

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA
CURSO DE NUTRIÇÃO**

ADIANE SOUZA BATISTA

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO COMERCIALIZADOS EM COARI E TEFÉ, AMAZONAS, BRASIL

Coari - AM
2023

ADIANE SOUZA BATISTA

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO COMERCIALIZADOS EM COARI E TEFÉ, AMAZONAS, BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

Orientadora: Kemilla Sarmiento Rebelo
Coorientador: Michel Nasser Corrêa Lima Chamy

Coari - AM
2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B333q Batista, Adiane Souza
Qualidade microbiológica de méis de abelhas-sem-ferrão comercializados em Coari e Tefé, Amazonas, Brasil. / Adiane Souza Batista . 2023
19 f.: 31 cm.

Orientadora: Kemilla Sarmiento Rebelo
Coorientador: Michel Nasser Corrêa Lima Chamy
TCC de Graduação (Nutrição) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Meliponíneos. 2. Condições higiênico-sanitárias. 3. Microrganismos. 4. Parâmetros microbiológicos. I. Rebelo, Kemilla Sarmiento. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ADIANE SOUZA BATISTA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MÉIS DE ABELHAS-SEM-FERRÃO
COMERCIALIZADOS EM COARI E TEFÉ, AMAZONAS, BRASIL**

Este trabalho foi apresentado, julgado e aprovado como quesito para obtenção do título de Bacharel em Nutrição pela Universidade Federal do Amazonas.

Banca Examinadora:

Gustavo Bernardes Fanaro – INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS.

Waleska Gravena - INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS.

Uatyla de Oliveira Lima - INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS.

DATA DE APRESENTAÇÃO: 13/02/2023

A minha mãe, pelas angústias e preocupações que passou por minha causa, por ter dedicado sua vida a mim, pelo amor, carinho e estímulo que ofereceu, dedico-lhe essa conquista como gratidão.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer a DEUS, pois sem Ele eu não teria chegado até aqui, foram tantos momentos vividos onde somente Ele foi meu refúgio e fortaleza, minha ancora para não me perder no mar de pensamentos desanimadores.

A minha mãe, Maria Cristiane e a minha irmã, Ketlhen, que sempre torceram e vibraram com cada conquista realizada, minhas maiores incentivadoras e admiradoras, essa conquista é por vocês que sempre estiveram ao meu lado.

Agradeço aquelas pessoas que sempre incentivaram meus estudos e deram apoio para que pudesse finalizar esta etapa da minha vida, algumas não fazem mais parte da minha jornada, ficaram pelo caminho, contudo sempre serei grata a cada um de vocês, pois tem um lugar especial na minha história.

Aos amigos que conquistei ao longo da graduação, vocês tornaram esses anos mais leves e divertidos, dividindo as angustias e preocupações, as cobranças e os milhares de momentos alegres que tivemos, que cada um siga um caminho de muito sucesso.

Aos professores que tive durante os anos de curso, alguns passaram rápido e ensinaram com maestria, marcando uma futura profissional com suas metodologias e carisma, outros fizeram morada em minha história, acreditaram em mim, deram oportunidades incríveis para uma jovem apaixonada por pesquisa, meus mestres e doutores, pessoas que admiro dentro e fora da sala de aula, o mais sincero e profundo OBRIGADA!

Sumário

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	10
Coleta das amostras.....	10
Preparo das amostras.....	10
Contagem de bolores e leveduras	11
Contagem de coliformes a 45 °C.....	12
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
CONCLUSÃO.....	15
REFERÊNCIAS.....	16
ANEXO A – Normas da Revista Acta Amazônica	19

Qualidade microbiológica de méis de abelhas-sem-ferrão comercializados em Coari e Tefé, Amazonas, Brasil

Microbiological quality of stingless bee honey sold in Coari e Tefé, Amazonas state, Brazil

Adiane Souza BATISTA¹, Michel Nasser Corrêa Lima CHAMY², Kemilla Sarmento REBELO²

RESUMO

As abelhas-sem-ferrão (ASF) são nativas das áreas tropicais e subtropicais do planeta, sendo que a maior diversidade é encontrada na região amazônica. O mel de ASF pode apresentar microrganismos comuns da colmeia ou indesejados, devido à falta de higiene durante a coleta, armazenamento e/ou comercialização. O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros microbiológicos de qualidade de méis de abelhas-sem-ferrão comercializados nos municípios de Coari e Tefé, Amazonas, Brasil. Foram coletadas nove amostras de méis, sendo cinco no município de Tefé e quatro no município de Coari, todas adquiridas no comércio ambulante. Estas foram submetidas às análises de coliformes a 45 °C, *Salmonella* spp. e bolores e leveduras, conforme determina a Portaria n° 253, de 2016, da Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas, que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel de abelha-sem-ferrão. Nas análises de bolores e leveduras, as nove amostras encontravam-se dentro do padrão de qualidade. O teste para coliformes apresentou resultados negativos para todas as amostras; contudo, quatro amostras apresentaram *Salmonella* spp, indicando que estavam impróprias para consumo humano. A contaminação por *Salmonella* indica falhas higiênico-sanitárias no processo de colheita e/ou beneficiamento do mel.

Palavras-chaves: Meliponíneos; Condições higiênico-sanitárias; Microrganismos; Parâmetros microbiológicos.

