do teste confirmativo, transferiu-se uma alíquota, dos tubos que apresentaram formação de gás dentro do tubo de Durhan, para tubos contendo meio Verde Brilhante, por 24h a 37 °C, com a finalidade da identificação de coliformes totais. Para confirmação de coliformes termotolerantes, transferiu-se uma alíquota para tubos contendo meio EC, por 24h a 45 °C.

A confirmação do teste é indicada pela turvação dentro do tubo de Durhan, para maior certeza em caso de resultados positivos referentes aos coliformes termotolerantes, foram

inoculados 0,5 ml em placas contendo meio EMB Agar (lactose-bile-verde brilhante 2%), o crescimento de colônias com reflexo verde metalizado, indica a presença de *E. coli*. Os valores serão calculados a partir da tabela de Número Mais Provável, fornecida pela FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION), expressados em UFC/g ou ml, seguindo as recomendações da instrução normativa N°62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001).

3.2.2. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Seguindo o padrão, foram adicionados 25 g da amostra em erlenmeyer com 225 ml de Caldo Lactosado e homogeneizados para se obter a diluição 10^{-1} , com a finalidade do Pré-enriquecimento a 37°C por 1 hora. Para o Enriquecimento seletivo, inoculou-se 1 ml em um tubo contendo 9 ml de Caldo Tetrationato, e 1 ml em um tubo contendo Caldo Selenito Cistina, por 24 h a 40 °C. Após a incubação, foram realizadas estrias em meio ágar Hektoen (HE) e *Salmonella* Shigella Agar (SS), a formação de colônias vermelhas ou rosadas com centros pretos indica a possível presença de *Salmonella* sp.

3.2.3. Contagem de bactérias aeróbias Mesófilas e Psicotróficas

Para caracterização de bactérias mesófilas e psicotróficas, foi realizada a diluição seriada das amostras de 10^{-1} até 10^{-6} , pipetou-se 1 ml em placas contendo meio PCA (Agar Padrão para Contagem) das 6 fases de diluição, as quais foram incubadas de forma invertida a 37° C por 48 h para as mesófilas e a 7° C para as psicotróficas com 3 repetições, ao término do tempo, realizou-se a contagem seguindo as recomendações da instrução normativa N°62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003), os valores foram expressados em UFC/g.

3.2.4. Bolores e leveduras

Para determinação dos bolores e leveduras, pipetou-se 1,0 ml das amostras previamente diluídas em solução salina a 0.85%, tanto na diluição 10^{-1} , como nas 10^{-2} e 10^{-3} , em placas contendo meio BDA - Batata, Dextrose Agar, procedendo-se com incubação das placas invertidas por cinco dias a 25° C.

A formação de colônias com características semelhantes aos bolores e/ou leveduras, indica a presença dos mesmos nas amostras. O procedimento foi realizado em triplicata, para melhor verificação dos resultados.

3.2.5. Clostrídios sulfito redutores

3.2.5.1. Semeadura direta:

Foram adicionados diretamente 10g do mel e pólen em erlenmeyer contendo 90 ml de Caldo de Carne Cozida CMM (Cooked Meat Medium) e incubados em banho-maria a 65°C por 30 minutos, com a finalidade de inativar a microbiota não esporulada. As amostras foram incubadas em estufa a 35° C por um período de sete dias.

3.2.5.2. Isolamento:

Após sete dias de incubação em estufa foi verificado no meio: a turbidez, produção de gás e proteólise (digestão da carne). As culturas com crescimento não significativas foram incubadas na estufa na mesma temperatura utilizada anteriormente por mais três dias, completando um período máximo de dez dias. As culturas ainda sem crescimento foram consideradas negativas e descartadas.

Das amostras positivas foram feitos esfregaços corados pelo método de Gram, para detectar bacilos Gram positivos esporulados ou não. As culturas positivas foram semeadas em placas de Petri contendo Anaerobic Egg Yolk Agar (AEY) e incubadas em anaerobiose em Jarra de anaerobiose a 35° C por sete dias. As colônias típicas obtidas foram reestriadas em duplicata em placas contendo meio de AEY, na qual uma de cada incubada aerobicamente e anaerobicamente em Jarra de anaerobiose, ambas a 35°C por 48 horas. Posteriormente procedeu-se com a coloração de Gram das lâminas feitas com as placas para detectar bacilos Gram positivos e confirmação da presença de clostrídios.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Número Mais Provável de coliformes

