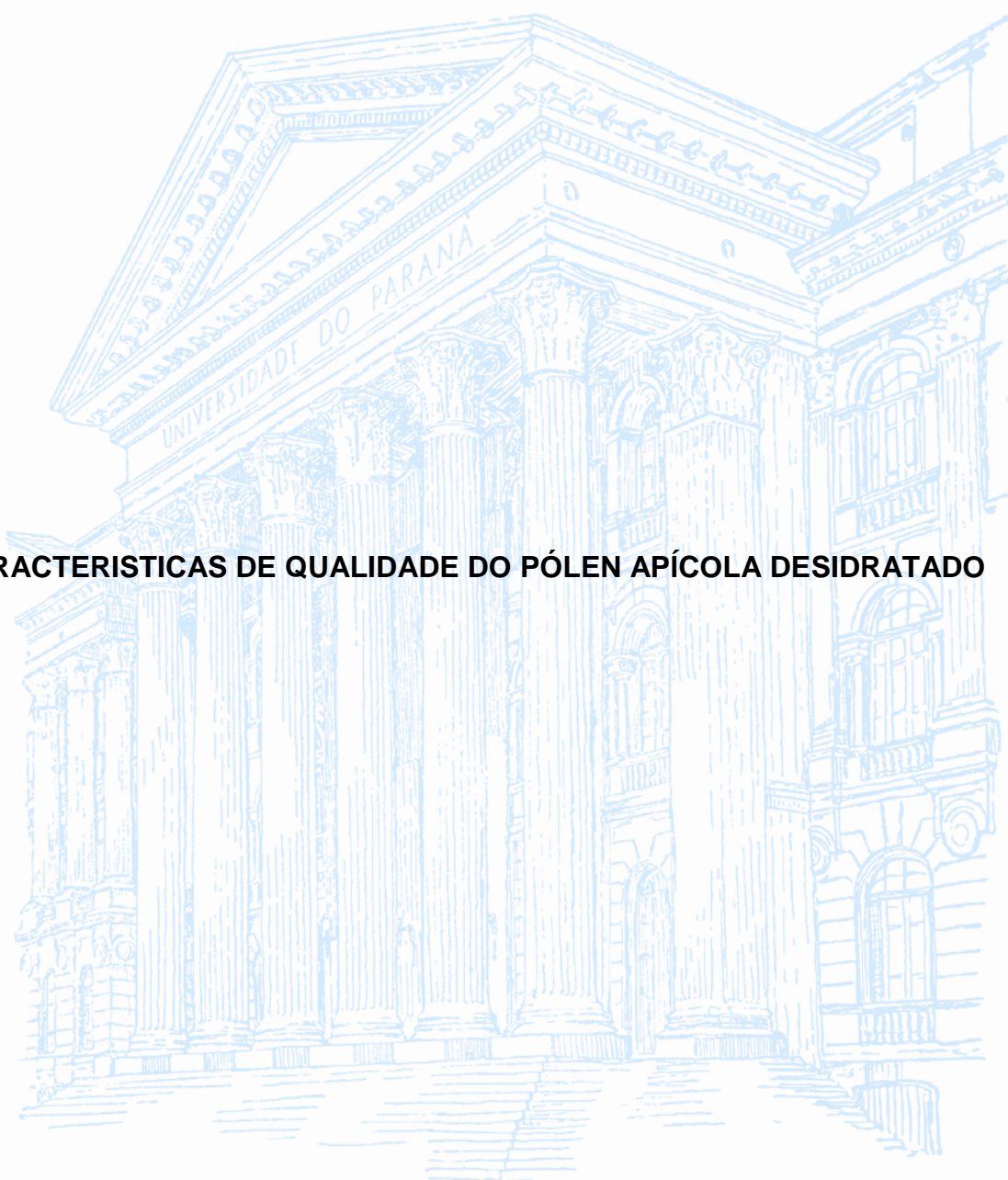


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TAMSYN KAMINSKI

CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO



CURITIBA

2017

TAMSYN KAMINSKI

CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

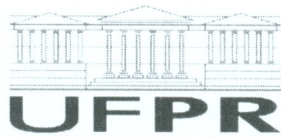
Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Alimentação e Nutrição do Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná,

Orientador: Prof^a. Dr^a. Sila Mary Rodrigues Ferreira

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Marcia Regina Beux

CURITIBA

2017




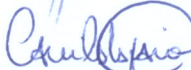
TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **TAMSYN KAMINSKI** intitulada: **Características de Qualidade do Pólen Apícola Desidratado**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 07 de Julho de 2017.


SILA MARY RODRIGUES FERREIRA
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


CAMILA RAMOS PINTO SAMPAIO
Avaliador Externo (UFPR)


CLAUDIA CARNEIRO HECKE KRUGER
Avaliador Interno (UFPR)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela proteção e pelo fortalecimento em todos os momentos.

Aos meus pais Cida e Mario, e a minha irmã Tayane, por todo apoio financeiro e psicológico, amor e carinho durante os dias mais difíceis.

Ao meu namorado, companheiro, Diego que acompanhou de perto todos os dias meu esforço e dedicação. Muito obrigada pelo amor e compreensão, pois foram dois anos de muitas barreiras que ultrapassamos juntos.

À minha orientadora, Prof. Dra. Sila Mary Rodrigues Ferreira, pelas suas orientações e contribuições valiosas a este trabalho.

À minha coorientadora Prof. Dra. Márcia Regina Beux pelos conhecimentos na área microbiológica e principalmente pela idéia de trabalhar com pólen apícola.

Às minhas colegas de mestrado que compartilharam comigo todas as etapas, tornando essa caminhada divertida.