ABSTRACT

Stingless bees (SB) are native to tropical and subtropical areas of the planet, but the greatest diversity is found in the Amazon region. SB honey may present common hive microorganisms or unwanted ones, due to lack of hygiene during collection, storage and/or marketing. The objective of the research was to evaluate the microbiological quality parameters of stingless bee honey sold in the interior of the Amazon. Nine samples of honeys were collected, five in the municipality of Tefé and four in the municipality of Coari, both purchased from street vendors. These were subjected to analysis as described in Ordinance 253 of 2016 of the Agricultural and Forestry Defense Agency of the State of Amazonas, which establishes the Technical Regulation of Identity and Quality of stingless bee honey, for coliforms at 45 °C, *Salmonella* spp. and molds and yeasts. In the analyzes for molds and yeasts, the nine samples were within the quality standard, the test for Coliforms showed negative results in all samples, however four samples showed positive results for *Salmonella* spp, making them unfit for human consumption. Contamination by *Salmonella* indicates hygienic-sanitary flaws in the honey harvesting and/or processing process.

Keywords: Meliponines; Hygienic-sanitary conditions; Microorganisms; Microbiological parameters.

INTRODUÇÃO

As abelhas fornecem alimento e matéria-prima para o homem desde a antiguidade. Elas atuam como polinizadores e ocupam posição de destaque na natureza, sendo que sua alimentação depende das flores (Zilse et al. 2012; Parpinelli 2016). Dentre as 20 mil espécies de abelhas existentes no mundo, aproximadamente 400 espécies não possuem ferrão funcional, e são chamadas de meliponíneos ou abelhas-sem-ferrão (ASF). Os meliponíneos são abelhas sociais, ou seja, vivem em colônias, e ocupam áreas tropicais e subtropicais do planeta, porém a maior diversidade se encontra na região amazônica (Zilse et al. 2012). A Meliponicultura, nome dado à criação de abelhas-sem-ferrão da subtribo Meliponina, é uma prática que foi desenvolvida há séculos, ao longo da história da evolução da humanidade, antes da introdução da abelha europeia (*Apis*). A apicultura (criação de *Apis mellifera*) vem crescendo como atividade econômica em diversos estados brasileiros, sendo considerada um investimento sustentável e de geração de renda (Wolff 2018).

O mel se destacou como um dos produtos mais conhecidos das ASF, e possui características físico-químicas diferentes do mel produzido pela abelha africanizada *Apis mellifera* (Demeterco et al. 2019), o que lhe confere características de sabor, cor e odor diferenciados e que variam de acordo com a espécie de abelha criada e a florada da região (Venturieri 2008; Zilse et al. 2012; Menezes et al. 2018).

O mel de abelhas pode apresentar microrganismos introduzidos pelas próprias abelhas, além de outros microrganismos indesejados, devido a problemas na higiene durante sua manipulação (Schlabitz et al. 2010). Por isso, diversos estudos vêm sendo realizados com méis de diferentes espécies de abelhas, visando conhecer e garantir a qualidade do mel para consumo (Araújo 2018; Campos 2019; Souza et al. 2021).

Entretanto, apesar da popularidade e reconhecimento das propriedades do mel de ASF e seu crescimento na produção como fonte de renda tenha crescido nos últimos anos, tem-se carência de pesquisas voltadas para verificar os parâmetros microbiológicos destes méis produzidos e comercializados nos municípios do estado do Amazonas, o que dificulta o estabelecimento de padrões próprios para a produção e comercialização na região. A Portaria da Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas ADAF/AM n° 253 de 31 de outubro 2016, determina os parâmetros de controle para a qualidade do mel de ASF, estabelecendo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do mel de ASF, com requisitos que o mel deve obter para ser considerado apto para o consumo. Com relação aos contaminantes, a Portaria estabelece os limites

para microrganismos, como bolores e leveduras de até 10^{-4} (UFC g^{-1} ou mL^{-1}); ausência de *Salmonella* spp. e coliformes a 45 °C de até 10^{-2} (NMP g^{-1} ou mL^{-1}), além de requisitos para a composição, acondicionamento, rotulagem, higiene, métodos de análises, entre outros (Adaf, 2016). A Portaria nº 253/2016 - ADAF/AM foi um grande avanço na Meliponicultura, contudo cada região tem suas particularidades de ambiente, de florada e de produção, o que pode resultar em méis com características diferentes de uma região do estado para outra. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a qualidade microbiológica de méis de ASF comercializados nas cidades de Coari e Tefé, Amazonas, Brasil, de acordo com o que determina o RTIQ do mel de abelhas-sem-ferrão.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das amostras

Foram coletadas nove amostras de méis, sendo cinco no município de Tefé e quatro no município de Coari, Amazonas, Brasil, todas adquiridas no comércio local, entre março e junho de 2022 (Tabela 1). Foram adquiridas amostras de todos os comerciantes que vendiam mel de abelhas nos dias de aquisição, sendo que cada amostra foi adquirida de um vendedor diferente. Todos os vendedores declararam que o mel comercializado era produzido por abelhas jandaíras, que é o nome popular atribuído às ASF na região. As amostras foram mantidas nas embalagens originais, em temperatura ambiente, e ao abrigo de luz solar. Em seguida foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Saúde e Biotecnologia, da Universidade Federal do Amazonas, onde foram armazenadas sob refrigeração, a 10 °C, até o momento das análises, seguindo as técnicas recomendadas pela APHA - *American Public Health Association* (2017) e BAM - *Bacteriological analytical Manual* (2020).

Preparo das amostras

Uma alíquota de 25 mL de cada amostra foi retirada do frasco original e transferida para um tubo Falcon estéril, onde ficou reservada sob refrigeração (10 °C) até o momento da análise. Cada amostra foi submetida a agitação manual até completa homogeneização e analisada à temperatura ambiente. O material utilizado para o processamento das

amostras foi esterilizado e toda a operação foi realizada próxima a um bico de Bunsen, dentro da capela de fluxo laminar. Todas as análises descritas a seguir foram realizadas em triplicata.