Todas as amostras de mel apresentaram resultados negativos para presença de coliformes totais a 35 °C por 24 horas e termotolerantes a 47 °C por 24 horas, bem como as amostras de pólen fresco, não havendo formação de gases nos testes presuntivos com todos os resultados correspondendo a um valor (< 3 NMP/g). Ausência de termotolerante por sua vez também indica a ausência da bactéria *Escherichia coli*. Em trabalhos realizados microrregião de Ribeira Do Pombal na Bahia em 2012 Almeida et al. obtiveram resultados idênticos nas análises coliformes totais e coliformes termotolerantes do pólen. Em geral, micro-organismos indicadores, como o grupo dos coliformes, são utilizados para avaliar a sanidade dos produtos (SILVA et al., 2008).

Tabela 1. Quantificação de coliformes totais e coliformes termotolerantes Número Mais Provável (NMP/g).

Amostras	Coliformes 35 °C (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
Mel fresco	< 3 NMP/g	< 3 NMP/g
Pólen fresco	< 3 NMP/g	< 3 NMP/g

Okaneke et al. em 2020 obteve resultados de coliformes totais e termotolerantes < 3 NMP/g para amostras de mel produzida por apicultores de Rorainópolis-RR, caracterizando esse resultado como um produto seguro para alimentação humana.

Inversamente aos resultados obtidos na presente pesquisa os valores obtidos por Lima em 2011 para o mel processado obtidos no mercado público de Maceió variaram de 3 a 24×10^3 NMP/g por grama de mel, muito acima do recomendado para coliformes totais e termotolerantes no mel, atribuindo tais valores as condições inadequadas de higiene na colheita e processamento do mel.

5.2. *Salmonella* spp.

Após as etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento não houve crescimento em nenhuma das amostras contendo os meios seletivos para salmonela para ambos os produtos nas três diluições. Em pesquisas realizadas na Universidade Federal do Amazonas por (OKANEKU

2020) os resultados de salmonela para 25 g de mel foram ausentes, cujo resultado condiz com a determinação exigida pela Anvisa.

Tabela 2. Presença de Salmonela, amostras de mel e pólen frescos.

Amostras	<i>Salmonella spp.</i>
Mel fresco	Ausência
Pólen fresco	Ausência

Barbara et al. (2018) analisou pólen fresco de abelhas sem ferrão na Bahia obtendo resultados similares para presença de salmonela nas amostras, indicando a capacidade das abelhas de conservar o produto em condições higiênicas para o consumo das mesmas. De forma similar Nicolai e Junior em pesquisa realizada 2012 com pólen obtidos em três estados diferentes não foi detectada a presença de *Salmonella spp*, apesar da constatação relatada por ele da dificuldade em capacitar os apicultores sobre as Boas Práticas de Apícolas (BPA's) e de fabricação (BPF's).

5.3. Bactérias aeróbias Mesófilos e psicotrópicos

Tanto para o pólen como para o mel dos manguezais foram constatadas ausência de bactérias mesófilas e psicotrópicos não havendo crescimento de colônia no meio Ágar Padrão para Contagem. As propriedades antibacterianas do mel corroboram esse resultado, característica que possibilita a longa vida de prateleira do produto (CRANE, 1999).

Almeida 2012 em seu trabalho com pólen do litoral baiano obteve resultado negativo para a presença de bactéria psicotrificas evidenciando a qualidade do pólen das palmáceas.

Tabela 3. Caracterização dos valores em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) de bactérias mesófilas e psicotróficas.

Amostras	Mesófilos (UFC/g)	Psicotróficas (UFC/g)
Mel fresco	<1,0x10 UFC/g	<1,0x10 UFC/g
Pólen fresco	<1,0x10 UFC/g	<1,0x10 UFC/g

A quantificação de bactérias aeróbia mesófilas é um parâmetros de qualidade comercial apesar de haver um código alimentar brasileiro vários autores se baseiam no argentino, que

determina valores máximos de 150×10^3 UFC/g e mínimo 102 UFC/g para pólen apícola, e que embora a presença de micro-organismos mesófilos não esteja associada ao risco à saúde dos consumidores, são alimentos que não suportem um longo tempo de armazenamento in natura, podendo assim acarretar prejuízos econômicos (BARBARA, 2018).

5.4. Bolores e leveduras

Apesar da grande umidade nas amostras de pólen apícola frescas e a rusticidade do mel in natura nos favos, 100% das amostras resultaram em negativo para a presença de colônias de fungos na forma de bolor ou levedura.