Aos técnicos Jair Lima e Jaqueline Leobet pelo auxílio durante as análises.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR), em especial ao Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição (PPGAN), sob coordenação da professora Maria Eliana Madalozzo, pela oportunidade de crescimento pessoal, profissional e intelectual proporcionada pelo mestrado.

RESUMO

O pólen coletado pelas abelhas *Apis mellifera* e desidratado pelos apicultores para comercialização é considerado complemento da dieta humana por apresentar benefícios nutricionais e terapêuticos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo identificar as características de qualidade do pólen apícola desidratado. Foram avaliadas 12 amostras adquiridas no comércio de Curitiba mediante análise físico-química, quantificação de vitamina C, minerais e contaminantes inorgânicos, contagem de bolores e micotoxinas, atividade antimicrobiana. As amostras destacaram-se pelos valores de proteínas, açúcares, betacaroteno, licopeno, vitamina C e minerais essenciais. Os contaminantes inorgânicos identificados não ultrapassaram os limites de ingestão para uma porção diária e o crescimento de bolores associada à ausência de micotoxinas não oferecem risco ao consumidor. A atividade antimicrobiana apresentou resultados positivos para todos os microrganismos, predominantemente para *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*, indicando que o pólen pode ser uma alternativa para o controle desses microrganismos durante a ingestão. O consumo diário recomendado nas embalagens ofereceu em média 95% de nutrientes disponíveis para absorção, assim é possível afirmar que o pólen apícola desidratado possui características de qualidade e pode ser consumido diariamente, dentro da porção recomendada, sem riscos para a saúde.

Palavras-chaves: Pólen apícola, *Apis mellifera*, minerais, composição centesimal, licopeno, vitamina C, viabilidade polínica.

ABSTRAT

The pollen collected by *Apis mellifera* bees and dehydrated by beekeepers for commercialization is considered a complement the human diet due to its nutritional and therapeutic benefits. In this way, this research had as objective identified as quality characteristics of the dehydrated bee pollen. Twelve commercially purchased samples were evaluated by physicochemical analysis, quantification of vitamin C, minerals and inorganic contaminants, mold and mycotoxin counts, antimicrobial activity. The samples stood out for the values of proteins, sugars, beta-carotene, lycopene, vitamin C and essential minerals. The inorganic contaminants identified didn't exceed the admission limits for a daily portion and the growths of molds associated with the absence of mycotoxins are not a risk to the consumer. The antimicrobial activity presented positive results for all microorganisms, predominantly for *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*, indicating that they may be an alternative for the control of microorganisms during ingestion. The daily consumption recommended in the packages offered on average 95% of nutrients available for absorption, so it is possible to state that the dehydrated bee pollen has quality characteristics and can be consumed daily, within the recommended portion, without health risks.

Key words: Bee pollen, *Apis mellifera*, minerals, composition centesimal, lycopene, vitamin C, pollen viability.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

FIGURA 1 - ABELHA COLETANDO PÓLEN DAS FLORES NAS SUAS CORBÍCULAS (CAVIDADE DAS PATAS TRASEIRAS).....	15
FIGURA 2 - GRÃO DE PÓLEN E SUAS CAMADAS DE EXINA (EXTERNA) E INTINA (INTERNA).....	16
FIGURA 3 - GAVETA E TELA COLETORA DE PÓLEN NA ENTRADA DA COLMEIA.....	17
FIGURA 4 - PARTE DO CORPO E DA PATA POSTERIOR DE UMA ABELHA <i>Apis mellifera</i>	18

CAPITULO II

FIGURA 1 - LOCAL DE PRODUÇÃO DAS AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA.....	35
FIGURA 2 - CONTAGEM DE BOLORES EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO E LEGISLAÇÕES VIGENTES.....	50
FIGURA 3 - GRÃOS DE PÓLEN CORADOS COM REATIVO DE ALEXANDER. (A) PÓLEN VIÁVEL, (B) PÓLEN INVIÁVEL.....	53

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE PÓLEN APÍCOLA IDENTIFICADO POR ALGUNS ESTUDOS BRASILEIROS.....	21
TABELA 2 - LIMITE DE INGESTÃO DIÁRIA DE ALGUNS COMPOSTOS INORGÂNICOS E MICOTOXINAS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS SECOS.....	25

CAPITULO II

TABELA 1 - ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO E LEGISLAÇÕES VIGENTES.....	42
TABELA 2 - INGESTÃO DIÁRIA DE MINERAIS ESSENCIAIS (MG) E NÍVEL DE INGESTÃO TOLERÁVEL DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS (MG) POR PORÇÃO (7G) DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO.....	46
TABELA 3 - CONTEÚDO DE BETACAROTENO, LICOPENO E VITAMINA C DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO.....	48
TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DE PÓLEN APÍCOLA	51
TABELA 5 - PORCENTAGEM DE VIABILIDADE DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO CORADO COM REATIVO DE ALEXANDER.....	53

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
REFERENCIAS	12
CAPITULO I	14
1. REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 O PÓLEN APÍCOLA.....	14
1.2 ABELHA <i>Apis mellifera</i>	16
1.3 PRODUÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA	17
1.4 APICULTURA, NATUREZA E SOCIEDADE	18
1.5 AGENTES BENÉFICOS: COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL DO PÓLEN	20
1.6 AGENTES DE RISCO: DESENVOLVIMENTO DE BOLORES E MICOTOXINAS NO PÓLEN	22
1.7 AGENTES DE RISCO: PRESENÇA DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS NO PÓLEN.....	23
1.8 VIABILIDADE POLÍNICA.....	24
1.9 PÓLEN E A SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL.....	24
REFERENCIAS	26
CAPITULO II	31
CARACTERISTICAS DE QUALIDADE DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO	31
RESUMO	31
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1 Amostras	34
2.2 Análise físico-química	35
2.3 Determinação de minerais.....	35
2.4 Determinação de carotenoides.....	36