Tabela 1. Dados de identificação das amostras de méis adquiridas no comércio das cidades de Coari e Tefé, Amazonas, Brasil, 2022.

Amostra	Município	Local de aquisição
Tef – 1	Tefé	Feira Municipal de Tefé
Tef – 2	Tefé	Feira Municipal de Tefé
Tef – 3	Tefé	Vendedor Ambulante
Tef – 4	Tefé	Feira Municipal de Tefé
Tef – 5	Tefé	Mercado Municipal de Tefé
Coa – 1	Coari	Vendedor Ambulante
Coa – 2	Coari	Vendedor Ambulante
Coa – 3	Coari	Feira Municipal de Coari
Coa - 4	Coari	Feira Municipal de Coari

Contagem de bolores e leveduras

Para determinação de bolores e leveduras foram seguidas as recomendações do método APHA 21:2015. Em um Erlenmeyer foram diluídos 25 mL de amostra em 225 mL de água peptonada, sendo esta a diluição 10^{-1} . Em seguida, transferiu-se 1 mL desta diluição para um tubo contendo água peptonada, sendo esta a diluição 10^{-2} . Transferiu-se 1 mL da segunda diluição para um novo tubo com água peptonada, que constituiu a diluição 10^{-3} . Posteriormente, 0,1 mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} foi inoculado por plaqueamento de superfície, com auxílio de uma alça de Drigalski, em placas contendo meios Ágar Extrato de Levedura Glicose Cloranfenicol (YEGC). As placas foram incubadas em estufa do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), a 25 °C, por cinco dias. Para a contagem foram observadas colônias típicas de bolores (cotonosas, aveludadas ou pulverulentas) e leveduras (observação microscópicas da morfologia das células), seguido do somatório expresso em UFC mL⁻¹ (APHA 2017b).

Contagem de coliformes a 45 °C

O teste presuntivo foi realizado partindo das diluições em Água Peptonada 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Foram pipetadas alíquotas de 1 mL das respectivas diluições para uma série de três tubos contendo 9 mL do Caldo Lactosado e um tubo de Durham invertido. Os tubos foram homogeneizados e incubados a 35 °C por 24 horas, e como não houve alteração do meio ou produção de gás, aguardou-se mais 24 horas e realizou-se a leitura novamente (APHA 2017a).

Pesquisa de *Salmonella* spp.

Conforme o método descrito no Manual Analítico Bacteriológico - BAM (FDA 2020), de forma estéril e controlada, em um Erlenmeyer foram adicionados 25 mL de cada amostra de mel a 225 mL de caldo Lactosado. Em seguida, foi realizada uma diluição seriada em tubos contendo 10 mL de caldo Lactosado, retirando-se 1 mL para cada diluição seguinte. Os tubos foram incubados em estufa a 35 °C por 24 horas. Em seguida, foi inoculado 1 mL de cada diluição em 10 mL de caldo Selenito-Cistina (SC), e os tubos foram levados à estufa a 35 °C por mais 24 horas. Posteriormente foi semeada uma alíquota da cultura SC para placas com ágar Verde Brilhante (VB) e ágar *Salmonella-Shigella*, com auxílio de uma alça de platina, e as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 constam as características das embalagens dos méis analisados. Observou-se que nenhuma das embalagens apresentava rotulagem, todas as embalagens eram reutilizadas, algumas com vedação imprópria e a maioria das embalagens era de material plástico. O RTIQ estabelece as normas para acondicionamento e rotulagem do mel, tornando obrigatório que o mel exposto para comércio esteja em embalagens propícias para alimentos e adequadas para as condições de prateleira, que confira proteção apropriada contra contaminação, além de rótulo contendo a identificação taxonômica da espécie de abelha-sem-ferrão (ADAF/AM 2016).

Nos municípios estudados, os comerciantes de mel de ASF não seguem as determinações do RTIQ quanto ao acondicionamento e rotulagem. Embora a reutilização de embalagens seja uma possibilidade viável, desde que sejam devidamente esterilizadas e contenham vedação adequada, não há como garantir que os méis adquiridos foram extraídos e embalados em conformidade com as normas de boas práticas de manipulação de alimentos, o que pode colocar em risco a saúde do consumidor.

O crescimento de microrganismos em alimentos é influenciado pelas suas características físico-químicas, que determinam quais tipos de microrganismos são capazes de se desenvolver; assim como fatores externos como o manejo inapropriado, uso de material não higienizado ou reutilizado. A contaminação do mel pode ser minimizada através do cumprimento de normas de boas práticas de manipulação, além do uso de embalagens adequadas para acondicionamento de alimentos.

Tabela 2. Características das embalagens dos méis adquiridos no comércio dos municípios de Coari e Tefé, Amazonas, Brasil, 2022.