Tabela 4. Caracterização dos valores em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) de fungos na forma de bolores e leveduras.

Amostras	Bolores e Leveduras (UFC/g)
Mel fresco	<1,0x10 UFC/g
Pólen fresco	<1,0x10 UFC/g

As leveduras podem crescer no mel por tolerar as condições ácidas e níveis altos de sacarose, enquanto que as leveduras osmofílicas crescem quando a pressão osmótica é alta, inclusive no mel maduro, ocasionando a fermentação do mel, o crescimento da levedura convertendo o açúcar em álcool, gás carbônico, ácidos orgânicos e outras combinações com sabores e odores indesejáveis (LAIS, 2011). A ausência de tais micro-organismos no mel de mangue torna-o ainda mais saboroso e suave, característica que faz dele um dos mais raros do mundo.

5.5. Clostridium

Tabela 5. Confirmação de Bacilos Gram positivos das culturas em meio AEY.

Amostras	Anaerobiose	Aerobiose
Mel	Ausência	Ausência
Pólen	Ausência	Ausência

De forma similar a atual pesquisa Moraes em 2021 em sua pesquisa desenvolvida na Universidade Federal campus Macaé no litoral do Rio de Janeiro obteve ausência de esporos de clostridium em amostras de mel litorâneo.

A pesquisadora (ORVALHO, 2023) da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar (ESTM) testou a presença de clostridium em amostras de pólen apícola submetidos a 3 formas de conservação, sendo elas frio, liofilização e desidratação e em todas elas não ocorreu presença de clostridium sendo a contagem $<10^1$ UFC/g. Em sua pesquisa (NICOLAI, 2012) também não evidenciaram presença de micro-organismos maléficos a saúde dos consumidores em amostras de pólen apícola, estando assim aptas para comercialização.

As técnicas de boas práticas de fabricação aliadas as características de comportamento higiênico por parte das colônias de abelhas africanizadas, característica essa que é desejada pelos apicultores por proporcionar mais longevidade e saúde ao enxame, explicam a ausência de contaminação no mel e pólen.

6. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram que as amostras de mel alagoano dos manguezais e pólen fresco das palmáceas do litoral submetidas às análises microbiológicas apresentam excelente padrão de qualidade estando aptas a serem processadas e comercializadas, visto que apresentaram ausência de contaminação por bactérias mesófilas e psicotróficas, bolores e leveduras, bactérias do grupo dos coliformes totais e termotolerantes, salmonela e clostrídios sulfito redutores segundo os padrões do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA .

Como uma opção para complementação dessa pesquisa se faz necessário um estudo mais aprofundado a fim de verificar da influências das estações do ano na qualidade microbiológica dos produtos mel e pólen produzidos nos mangues do litoral alagoano a fim de confirmar a permanência dos resultados obtidos.

7. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, K. S. P.; TONHOLO, J. PROPOLIS VEMELHA DE ALAGOAS UMA OPORTUNIDADE DE NEGÓCIO SUSTENTAVEL. 45 f. Dissertação (mestrado em Tecnologias ambientais) – IFAL, Campus Marechal Deodoro, Marechal Deodoro, 2021.
- Almeida, A. M. M. et al. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE PÓLEN APÍCOLA DA MICRORREGIÃO DE RIBEIRA DO POMBAL, BAHIA, BRASIL. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju – Sergipe, 2012.
- Alvarez-Suarez, J. M. et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several mono floral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. Food and Chemical Toxicology, v.48, n.8-9, p.2490-2499, 2010.
- ANDRADE, J. R. Dicionário de Apicultura. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais – PPGSA, UFCG, 2017.
- Apicultores faturam R\$ 80 para cada 1g de pó de veneno de abelha vendido. G1, 2016. Disponível em: <<https://g1.globo.com/pi/piaui/noticia/2016/03/apicultores-apostam-no-veneno-de-abelha-para-industria-farmaceutica.html#:~:text=Se%20for%20vendido%2C%20o%20valor%20pode%20passar%20do%20R%24%20300>> URL. Acesso em: 31, jan 2024.
- Bárbara, M. F. S.; et al. Caracterizações microbiológica e físico-química de pólenes armazenados por abelhas sem ferrão. Brazilian journal of food technology, Campinas, v. 21, e2017180, 2018.
- BARBOSA, V. T. Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado de silos de estocagem em laticínios do estado de Goiás. Dissertação de Mestrado: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiana, 2020.
- BERRETA, A. A. A Importância das Abelhas Polinização, Biodiversidade, Meio Ambiente. APACAME, n.146, 2018. Disponível em <<http://apacame.org.br/site/revista/mensagem-doce-n-146-maio-de-2018/artigo/>> Acesso em: 05 dez 2018.
- BOOR, K.J., BROWN, D.P., MURPHY, S.C., KOZLOWSKI, S.M., BANDLER, D.K. Microbiological and chemical quality of raw milk in New York State. Journal of Dairy Science. v. 81, p.1743-1748, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Mapa. Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União – DOU.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 60 p. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-diarreicasagudas/manual-tecnico-de-diagnostico-laboratorial-das-salmonella-spp.pdf/view>>.