2.5 Determinação de vitamina C	36
2.6 Contagem de bolores e micotoxinas	37
2.7 Atividade antimicrobiana	37
2.8 Viabilidade polínica	39
2.9 Tratamento estatístico	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1 Análise físico-química	39
3.2 Determinação de elementos minerais	44
3.3 Determinação de carotenoides e vitamina C	46
3.4 Contagem de bolores e micotoxinas	49
3.5 Atividade antimicrobiana	50
3.6 Viabilidade polínica	51
4. CONCLUSÃO	53
5. AGRADECIMENTOS	53
6. CONFLITO DE INTERESSES	53
REFERENCES	54

INTRODUÇÃO

É crescente a preocupação de consumidores com a qualidade dos alimentos e a conseqüente redução dos riscos à saúde. A segurança alimentar pode ser entendida como aquisição pelo consumidor de alimentos de boa qualidade, livres de contaminantes de natureza química, biológica, física, ou qualquer substância que possa acarretar problemas à saúde (BRASIL, 2010).

O pólen é a célula reprodutiva masculina das plantas superiores, coletado e transportado pelas abelhas *Apis mellifera* para dentro da colmeia em suas pernas traseiras nas cavidades chamadas corbículas. Após captura o pólen é transformado em pequenas esferas ricas em enzimas e vitaminas que servem de alimentos para as abelhas. Cada grão de pólen apícola contém centenas de grãos de pólen floral (NOGUEIRA *et al.*, 2012).

Os produtos apícolas são incentivados em todo o Brasil, pois a criação de abelhas é considerada uma atividade potencialmente sustentável, seja complementando renda da família no campo, gerando mão de obra produtiva ou conservando a mata nativa de onde o pólen é retirado (PEREIRA, *et al.*, 2015).

Comercializado em lojas de produtos naturais, o pólen apícola é considerado complemento para a dieta humana e tem recebido atenção especial entre os pesquisadores, devido às suas propriedades biológicas, como a atividade antioxidante (RZEPECKA-STOJKO *et al.*, 2012) e antibacteriana (MOHDALY *et al.*, 2015). Possui também em sua composição proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas, minerais e enzimas. Destacam-se os carotenóides agregando-lhe cor e potencial antioxidante (SATTLER, 2013). A composição química do pólen apícola varia de acordo com a origem geográfica, espécies vegetais, condições ambientais e estação do ano (NOGUEIRA *et al.*, 2012).

Além das propriedades benéficas, o pólen pode apresentar contaminantes inorgânicos, devido à proximidade com áreas urbanas uma vez que entra em contato com a poluição industrial e veicular (MORGANO *et al.*, 2010). Isso depende diretamente da localização geográfica, modelo de produção e técnica de manejo. Em excesso esses contaminantes podem ser prejudiciais à saúde, uma vez que não se degradam no organismo e se acumulam nos tecidos vivos ao longo da cadeia alimentar (VIRGA, 2007). O pólen também pode apresentar bolores, devido à falha

nas boas práticas de manipulação ou processo insuficiente de desidratação, que também pode ocasionar o desenvolvimento de micotoxinas. Assim, é necessário investigação uma vez que não há legislação vigente para micotoxinas em pólen apícola na forma desidratada (RODRÍGUEZ-CARRASCO *et al.*, 2013).

Além do Brasil (BRASIL, 2001) outros países apresentam legislação para padrão de identidade e qualidade, reconhecendo o pólen como complemento alimentar: Argentina (CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO, 1998) e Suíça (BOGDANOV *et al.*, 2004).

Para assegurar que o conteúdo nutricional do pólen apícola esteja disponível para os consumidores, é importante avaliar a integridade do grão e identificar sua viabilidade. Para isso, é possível identificar os grãos viáveis mediante a coloração da substância viva e nutritiva do interior do grão em cor púrpura e a parede celular em cor verde (ALEXANDER, 1980).

O interesse científico pelo pólen apícola é recente e poucos pesquisadores se dedicam ao estudo da composição química, microbiológica, atividade antimicrobiana e viabilidade dos compostos nutritivos. O avanço científico desta pesquisa contribui para a segurança alimentar no consumo e para o fortalecimento da comercialização desse produto. Portanto, o objetivo desta pesquisa é identificar as características de qualidade do pólen apícola desidratado.

REFERENCIAS

ALEXANDER, M.P.A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, v.1, n.5, p.13-8, 1980.

BRASIL. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001 que aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de abelha, Geleia real, Geleia real liofilizada, Pólen apícola, Própolis e Extrato de própolis. Retirado de: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em: 15.08.16.

BRASIL. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. A segurança alimentar e nutricional e o direito humano à alimentação adequada no Brasil. Brasília, DF: CONSEA, 2010.

BOGDANOV, S.; BIERI, K.; GREMAUD, G.; IFF, D.; KÄNZIG, A.; SEILER, K.; *et al.* Swiss Food Manual Chapter 23 B: Bienenprodukte - Pollen, BAG (Swiss Federal Office for Public Health), Berne; 2004.

CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R; MITCHELL, K.A; CUNHA, A. P. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 3, p. 742-745, 2003.

CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. De La Canal y Asociados, Buenos Aires, 1998.