Amostra	Rótulo	Tipo de embalagem	Material da embalagem
Tef – 1	Ausente	Reutilizada	Plástico
Tef – 2	Ausente	Reutilizada	Plástico
Tef – 3	Ausente	Reutilizada	Vidro
Tef – 4	Ausente	Reutilizada	Plástico
Tef – 5	Ausente	Reutilizada	Plástico
Coa – 1	Ausente	Reutilizada	Vidro
Coa – 2	Ausente	Reutilizada	Plástico
Coa – 3	Ausente	Reutilizada	Plástico
Coa – 4	Ausente	Reutilizada	Plástico

Observou-se que todas as amostras analisadas estavam dentro dos padrões estabelecidos para bolores e leveduras, com ausência ou dentro dos limites estabelecido pelo RTIQ (Tabela 3). Em outros estudos foram encontrados resultados semelhantes aos do presente trabalho para bolores e leveduras, com níveis de contaminação aceitáveis na maioria das amostras analisadas. De 20 amostras de méis de Tiúba (*Melipona fasciculata*) provenientes de municípios da Baixada Maranhense, apenas uma apresentou valores acima do recomendado, 105 UFC g^{-1} (Fernandes et al. 2020). Caldas et al. (2020), obtiveram resultados, para bolores e leveduras, dentro dos limites estabelecidos (de 10^4 UFC mL^{-1}) em

60% das amostras analisadas. Enquanto Menezes et al. (2018), observaram níveis de até $1,19 \times 10^6$ UFC g^{-1} em mel de *Melipona flavolineata* proveniente da Comunidade da Flecheira, Município de Tracuateua, no Nordeste Paraense.

Tabela 3. Resultados das análises microbiológicas de amostras de méis de abelhas-sem-ferrão comercializados nos municípios de Coari e Tefé, Amazonas, Brasil.

Amostra	Bolores e Leveduras	Coliformes (45 °C)	Salmonella spp.
Tef – 1	1×10^1 UFC mL^{-1}	Ausente	Ausente
Tef – 2	Ausente	Ausente	Ausente
Tef – 3	Ausente	Ausente	Presente
Tef – 4	$<1 \times 10^1$ UFC mL^{-1}	Ausente	Presente
Tef – 5	$1,5 \times 10^2$ UFC mL^{-1}	Ausente	Presente
Coa – 1	$1,5 \times 10^2$ UFC mL^{-1}	Ausente	Ausente
Coa – 2	$<1 \times 10^1$ UFC mL^{-1}	Ausente	Ausente
Coa – 3	Ausente	Ausente	Ausente
Coa – 4	$<1 \times 10^1$ UFC mL^{-1}	Ausente	Presente
Tolerância*	10^4 UFC mL^{-1}	10^2 NMP mL^{-1}	Ausente

*RTIQ - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, Portaria ADAF n° 253 de 31 de outubro de 2016.

Foi observada ausência de coliformes a 45 °C em todas as amostras analisadas (Tabela 3), em conformidade com o que determina o Regulamento que estabelece os padrões de identidade e qualidade do mel de abelha-sem-ferrão. A presença de coliformes está relacionada a contaminação fecal, indicando falhas na higiene durante a manipulação do mel, o que pode ocasionar problemas à saúde do consumidor. Por este motivo, a pesquisa de coliformes é de suma importância para avaliar a qualidade higiênico sanitária do mel, principalmente em regiões onde o mel é produzido/comercializado de forma rudimentar e muitas vezes sem os devidos cuidados de higiene (Lima et al. 2015; Probst, Biesek, e Sales 2016; Coelho, Moura, e Andrade 2021).

No presente estudo verificou-se que quatro amostras de méis (Tef-3, Tef-4, Tef-5 e Coa-3) estavam contaminadas por *Salmonella* spp. (Tabela 3), em desacordo com o que determina o RTIQ do mel de ASF (ADAF/AM 2016). Esta bactéria é responsável por uma grande parte dos surtos de doenças transmitidas por alimentos, podendo causar quadros de diarreia, vômito, febre, dor abdominal, mal-estar geral, cansaço, perda de apetite e calafrios, dependendo do nível de contaminação (Ministério da Saúde 2019).

Embora o comércio de mel de ASF tenha crescido nos últimos anos, em feiras livres e mercados a comercialização ainda costuma ser realizada de forma rudimentar. Visando

melhorar a qualidade microbiológica desse mel é fundamental a adoção das boas práticas de manipulação em todas as etapas da cadeia produtiva, desde o manejo das colmeias até o armazenamento e distribuição para o comércio (Villas-Bôas 2018).

Cuidados com a higiene de equipamentos, utensílios, vestimentas, bem como no manejo da colônia, colheita e envasamento do mel são essenciais para que se obtenha um produto de boa qualidade microbiológica. Portanto, a adoção das boas práticas de manipulação servem para prevenir contaminações externas do mel, pois alguns tipos de microrganismos podem produzir metabólitos tóxicos, e quando encontrados em altas concentrações podem indicar contaminação devido à práticas incorretas de manipulação do mel (Ávila et al. 2016; Menezes et al. 2018; Pinto e Souza 2018).

Os microrganismos do mel de ASF podem ocorrer de forma natural, pela microbiota associada às ASF, ou por contaminação durante seu beneficiamento e manipulação. Em estudos recentes foi possível observar uma relação de simbiose benéfica entre as abelhas e uma microbiota que inclui vírus, leveduras, bactérias e fungos filamentosos, mostrando que o mel, pólen e/ou néctar podem conter uma microbiota natural diversificada e ainda pouco conhecida (Echeverrigaray et al. 2021; Paula et al. 2021).

Destaca-se que embora haja diversos trabalhos acadêmicos relacionados à quantificação de microrganismos em mel de abelhas, a maioria foi realizada com mel produzido por *A. mellifera* (abelha-com-ferrão) (Campos 2019; Okaneku et al. 2020; Albuquerque et al. 2021), sendo que há uma carência de estudos sobre mel de abelha-sem-ferrão, principalmente na região amazônica, o que torna necessária a realização de mais estudos para verificar a qualidade microbiológica dos méis de diferentes espécies de ASF em diferentes locais.