Brasil. Instrução Normativa nº 11, de 20/10/2000. Padrão de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 janeiro 2001.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 11 de 20 de Outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 20 de Outubro de 2000. Seção 1, p. 16 e 17.

CAMARGO, R. C. R. ; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R. Produção de mel – Teresina: Embrapa meio-norte, 138p, 2002.

CRANE, E. E. The World History of Beekeeping and Beehunting. 1999.

DOWNES, F. P., ITC, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.

FONSECA, Luis Fernando Laranja da; SANTOS, M. V. Importância e efeito de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, SP, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FUNARI, S.R.C. et al. Composições bromatológica e mineral do pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, v.11, n.2, p. 88- 93, 2003.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A.; WILLIAMS, S.T. Berger Manual of determinative bacteriology 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.

LIMA, R. S.; et al. Contaminação microbiológica em mel de abelhas (*Apis mellifera*) não inspecionado comercializado no Mercado da Produção em Maceió. Pubvet, [S. l.], v. 5, n. 06, 2011. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2381>. Acesso em: 7 mar. 2024.

Marques, L.J.P.; Muniz, F.H.; Lopes, G.S.; Silva, J.M. Levantamento da flora apícola em Santa Luzia do Paruá, Sudoeste da Amazônia, Maranhão. Acta Botânica Brasilica, 25(1): 141-149, 2011.

MARQUES, M. F., MENEZES, G B. DEPRA M S., DELAQUA, G. CG HAUTEQUESTT, A. P.; MORAES, M. C. M. Polinizadores na agricultura: ênfase em abelhas - Rio de Janeiro: Funbio, 2015.

MARTINEZ, O. A.; SOARES, A. E. E. Melhoramento genético na apicultura comercial para produção da própolis. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 13(4): 982-990, 2012.

MELO, I. L. P. D. et al. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso), v. 68, p. 346-353, 2009.

MORAES, Larissa Aguiar de. Qualidade microbiológica do mel proveniente da agricultura familiar do distrito de Cantagalo - Rio das Ostras - RJ e adjacências. 2021. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) - Instituto de Alimentação e Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

MORETI, A.C.C.C. PÓLEN: Alimento protéico para as abelhas: Complemento alimentar para o homem. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm>. Acesso em: 3/4/2024

NICOLAI, L. JUNIOR, P. R. S.R. Avaliação microbiológica de pólen apícula (*Apis melífera*). Revista FEPI. Itajubá, MG, 2012.

OKANEKU, M. B., et al. Analise fisico-quimica e microbiologica do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). Tecnologia de alimentos, v. 1, n. 1, p. 85-95, set. 2020.

OLINTO, Francisco A.; SILVEIRA, Daniel C. da; LIMA, Decio C.; MARACAJÁ, Patrício B.; Comportamento higiênico em colmeias de *Apis mellifera* L. africanizadas no Sertão da

Paraíba. Revista Verde (Pombal - PB - Brasil) v. 10, n.3, p 08 - 12, jul-set, 2015.

OVALHO, T. S. R. Avaliação físico-química, nutricional e microbiológica de pólen apícola submetido a diferentes processos de conservação. ESTM - Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar. Peniche, Portugal, 2023.

PAULA, J. Mel do Brasil: as exportações brasileiras de mel no período 2000/2006 e o papel do Sebrae. Brasília: Sebrae, 2008. 99p.

PEREIRA, A.S, Seixas FRMS, Aquino Neto FR 2002. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. Quim Nova 25: 321-326. 2002.

Pereira, F.M.; Vilela, S.L.O. Estudo da cadeia produtiva do mel do Estado de Alagoas. Maceió: Sebrae (AL), 2003. 53p.