MOHDALY, A.A.A.; MAHMOUD, A.A.; ROBY, M.H.H.; SMETANSKA, I.; RAMADAN, M.F. Phenolic extract from propolis and bee pollen: composition, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Food Biochemistry**. V.39, 538–547, 2015.

MORGANO, M.A.; MARTINS, M.C.; RABONATO, L.C.; MILANI, R.F.; YOTSUYANAGI, K.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Inorganic Contaminants in Bee Pollen from Southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.58, p. 6876-6883, 2010.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. **International Journal of Molecular Science**, v.13, 2012.

PEREIRA, D.C.; ADELINO, C.J.; OLIVEIRA, M.S.; SILVA, M.; HOLANDA-NETO, J.P. Apicultura como fonte de renda na comunidade de Vaca Morta no município de Marcelino Vieira – RN, Brasil. IX Congresso Brasileiro de Agroecologia. **Caderno de Agroecologia**, v.10, n.3, 2015.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; FONT, G.; MANE, J.; BERRADA, H.; Determination of Mycotoxins in Bee Pollen by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural Food Chem.** v. 61, p.1999–2005, 2013.

RZEPECKA-STOJKO, A.; PILAWA, B.; RAMOS, P.; STOJKO, J. Antioxidative Properties of Bee Pollen Extracts Examined by EPR Spectroscopy. **Journal of Apicultural Science.** v. 56, n.1, 2012.

SATTLER, J. A. G. Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α -, β -Caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil. Dissertação, Universidade de São Paulo, p.45, 2013.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.4, p. 779-785, 2007.

CAPITULO I

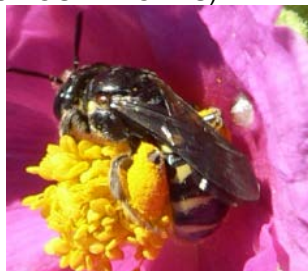
1. REVISÃO DE LITERATURA

Comercialmente o mel é o produto mais explorado e popular da apicultura. No entanto, outros produtos da colmeia como o própolis, a geléia real e o pólen tem crescente importância, se tornando fontes alternativas de renda para os apicultores (ARRUDA, 2013). A apicultura brasileira é formada basicamente por agricultores familiares, que possuem pequenos apiários, inseridos numa dinâmica de economia solidária, gerando renda adicional e contribuindo para a polinização das plantas nativas (SILVA & FREITAS, 2007). Conhecer os benefícios do pólen desidratado pode ser uma forma de agregar valor a esse produto da biodiversidade, podendo contribuir para a segurança alimentar e nutricional das famílias que o produzem e para quem o consome.

1.1 O PÓLEN APÍCOLA

O grão de pólen apresenta uma estrutura microscópica de coloração amarelada localizado nas anteras dos estames das angiospermas. Estas consistem nas células reprodutivas masculinas da planta. É coletado e transportado pelas abelhas para a colmeia através das patas traseiras, chamadas corbículas (Figura 1). O pólen consumido pelas abelhas é aquele estocado nos alvéolos, que recebeu mel, néctar e secreções glandulares, sofreu fermentação láctica ácida e é chamado de “pão das abelhas” (HERBERT Jr e SHIMANUKI, 1978; MURADIAN *et al.*, 2005; SOUZA, 2007; NOGUEIRA *et al.*, 2012).

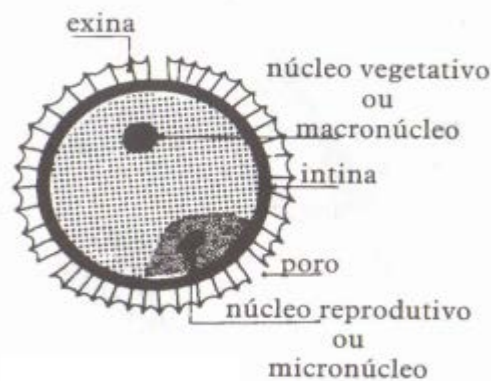
FIGURA 1 - ABELHA COLETANDO PÓLEN E ARMAZENANDO EM SUAS CORBÍCULAS (CAVIDADE DAS PATAS POSTERIORES)



FONTE: GONZÁLEZ-VARO, ORTIZ-SÁNCHEZ & MONTSERRAT VILÀ (2016)

O pólen é formado por duas membranas chamadas exina (externa), que dá rigidez ao grão de pólen e possui poros germinativos, e a intina (interna), na qual está presente o conteúdo nutricional (Figura 2). Em seu interior, o grão de pólen geralmente apresenta dois núcleos: um menor, reprodutivo, que dará origem a dois microgametas, e o outro maior, nutritivo, que formará um tubo polínico (VIDAL E VIDAL, 2006).

FIGURA 2 - GRÃO DE PÓLEN E SUAS CAMADAS EXTERNA (EXINA) E INTERNA (INTINA).



FONTE: VIDAL E VIDAL (2006).

Os grãos de pólen, após coletados pelas abelhas, podem apresentar diversas cores, variando entre branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, dependendo de sua origem botânica e da composição química dos pigmentos encontrados na exina (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005).

O pólen faz parte da colmeia, juntamente com a água e o mel. Para isso a procura por alimento na natureza é constante. Normalmente as abelhas trabalham em um raio de vôo de até 1500 metros, mas em períodos de escassez de alimentos a coleta de néctar e pólen pode ocorrer em distâncias maiores. Sem afetar o desenvolvimento da colmeia, técnicas foram desenvolvidas para o aproveitamento desses produtos apícolas, a partir da década de 1970, quando a apicultura passou a crescer e se expandir pela região Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (SOUZA, 2007). Os apicultores instalam coletores externos, na entrada da colmeia, para a retenção das pelotas de pólen (Figura 3), fazendo com que as abelhas, ao passarem pela tela, derrubem as pelotas de pólen na bandeja coletora que são retiradas diariamente. A tela permanece na colmeia por no máximo 2 semanas, para evitar o enfraquecimento das colônias (BRASIL, 2003).