CONCLUSÃO

Em relação ao acondicionamento e rotulagem, nenhuma amostra cumpriu os critérios estabelecidos no RTIQ do mel de ASF do Amazonas. Já em relação aos critérios microbiológicos, pouco mais da metade (55%) das amostras cumpriram os requisitos exigidos. No entanto quatro amostras (45%) apresentaram contaminação por *Salmonella* spp., estando inaptas para consumo humano.

Os resultados observados reforçam a importância da oferta de treinamentos relacionados a boas práticas de manipulação de alimentos, visando melhor higiene nas etapas de manejo e beneficiamento do mel, de forma a contribuir com a profissionalização dos meliponicultores, além de proporcionar a comercialização de um alimento seguro aos consumidores.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa concedida à primeira autora do artigo através do Programa de Apoio à Iniciação Científica do Amazonas (PAIC), e pelo apoio financeiro concedido através do Programa de Apoio à Interiorização em Pesquisa e Inovação Tecnológica no Amazonas (PAINTER).

REFERÊNCIAS

- Adaf. Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas. Portaria ADAF n 253 de 31 de outubro de 2016. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha Social Sem Ferrão. Diário Oficial do Estado do Amazonas: Amazonas, ano CXXII, n. 33.395, p. 7-8, 01 nov. 2016.
- Apha. American Public Health Association. 2017. Método de plaqueamento APHA21:2015 para contagem de bolores e leveduras em alimentos. 5 ed., 2015. In: SILVA, N. et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5. ed. São Paulo: Blucher. 560 p.
- Apha. American Public Health Association. 2017. Métodos do NMP APHA 9:2015 para contagem de coliformes totais/coliformes termotolerantes/*E. Coli* em água e alimentos. 5 ed., 2015. In: SILVA, N. et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5. ed. São Paulo: Blucher. 560 p.
- Albuquerque, Juliana Cosme Gomes, Maria Elizangela Sobrinho, e Tulio Cesar de Lima Lins. 2021. “Análise da qualidade do mel de abelha comercializado com e sem inspeção na região de Brasília - DF, Brasil”. *Semina cienc. biol. saude*, 71–80.
- Araújo, Jânio Trajano de. 2018. “Avaliação da qualidade microbiológica de mel de abelhas sem ferrão (*Melipona subnitida*) comercializado no sertão da Paraíba.”, dezembro. <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/4373>.

- Ávila, Mariana de Oliveira, Patrícia Helaine da Silva Santos, Fernanda Noronha de Gois, Mateus de Carvalho Furtado, e Igor Adriano de Oliveira Reis. 2016. “A importância do controle das condições microbiológicas e higiênicas sanitárias na prevenção de doenças transmitidas por alimentos - uma revisão de literatura”. *Revista Expressão Científica (REC)* 1 (1). <https://aplicacoes.ifs.edu.br/periodicos/REC/article/view/55>.
- Caldas, Maiara Janine Machado, Irana Paim Silva, Cerilene Santiago Machado, Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, e Geni da Silva Sodré. 2020. “Qualidade e perfil antimicrobiano do mel de *Melipona asilvai* / Quality and antimicrobial profile of *Melipona asilvai* honey”. *Brazilian Journal of Development* 6 (5): 32760–68. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-646>.
- Campos, Rogênia Araújo. 2019. “Qualidade físico – química e microbiológica de mel de abelha africanizadas produzidas no município de Nazarezinho-PB.”, novembro. <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/10148>.
- Coelho, Rafaela Holanda, Gleucia Silva Moura, e Vitória de Oliveira Almeida Andrade. 2021. “Contaminação de alimentos e seus fatores predisponentes: uma revisão integrativa / Food contamination and its predisposing factors: an integrative review”. *Brazilian Journal of Health Review* 4 (3): 10071–87. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n3-041>.
- Demeterco, Carlos Alexandre, Beatriz Ronchi-Teles, Angela May Steward, e Gislene Almeida Carvalho-Zilse. 2019. “Características da meliponicultura em Maraã e Boa Vista do Ramos, Amazonas”. *Revista Brasileira de Agroecologia* 14 (3): 10–10. <https://doi.org/10.33240/rba.v14i3.22921>.
- Echeverrigaray, Sergio, Fernando Joel Scariot, Luciano Foresti, Luisa Vivian Schwarz, Ronaldo Kauê Mattos Rocha, Gabriela Priscila da Silva, Jennifer Pereira Moreira, e Ana Paula Longaray Delamare. 2021. “Yeast Biodiversity in Honey Produced by Stingless Bees Raised in the Highlands of Southern Brazil”. *International Journal of Food Microbiology* 347 (junho): 109200. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109200>.
- Fernandes, Rachel Torquato, Ana Carolina Conti e Silva, e Ivone Garro Rosa. 2020. “Características de qualidade do mel de abelha sem ferrão (*Melipona fasciculata*) produzidos na baixada maranhense / Quality characteristics of honey bees without sting (*Melipona fasciculata*) produced in the sea down”. *Brazilian Journal of Development* 6 (6): 41268–75. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-605>.
- Lima, Joyce, Mirela Arouche, Lidiane Pereira, Lucia Alves, Francisca Costa, e Gilmar Aires Silva. 2015. “CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DO MEL PRODUZIDO POR *Apis mellifera* NO ESTADO DO MARANHÃO”. *Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres* 4 (1). <https://doi.org/10.36607/refacer.v4i1.3373>.
- Menezes, Blenda do Amor Divino, Rafaella de Andrade Mattietto, e Lúcia de Fátima Henriques Lourenço. 2018a. “AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MÊIS DE ABELHAS AFRICANIZADAS E SEM FERRÃO NATIVAS DO NORDESTE

DO ESTADO DO PARÁ”. *Ciência Animal Brasileira* 19 (setembro).
<https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-46578>.