Pereira. F.M.; Camargo, R.C.R.; Lopes, M.T.R. Contaminação do mel por presença de *Clostridium botulinum*. Documentos 161. Teresina: Embrapa Meio-Norte. 2007. 17p.

Ragazani, A.V.F.; et al. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados Brasileiros. Ciência Rural, 38(2): 396-399, 2008.

RIBEIRO, Rayanne; STARIKOFF, Karina Ramirez. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de mel comercializado. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v. 18, n. 1, p. 111–118, 2019. DOI: 10.5965/223811711812019111. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/11785>. Acesso em: 7 mar. 2024.

ROCHA, J. S. Manual técnico 05 – apicultura. Programa de desenvolvimento rural sustentável em microbacias hidrográficas do estado do Rio de Janeiro. Secretaria de Agricultura, Pecuária, Pesca e Abastecimento. Projeto Gerenciamento integrado de agroecossistemas em microbacias hidrográficas do Norte-Noroeste Fluminense. Niterói-RJ: governo do Estado do Rio de Janeiro, 2008.

RODRIGUES, N. Alagoas debate potenciais econômicos da produção da própolis vermelha. Embrapa Alimentos e Territórios, 2023. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79574454/alagoas-debate-potenciais-economicos-da-producao-da-propolis-vermelha#:~:text=desenvolvidos%20pela%20Embrapa.,A%20própolis%20vermelha%20dos%20>

manguezais%20de%20Alagoas%20é%20reconhecida%20com,produtores%20e%20empresários” %2C%20avalia.>. Acesso em: 11 de abril 2024.

ROLIM, M. B. Q; et al. Generalidades sobre o mel e parâmetros de qualidade no Brasil: revisão. *Medicina Veterinária, [S. l.]*, v. 12, n. 1, p. 73–81, 2018. DOI: 10.26605/medvet-v12n1-2154. Disponível em: <https://journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/2154>. Acesso em: 7 mar. 2024.

Santos, C.S.; Ribeiro, A.S. Apicultura uma alternativa na busca do desenvolvimento sustentável. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 2009.

Silici, S.; Sagdic, O.; Ekici, L. Total phenolic content, antiradical, antioxidante and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, v.121, n.17,p.238- 243, 2010.

SILLOS, M. D.; FAGUNDES. U. N. Foodborne – Doenças Veiculadas por Alimentos -Intoxicação Alimentar. 2007. Artigos Científicos. Disponível em: <<http://egastroped.com.br/sept04/intoxica.htm>>. Acesso em: Fevereiro de 2013.

SILVA, L. M. M. M. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS COMERCIALIZADOS EM MACEIÓ. UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS -Curso De Graduação Em Zootecnia, Rio Largo, Al. 2013.

SILVA, M. B. L. da et al. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. *Alimentos e Nutrição, Araraquara*, v. 19, n. 4, p. 417- 420, 2008.

SILVA, M. C. DA. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos com a utilização de metodologias convencionais e Simplate. (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, P. A. M. Qualidade dos Produtos da Abelha. VII Seminário Nordestino Pecuário – PEC Nordeste, 2003.

SILVA, P. B. B.; UCHÔA, S. B.; TONHOLO, J. Mapeamento tecnológico da própolis vermelha do estado de Alagoas – PVA. *Cadernos de Prospecção. Maceió*, v. 9, n. 1, p.30-37, 2016.

Souza, D.C. Apicultura: manual do agente de desenvolvimento rural. Brasília: Sebrae, 2004. 100p.

SOUZA, J. E. A. AGRONEGÓCIO DA APICULTURA: ESTUDO DA CADEIA PRODUTIVA DO MEL EM ALAGOAS. 2006. 181 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e meio ambiente) - UFAL, Maceio, 2006.

Taormina, P. J.; Niemira, B. A.; Beuchat, L. R. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal Food Microbiology*, v.69, n.3, p.217-225, 2001.

VARNAM, A.H. & EVANS, M.G. Foodborne pathogens: an illustrated text. St Louis: Moby-Year Book, 1991. p.209-234.

WANG, D. Growth rates of young queen and worker-honeybee larvae. *Journal of Apicultural Research*, v.4, p.3-5, 1965.

WIESE, H. Apicultura. Brasília: Empresa Brasileira de Assistência Técnica e Extensão Rural
LIMA, Nelson Mello. Abelhas e mel: criação – extração. São Paulo: Ediouro, 1979. (Embrater), 1982.