FIGURA 3 - GAVETA E TELA EXTERNA COLETORAS DE PÓLEN



FONTE: HERVATIN (2009).

A apicultura é uma atividade que fortalece as colônias, não destrói, não polui e contribui para a preservação da mata nativa. No Brasil, muitas produções dependem de mata nativa para obtenção de néctar, pólen e resina. Logo, o apicultor assume naturalmente um papel de defensor da natureza (SOUZA, 2007).

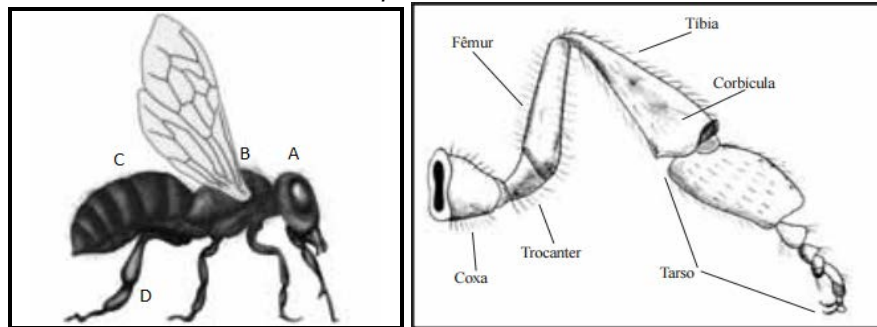
1.2 ABELHA *Apis mellifera*

Originária do continente africano, a abelha *Apis mellifera*, foi introduzida no Brasil por volta de 1840, pelos portugueses. As várias subespécies de *A. mellifera* se adaptaram a diversas condições ambientais, e, atualmente, formam uma enorme população mundial (SOUZA, 2007).

As abelhas apresentam uma estreita relação com as angiospermas, plantas que produzem frutos e flores. Além de obterem os nutrientes, realizam sua polinização. Estima-se que no mundo existam cerca de 250 mil espécies dessas plantas, sendo 20%, cerca de 50 mil presentes no território brasileiro (IBGE, 2016).

O corpo da abelha é dividido em cabeça, tórax e abdômen. No tórax se encontram três pares de pernas. Na pata posterior existe uma cavidade externa chamada corbícula ou cesta polínica (Figura 4) que serve para transportar os grãos de pólen aglutinados em pelotas. Na colmeia as larvas e as operárias jovens serão alimentadas com néctar (fonte de açúcares) e pólen (fonte de proteínas, minerais, lipídios e vitaminas) (BRASIL, 2007; SATTLER, 2015).

FIGURA 4 - PARTE DO CORPO (A) CABEÇA, (B) TORAX, (C) ABDOMEM, E (D) E PATA POSTERIOR DE UMA ABELHA *Apis mellifera*



FONTE: SENAR (2010).

1.3 PRODUÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA

A produção global de pólen gera cerca de 1.500 toneladas do produto por ano. A Espanha ocupa atualmente o título de maior produtor de pólen, seguido de China, Austrália, Argentina e Brasil, segundo dados do Programa Apícola Nacional - PAN, Portugal, 2011-2013. No entanto, apenas a Suíça, Argentina e Brasil possuem padrões de qualidade oficiais relativo ao pólen (BOGDANOV, GREMAUD, KÄNZIG & SEILER, 2004; CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO, 1998; BRASIL, 2001; ESTEVINHO *et al.*, 2012).

A apicultura, no cenário global, é um sistema com base ecológica, que incentiva o uso de boas práticas agrícolas para manter o equilíbrio e a diversidade do ecossistema, e também promove o uso sustentável dos recursos naturais, qualidade ambiental, bem-estar animal e da saúde humana. Alguns apiários são considerados orgânicos e recebem tal certificação por garantirem ao máximo que os produtos não apresentem problemas provenientes de precipitação, poluição e resíduos químicos. Mas a caracterização de pólen apícola é escassa e há falta de informação sobre as características dos produtos certificados como orgânicos (FEAS *et al.*, 2012).

Muitas colmeias estão localizadas próximas de lavouras, para proporcionar maior polinização de tais produções, no entanto estão mais sucessíveis a entrar em contato com agrotóxicos e/ou partículas contaminantes suspensas no ar. No Brasil, nem todas as produções são orgânicas e há predominância de base familiar. Em geral são pequenos apiários mantidos por família de agricultores com produção agroecológica, sem uso de agrotóxicos e inseridos na dinâmica da economia solidária que é caracterizada pela pouca exigência de mão de obra e de recursos.

Desta forma, a apicultura se desenvolve como uma atividade que gera renda adicional e que favorece o consumo mais freqüente dos produtos provenientes da abelha, sem falar nos benefícios da polinização das plantas nativas, frutíferas e exóticas que induz a ampliação do volume de frutos e sementes e, conseqüentemente crescimento da diversidade vegetal e maior produtividade (SILVA, 2007).