- Okaneku, Bruna Mie, Antônia Queiroz Lima de Souza, Daiane Lavareda Araújo, Thalita Caroline Lima Alves, Dilson Nazareno Pereira Cardoso, e Wenderson Gomes dos Santos. 2020. “Análise físico-química e microbiológica do mel de abelhas africanizadas (*apis mellifera*) / Physicochemical and microbiological analysis of africanized bee (*apis mellifera*) honey”. *Brazilian Journal of Development* 6 (4): 18607–20. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-144>.
- Parpinelli, Rejane Stubs. 2016. “Qualidade microbiológica e caracterização físico-química de amostras de mel de abelhas sem ferrão de seis regiões do estado do Paraná”. DoctoralThesis, Universidade Estadual de Maringá. <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/1614>.
- Paula, Gabriela Toninato de, Cristiano Menezes, Mônica Tallarico Pupo, e Carlos Augusto Rosa. 2021. “Stingless Bees and Microbial Interactions”. *Current Opinion in Insect Science, Ecology * Parasites/Parasitoids/Biological control*, 44 (abril): 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.11.006>.
- Pinto, Wilza da Silveira, e Luis Filipe Azevedo de Souza. 2018. *Boas práticas na colheita e no beneficiamento do mel de abelhas Apis*. EDUFRA. <http://repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/610>.
- Probst, Isabela Maria, Simone Biesek, e Willian Barbosa Sales. 2016. “Perfil epidemiológico das contaminações por coliformes totais e coliformes termotolerantes em alimentos no Brasil”. *Anais do EVINCI - UniBrasil* 2 (1): 299–299.
- Schlabit, Cláudia, Sabrina Aparecida Ferreira da Silva, e Cláucia Fernanda Volken de Souza. 2010. “Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel”. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 4 (1). <https://doi.org/10.3895/S1981-36862010000100009>.
- Souza, Andressa Pedroso Carlotto de, Eduarda Letícia Ruaro, Rafael Narciso Meirelles, e Fernanda Leal Leães. 2021. “Avaliação físico-química de mel de abelha sem ferrão da espécie *T. angustula*, PROVENIENTES DA REGIÃO DAS MISSÕES - RS”. *Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da Uergs (SIEPEX)* 1 (10). <http://pev-proex.uergs.edu.br/index.php/xsiepex/article/view/3327>.
- Venturieri, G. C. 2008. *Criação de abelhas indígenas sem ferrão*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/410121>.
- Wolff, Luis Fernando. 2018. “Sistema de produção de mel para a região sul do Rio Grande do Sul.” <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1104382>.
- Zilse, Gislene Almeida Carvalho, Helio Conceição Vilas Boas, Klilton Barbosa da Costa, Carlos Gustavo Nunes da Silva, Mariana Trindade de Souza, e Rinaldo Sena Fernandes. 2012. “Meliponicultura na Amazônia”. <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/35990>.

ANEXO A – Normas da Revista Acta Amazônica

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

It is expected that manuscripts submitted to Acta Amazonica are prepared according to the Instructions to Authors (guidelines). Thus, please make sure your manuscript follows these guidelines before uploading your submission. Manuscripts that do not adhere to the Journal's instructions are returned to authors.

1. Maximum size of an individual file should be 2 MB.
2. A letter submitting the manuscript (cover letter) should state that:
 - a) The research data are original and accurate; b) all the authors participated substantially and are prepared to assume public responsibility for its content; c) the contribution presented to this journal has not previously been published, nor has it been submitted for publication elsewhere, entirely or in part. Upload the cover letter upon submission.
3. **The manuscripts must be written in English.** The veracity of the information contained in the manuscript is exclusive responsibility of authors.
4. Maximum length for articles and reviews is 30 pages (or 7500 words, disregarding the title page), ten pages (2500 words) for short communications, and five pages for other contributions.
5. Manuscripts properly formatted according to the "Instructions to authors" are sent to Associate Editors for pre-evaluation. In this first judgment it is taken into consideration the scientific relevance and intelligibility of the manuscript, and its scope within the Amazonian context. In this phase, contributions outside of the scope of the Journal or of little scientific value are declined. Manuscripts approved in the first judgment are sent to scientific referees for evaluation, at least two reviewers; experts from institutions other than those of the authors.
6. Acceptance of manuscripts will be based on the scientific content and the correct formatting according to the Journal guidelines.
7. Manuscripts requiring corrections will be returned to the authors for revision. The revised version needs to be uploaded in the Journal system in TWO weeks' time. A response letter is required to be returned with the revised version. In this letter, please detail the modifications made to the manuscript. Recommendations not incorporated into the revised version, if any, need to be responded. The entire process is online, and can be followed at the Journal Web site, <http://mco4.manuscriptcentral.com/aa-scielo>.
8. Follow these instructions to prepare and upload the manuscript:
 - a. Authorship and manuscript information (Title page, please use the word format): This page must contain the manuscript title, authorship (last name in uppercase letter), full institutional address of the authors, and email of the corresponding author. Do NOT abbreviate names of institutions. Use an asterisk (*) to indicate the corresponding author. Only the e-mail of the corresponding author is required in the title page of the manuscript.
Upon submission, upload this file selecting the option: "Title page".
 - b. Main body of the text (main document, please use the word format). The text of the manuscript should follow this order: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Figure legends, and Tables. It is also required to include a "Titulo, Resumo and Palavras-chave" in Portuguese OR Spanish.
Upon submission upload this file as "Main document".
 - c. Figures. Up to seven figures are permitted for articles. Each figure MUST be uploaded as a separate file. Figures should be in the graphic format (JPG or TIFF) and of high quality and resolution (300 dpi). Use 600 dpi for bitmap illustration.
Upload each of these files selecting the option: "Figure".
 - d. Tables. Five tables are permitted for articles. Use single spacing and the table function for typing tables. Please insert the Tables at the end of the text of the manuscript (main document), after the "Figure legends".
9. Short communications are to be written separating the topics (Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusions) in paragraphs, but without including their titles. They also have to include all the sections of the full article (e.g.: Title, authorship, affiliation, electronic address, Abstract, Keywords, Acknowledgements, References). Three figures and two tables are permitted. Upload the "title page", "main document", figures and tables as described previously (Item 8).
10. Full name of authors and their institutional addresses and e-mails must be registered in the Journal system.
11. IMPORTANT NOTE: Manuscripts not properly formatted according to the "Instructions to Authors" are NOT accepted for publication.