Atualmente, no Brasil, são 14 federações, 200 associações em nível municipal e regional e 160 empresas apícolas registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com Serviço de Inspeção Federal (SIF). No entanto, grande parte das associações e cooperativas não estão vinculada as Federações e não tem registro no MAPA. Existem no Brasil, algumas redes, como a Rede Abelha, que se preocupa em assumir uma produção alternativa, de base ecológica, justa e solidária. Cerca de 7 mil famílias, distribuídas em 7 estados do Nordeste brasileiro, estão articulados pela Rede Abelha. Essa articulação visa o desenvolvimento da apicultura como alternativa de produção sustentável para o fortalecimento da agricultura familiar. Outra articulação é a Rede Apis que é fruto do SEBRAE com mais de 240 parceiros nacionais e internacionais, que vem apoiando a implantação de projetos de apicultura. A EPAGRI-SC (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural), dentro do programa de Produção Animal tem um projeto direcionado para a apicultura. E a EMATER-RS (Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural) trabalha com apicultura dentro do Programa de Pecuária Familiar (SILVA, 2007).

1.4 APICULTURA, NATUREZA E SOCIEDADE

A apicultura é uma das poucas atividades que contempla todos os elementos do tripé da sustentabilidade: (i) o econômico, complementando a renda dos produtores; (ii) o social, criando oportunidade de ocupação produtiva da mão de obra familiar no campo; e (iii) o ecológico, já que as abelhas necessitam de plantas vivas para a retirada do pólen e do néctar de suas flores, suas fontes alimentares básicas (ALCOFORADO FILHO, 1997).

A criação da abelha vem sendo incentivada em diversas regiões no Brasil. Na Amazônia, dentro do sistema diversificado do uso da terra, a atividade apícola se

apresenta como novo potencial para exploração sustentável. Embora a apicultura seja praticada tradicionalmente em algumas regiões do país (Sul, Sudeste e Nordeste) os estados da região Norte estão despertando para sua importância, seja como complementação de renda ou como atividade geradora de renda fixa (SILVA *et al.*, 2006).

Como demonstrado em trabalho publicado em 2009, um grupo de pesquisadores da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB) treinou agricultores familiares interessados no manejo de abelhas *Apis mellifera*. O objetivo foi maximizar a produção local utilizando os agentes polinizadores nas áreas cultivadas, pois a interação abelhas e plantas garante a polinização cruzada e contribui para o fortalecimento das espécies. As comunidades no recôncavo baiano, possuíam as condições ecológicas favoráveis para a implementação das atividades apícolas, como pouco tempo para manejo, pequena área para as colmeias e a não competitividade com outras atividades agropecuárias, porém pouco exploradas e não executadas de forma sustentável. Além das instruções técnicas, o treinamento focava também na importância da preservação ambiental, visando alcançar uma produção sustentável, incentivando a conservação das espécies vegetais e abelhas nativas (JESUS *et al.*, 2009).

O mesmo sistema de apoio, governamental ou não, foi observado em assentamentos rurais de Tocantins (BRASIL, 2016a) e Sergipe (BRASIL, 2016b), em uma comunidade indígena em Alagoas (BRASIL, 2016c), com agricultores familiares no Piauí (BRASIL, 2016d) e com uma comunidade quilombola em São Paulo (CANO, *et al.*, 2015).

Os modelos de produção apícola exemplificados anteriormente estão fortemente ligados à soberania e segurança alimentar. O que significa que as famílias agricultoras e/ou comunidades rurais dependem muito pouco de recursos de fora da propriedade e/ou comunidade para se manterem; conservam o solo, os animais silvestres e principalmente as plantas nativas; otimizam matas ciliares; respeitam as características da produção familiar, bem como conhecimentos e saberes locais, adicionando técnicas aprendidas; há também um intenso cuidado e valorização dos recursos naturais e pela agrobiodiversidade local (PACHECO *et al.*, 2010).

1.5 AGENTES BENÉFICOS: COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL DO PÓLEN

Os nutrientes requeridos pelas abelhas, salvo suas particularidades, são os mesmos requeridos por outras espécies animais: proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais e água. No entanto, para as abelhas, em condições naturais, os nutrientes necessários provêm apenas do néctar, do pólen e da água. O néctar satisfaz as necessidades de carboidratos, fundamental para a geração de energia, o pólen supre as necessidades de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, e a água cumpre seu papel de transportar e dissolver substâncias e mediar reações químicas (PINHEIRO *et al.*, 2009).

A composição química do pólen varia de acordo com a espécie vegetal, as condições ambientais, a estação do ano e a origem geográfica (NOGUEIRA *et al.*, 2012). Na Tabela 1 apresentam-se alguns valores referentes à análise físico-química do pólen apícola desidratado, estudado por alguns autores, baseando-se na legislação brasileira sobre a fixação de identidade e qualidade do pólen apícola (BRASIL, 2001).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PÓLEN APÍCOLA IDENTIFICADO POR ALGUNS ESTUDOS BRASILEIROS

	UMIDADE (%)	pH	PROTEÍNAS (%)	FIBRA BRUTA (%)	AÇUCARES TOTAIS (%)	LIPÍDIOS (%)	CINZAS (%)	REFERÊNCIA
1	NA	5,1	21,0	NA	NA	3,0	3,0	REIS e MARCHINI (2000)
2	8,78	4,6	21,20	NA	NA	8,80	2,79	BASTOS <i>et al.</i> (2003)
3	24,1	NA	26,2	1,1	NA	5,1	2,4	FUNARI <i>et al.</i> (2003)
4	7,4	NA	21,0	NA	NA	7,0	2,4	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> (2005)
5	3,96	4,54	15,78	4,60	37,36	3,82	2,89	BARRETO <i>et al.</i> (2005)
6	4,23	NA	20,50	3,4	52,1	4,9	2,9	CARPES (2009)
7	2,34	NA	23,59	NA	NA	4,97	3,08	MELO <i>et al.</i> (2009)
8	5,53	NA	19,57	NA	NA	7,34	2,65	MARTINS <i>et al.</i> (2011)
9	3,47	NA	23,88	NA	NA	5,39	2,98	ARRUDA <i>et al.</i> (2013)

NA: Não Analisado

O pólen tem recentemente recebido atenção especial entre os pesquisadores de todo o mundo devido as suas propriedades biológicas, como atividade antioxidante (CAMPOS *et al.*, 2003; CARPES *et al.*, 2007; CARPES *et al.*, 2008; RZEPECKA-STOJKO *et al.*, 2012), antibacteriana (GARCIA *et al.*, 2001). O extrato de pólen tem sido utilizado no tratamento de alguns casos de prostatite benigna (SHOSKES, 2002). Estudos têm demonstrado que a ação biológica do pólen é devido à presença de compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos e

diterpenos fenólicos (CARPES *et al.*, 2008). Um estudo realizado em Minnesota, Estados Unidos, indicou que o pólen rico em flavonóides pode ser incluído na dieta de mulheres pós-menopausa, a fim de diminuir riscos de doença cardiovascular (YOCHUM *et al.*, 1999).

De modo geral o pólen desidratado apresenta de 10 a 40% de proteínas, 1 a 13% de lipídeos, 13 a 50% de carboidratos totais e de 2 a 6% de cinzas (Campos *et al.*, 2003).

A China, um dos maiores produtores de pólen apícola do mundo, estudou 12 amostras e verificou que a porcentagem de aminoácidos essenciais em relação aos totais alcança recomendação nutricional da Food and Agriculture Organization - FAO (YANG *et al.*, 2013). Vinte amostras de pólen apícola de várias regiões da Espanha foram analisadas e apresentaram altos índices de prolina, 63,1% dos aminoácidos livres totais, 15,3 % de proteínas totais, 32,9 g/100 g de açúcares redutores e baixos teores de ácidos graxos saturados, que faz do pólen um complemento alimentar de excelente qualidade nutricional (SERRA BONVEHÍ; ESCOLÀ JORDÀ, 1997).

Em menor quantidade, estão presentes também vitaminas (C, E, complexo B e carotenóides precursores da vitamina A), minerais (K, Na, Ca, Mg, P, S, Al, Cl, Cu, I, Fe, Mn, Ni, Si, Ti, Zn) e enzimas (ALMEIDA-MURADIAN, 2011; YANG *et al.*, 2013).

Vinte e oito amostras de pólen foram analisadas no sul do Brasil e apresentaram quantidades de vitaminas do complexo B superior a outros alimentos na mesma proporção, descritos na literatura (fígado bovino, coração de frango, amêndoas, abacaxi, alface e agrião), como fornecedores desse micronutriente (SOUZA, 2014).

Serra Bonvehí e Escolà Jordà (1997) encontraram uma variedade de minerais, onde o potássio foi predominante 59% do total, seguido pelo fósforo, cálcio, sódio e magnésio (somando 39,9%). Os elementos ferro e zinco encontrados no pólen representam 5% da dose diária recomendada (RDA) que é de aproximadamente 15 mg para o zinco. O teor de zinco registrado no pólen apresenta maior proporção quando comparado a outros produtos apícolas. A presença de zinco, cobre, ferro, potássio e sódio tornam o pólen apícola um alimento interessante para dietas com um balanço eletrolítico definido (CARPES, 2008).

Outras análises químicas mais específicas têm sido realizadas, a fim de verificar a existência de vitaminas antioxidantes, como o betacaroteno (provitamina

A) (MURADIAN *et al.*, 2005). A função mais conhecida dos carotenoides é a sua capacidade de ser metabolicamente convertido em retinóides. Os carotenoides que tem essa capacidade são chamados de pró-vitâmicos A (KRINSKI *et al.*, 2001).

Evidências epidemiológicas sugerem que a ingestão de betacaroteno, assim como os compostos fenólicos, pode inibir certos tipos de câncer e doenças mediadas por radicais livres. A capacidade dos carotenóides como agentes quelantes do oxigênio singlete molecular é bem conhecida. Assim como a prevenção do câncer, o potencial antioxidante dos carotenoides pode ser útil na inibição de doenças provocadas pela ação dos radicais livres entre elas aterosclerose, catarata, degeneração muscular, esclerose múltipla, câncer e doenças cardiovasculares (SATTLER, 2013).

1.6 AGENTES DE RISCO: DESENVOLVIMENTO DE BOLORES E MICOTOXINAS NO PÓLEN

Bolores são fungos filamentosos que se encontram distribuídos na natureza. Esses organismos pertencentes ao Reino Fungi são encontrados em condições terrestres úmidas e, se alimentam de organismos mortos em decomposição. São encontrados no solo, em superfícies de vegetais, nos animais, no ar e na água. Estão em maiores quantidades geralmente nos vegetais, especialmente em frutos, por meio dos quais transmitem doenças. Nos alimentos provocam deterioração (emboloramento) e crescimento de micotoxinas (FERREIRA, 2012).

A maioria dos microrganismos que causam deterioração apresentam dificuldade de se desenvolver em produtos com atividade de água (A_w) inferiores a 0,90. O crescimento de fungos cessa em A_w abaixo de 0,70. Pode-se considerar que um alimento apresenta-se estável geralmente quando a sua A_w é inferior a 0,60 sendo esses alimentos classificados como desidratados (LABUZA, 1980).

Quando a secagem ou a desidratação são insuficientes ou realizadas de maneira incorreta, logo após a coleta, o pólen pode se tornar substrato para o crescimento de fungos, ocasionando a produção de micotoxinas. As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por uma grande variedade de espécies de fungos tais como *Fusarium* (fumosinas e zearalenona), *Aspergillus* (aflatoxinas e ocratoxinas) e *Penicillium* (ocratoxina) (RODRÍGUEZ-CARRASCO *et al.*, 2013).