FORMAT AND STYLE

12. The manuscript is to be prepared with a text editor (e.g. doc or docx), typed using "Times New Roman" 12-point font. It should be double-spaced with 3-cm margins; pages and lines consecutively numbered. For tables see Item 8d.
13. Title. Adjust to the left and capitalize the first letter of the sentence. Avoid using scientific names.
14. Abstract. It should have up to 250 words (150 for short communications). Initiate the Abstract with a couple of lines (rationale), and after that clearly state the objectives. The Abstract must succinctly contain the methodology, results and conclusions, emphasizing important aspects of the study. It should be intelligible for itself. Scientific names of species and other Latin terms should be in italic. Avoid acronyms, but if they are required give their meaning. Do not use references in this section.

15. Keywords. They must consist of four or five terms. Each keyword term may consist of two or more words. However, words used in the title cannot be repeated as keywords.

16. Introduction. This section should emphasize the purpose of the study. It should convey an overview of previous relevant studies, as well as clearly state the objectives or hypotheses to be tested. This section is expected not to exceed 35 lines. Do not anticipate data or conclusions of the manuscript and do NOT include subtitles in this section. End the Introduction with the objectives.

17. Materials and Methods. This section should contain enough information, chronologically organized to explain the procedures carried out, in such a way that other researchers can be able to repeat the study. Statistical treatments of data should be described. Standard techniques need only be referenced. Measuring units and their abbreviations should follow the International System and, when necessary, should include a list of the abbreviations utilized. Specific instruments used in the study should be described (model, manufacturer, city and country of manufacturing, in parentheses). For example: "Photosynthesis was determined using a portable gas exchange system (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA)". Voucher material (sample for future reference) should be deposited in one or more scientific collections and informed in the manuscript. Do NOT use sub-subtitles in this section. Use bold, but not italic or uppercase letters for subtitles.

18. Ethics and legal aspects: For studies that requires special permissions (e.g. Ethic Committee/National Commission of Ethic in Research-CONEP, IBAMA, SISBIO, CNPq, CNTBio, INCRA/FUNAI, EIA/ RIMA, others) the registration/approval number (and publishing date) must be informed. Authors are responsible to follow all specific regulations on this issue.

19. Results. This section should present a concise description of information obtained, with a minimum of personal judgment. Do not repeat in the text all the data contained in tables and illustrations. Do not present the same information (data) in tables and figures simultaneously. Do not use sub-subtitles in this section. Numeral should be one space-separated from units. For example, 60 °C and NOT 60°C, except for percentages (for instance, 5% and NOT 5 %).

Units: Use units and symbols of the International System. Use negative exponents instead of slash (/). For example: cmol kg⁻¹ instead of meq/100g; m s⁻¹ instead of m/s. Use space instead of point between symbols:

m s⁻¹ instead of m.s⁻¹. Use a dash (NOT a hyphen) to denote negative numbers. For example: -2, instead of -2. Use kg instead of Kg and km instead of Km.

20. Discussion. The discussion should focus on results obtained. Avoid mere speculation. However, well based hypotheses can be incorporated. Only relevant references should be included.

21. Conclusions. This section should contain a concise interpretation of main results and a final message, which should highlight the scientific implications of the study. Write the conclusions in a separate section (one paragraph).

22. Acknowledgements should be brief and concise. Include funding agency. Do NOT abbreviate names of institutions.

23. References. At least 70% of references must be scientific journal articles. Citations should preferentially be from last 10 years. It is suggested not to exceed 40 references. They should be cited in alphabetical order of author names, and should be restricted to citation included in the text. If a reference has more than ten authors, use only the six first names and *et. al.* In this section, the journal title is NOT abbreviated. See the examples below:

a) Articles from periodicals:

Villa Nova, N.A.; Salati, E.; Matsui, E. 1976. Estimativa da evapotranspiração na Bacia Amazônica. *Acta Amazonica* 6: 215-228.

Articles from periodicals that do not follow traditional pagination:

Ozanne, C.M.P.; Cabral, C.; Shaw, P.J. 2014. Variation in indigenous forest resource use in Central Guyana. *PLoS ONE* 9: e102952.

b) Dissertations and theses:

Ribeiro, M.C.L.B. 1983. *As migrações dos jaraquis (Pisces: Prochilodontidae) no rio Negro, Amazonas, Brasil.* Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 192p.

c) Books:

Steel, R.G.D.; Torrie, J.H. 1980. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach.* 2nd ed. McGraw-Hill, New York, 633p.

d) Book chapters:

Absy, M.L. 1993. Mudanças da vegetação e clima da Amazônia durante o Quaternário. In: Ferreira, E.J.G.; Santos, G.M.; Leão, E.L.M.; Oliveira, L.A. (Ed.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia. v.2.* Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, p.3-10.

e) Citation of electronic Source:

CPTEC, 1999. Climanalise, 14: 1-2 (www.cptec.inpe.br/products/climanalise). Accessed on 19/05/1999.

f) Citations with more than ten authors:

Tseng, Y.-H.; Kokkotou, E.; Schulz, T.J.; Huang, T.L.; Winnay, J.N.; Taniguchi, C.M.; *et al.* 2008. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature* 454: 1000-1004.

24. Citations in the text. Citations of references follow a chronological order. For two or more references from the same year cite according to alphabetical order. Please see the following examples.

a) One author:

Pereira (1995) or (Pereira 1995).

b) Two authors:

Oliveira and Souza (2003) or (Oliveira and Souza 2003).

c) Three or more authors:

Rezende *et al.* (2002) or (Rezende *et al.* 2002).

d) Citations from different years (chronological order):

Silva (1991), Castro (1998) and Alves (2010) or (Silva 1991; Castro 1998; Alves 2010).

e) Citations in the same year (alphabetical order):

Ferreira *et al.* (2001) and Fonseca *et al.* (2001); or (Ferreira *et al.* 2001; Fonseca *et al.* 2001).

FIGURES

25. Photographs, drawings and graphics should have high definition, with high black and white contrast. Do NOT use grey tones in scatter graphs or bar charts. In scatter graphs use black (solid, dotted or dashed) lines and open or solid (circle, square, triangle or diamond) symbols. For bar charts, black, white, stripped or dotted bars can be used. Border the plotting area with a thin solid line, but do NOT use a border line in the graphic area. Label each panel of a composite figure (multiple panels) with an uppercase letter inside the plotting area, in the upper right-hand corner.

26. Avoid unnecessary legends in the plotting area. Do NOT use letters too small (< size 10) in figures (either in title axes or within the plotting area). In axes, use inward-oriented marks in scale divisions. Do NOT use horizontal or vertical grid lines, except in maps or similar illustrations. Each axis of the graphic should have a title and unit. Avoid too many subdivisions on the axis scale (five to six should suffice). On maps include a scale bar and at least one cardinal point.

27. Figures should be formatted to fit within the page dimensions of the Journal, namely, within a column (8 cm) or the width of the entire page (17 cm), and allowing space for the figure legend (caption). Illustrations can be resized during the production process in order to optimize Journal space. Scales should be indicated by a bar (horizontal) in the figure and, if necessary, referenced in the figure legend. For example, scale bar = 1 mm.

28. Figures in the text: Figures can be cited directly or indirectly (in parentheses), with the initial letter capitalized. For example: Figure 1 or (Figure 1). In the legend, figure number should be followed by a period. For example: "Figure 1. Analysis...". Meaning of symbols and acronyms used in figures must be defined in the figure legend. Figures should be self-explanatory.

29. For figures that have been previously published, the authors should clearly state in the manuscript that a permission for reproduction has been granted. The document that conceded such authorization should be uploaded (not for review) in the Journal system.

30. In addition to figures in the graphic format (TIFF, JPG), bar charts and scatter graphs generated using Excel or SigmaPlot can be uploaded. Select the option supplemental file NOT for review.

31. Color illustrations. Photographs and others illustrations are expected to be black and white. Color illustrations are accepted; however, there is a printing cost, which is charged to authors. Without costs to authors, a color illustration can be used in the Journal electronic version; whereas a black and white version of the same figure can be used in the printed version. When a color photograph is used only in the electronic version, mention it in the figure legend. For example, adding this sentence "this figure is in color in the electronic version". This information is for the readers of the printed issue.

Authors can be invited to submit a color photograph to illustrate the Journal cover page. In this case, the printing cost will be afforded by the Journal.

TABLES

32. Tables should be well organized and numbered sequentially with Arabic numerals. The numbering and the table title (legend) should be at top of the table. A table may have footnotes. The meaning of symbols and acronyms used in the table (e.g. head columns, etc.) MUST be defined in the table title. Use horizontal lines above and below the table, and for separating the heading from the main body of the table. Do NOT use vertical lines.

33. Tables should be generated using a text editor (e.g. doc or docx), and should NOT be inserted in the manuscript as an image (e.g. in JPG format).

34. Table citations in the text can be made directly or indirectly (in parentheses), with the initial letter capitalized. For example: Table 1 or (Table 1). In the table legend, the table number should be followed by a period, for instance: "Table 1. Analysis...". Tables should be self-explanatory.

LICENSING AND COPYRIGHT

All content of the journal is licensed under the Creative Commons Attribution License (CC-BY). Under CC-BY, authors retain copyright of their work. The license allows re-distribution and re-use of the published work on the condition that the creator is appropriately credited.

ADDITIONAL INFORMATION

Acta Amazonica can make minor formatting and grammar corrections in the manuscript to adjust to editorial and language standard. Before printing, the proof is sent to authors for last verification. In this phase only typographical or spelling mistakes can be corrected in the proof. NO major changes can be made on the manuscript at this stage, otherwise the entire manuscript will return to the evaluation process by the Editorial Board.

Acta Amazonica does not charge a fee for publication. Also, there is no fee charge for submission and evaluation of manuscripts. Further information can be obtained by e-mail acta@inpa.gov.br. If your inquiry is about a submission please inform the submission number.

Subscriptions to Acta Amazonica (printed version) can be paid by check or money order. Institutional subscriptions US\$ 100.00; individual subscription US\$ 75.00. Please contact by e-mail: acta@inpa.gov.br.

Tel.: (55 92) 3643-3236 or fax: (55 92) 3643-3029