A produção de micotoxinas é influenciada principalmente pela temperatura e umidade e a ocorrência dessa contaminação em diversos alimentos, como cereais, especiarias, frutos secos e café, torna sua investigação importante. O contato humano com as micotoxinas pode levar a problemas de saúde. Essa preocupação está relacionada à preservação microbiológica do produto, uma vez que afetam sua qualidade sensorial e vida de prateleira (RODRÍGUEZ-CARRASCO *et al.*, 2013).

A legislação (Brasil, 2011) dispõe sobre o limite máximo tolerado de 10 µg/kg para Aflatoxina B1, B2, M1 e M2 considerado para frutas desidratadas e secas.

1.7 AGENTES DE RISCO: PRESENÇA DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS NO PÓLEN

O pólen apícola desidratado pode apresentar contaminantes inorgânicos devido ao desenvolvimento industrial e ao consumo de produtos petrolíferos que levam ao aumento dos níveis de poluição atmosférica, sobretudo nas zonas urbanas e industriais. Assim, durante o vôo de polinização, a abelha está exposta a esses poluentes atmosféricos. Metais pesados associados aos poluentes atmosféricos têm grande alcance no que diz respeito à importância econômica e ecológica de pólen (KALBANDE *et al.*, 2008).

Da mesma forma, 43 amostras de pólen (MORGANO *et al.*, 2010) comercializadas no Sudeste brasileiro foram identificadas com contaminantes inorgânicos, como alumínio, arsênio, mercúrio e chumbo o que sugere que a contaminação pode ocorrer mediante o ar ou solo e depende da localização área urbana ou rural dos apiários. Os autores concluíram que alguns compostos estavam acima do recomendado pela FAO (FAO/WHO, 1989) para ingestão semanal e que o pólen pode ser sensível à poluição ambiental servindo de bioindicador o que indica a necessidade de monitoramento constante para sua ingestão de forma segura.

Na Tabela 2 são apresentados alguns componentes relevantes e seus limites máximos toleráveis.

TABELA 2 - LIMITE DE INGESTÃO DIÁRIA DE ALGUNS CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS SECOS

COMPOSTOS	LIMITE MÁXIMO DE TOLERÂNCIA
Alumínio (mg/kg/peso)	1*
Arsênio (mg/kg)	1,0 **
Mercúrio (mg/kg)	1,0 **
Chumbo (mg/kg)	2,0 **
Níquel (mg/dia)	1***
Cádmio (mg/kg)	1,0**
Cromo (ppm)	0,10 ***

* FAO/WHO, 1989; ** BRASIL, 1998; *** BRASIL, 1965.

1.8 VIABILIDADE POLÍNICA

A estimativa de viabilidade polínica é importante, pois evidencia o potencial de reprodução masculina da espécie (FRESCURA *et al.*, 2012). Essa medida pode ser estimada, de forma indireta, baseada em parâmetros citológicos mediante métodos colorimétricos (MUNHOZ *et al.* 2008), dentre eles a utilização do reativo de Alexander (ALEXANDER, 1980).

O reativo de Alexander permite a distinção entre polens viáveis e inviáveis corando de forma diferenciada a celulose da parede do grão de pólen, em verde-claro-azulado, e o protoplasma, em púrpura, facilitando a distinção (ALEXANDER, 1980). Os grãos corados inteiramente de verde-claro-azulado, possuem seu conteúdo nutricional indisponível.

A partir do conhecimento sobre viabilidade do pólen apícola e seu conteúdo nutritivo associado à avaliação da presença de contaminantes inorgânicos e/ou compostos micotoxigênicos na superfície dos grãos, é possível calcular com mais precisão a quantidade de nutrientes disponíveis para absorção.

1.9 PÓLEN E A SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL

Os agricultores familiares, incluindo apicultores, podem comercializar seus produtos, sobretudo o pólen apícola, para o programa de alimentação escolar a fim de enriquecer da merenda escolar, das escolas.

A alimentação escolar é um direito constituído e um dever do Estado, desde 1988. A compra dos alimentos passou a ser planejada pelos municípios segundo a cultura alimentar das comunidades e a maior participação da sociedade civil, o que acarretou no aumento de recursos federais. Além de suprir um mínimo de calorias

para os estudantes, fez-se referência ao equilíbrio nutricional, cultural e a educação em saúde, deixando de ser apenas um programa assistencialista, mas caracterizando-o como um direito do cidadão a alimentação adequada (TRICHES & SCHNEIDER, 2010).

A alimentação saudável na escola, esta prevista na Ementa Constitucional nº 64 (BRASIL, 2010), como um direito social, através da definição de segurança alimentar e nutricional, que se refere ao direito a uma alimentação saudável, acessível, de qualidade, em quantidade suficiente e de modo permanente. Tem como base a prática ambiental, cultura, econômica e socialmente sustentável com respeito das particularidades e características culturais de cada região e além disso, a alimentação deve ser promotora de saúde, sem nunca comprometer o acesso a outras necessidades essenciais (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010).

REFERENCIAS

ALCOFORADO FILHO, F.G. Flora da caatinga: conservação por meio da apicultura. In CONGRESSO NACIONAL DE BOTANICA, Crato. **Anais**. Fortaleza: BNB, 1997. V.1, p.362-370, 1997.

ALMEIDA, C.; AMARAL, A. L. do; NETO, J. F. B.; SERENO, M. J. C. de M. Conservação e germinação in vitro de pólen de milho (*Zeamayssubsp. mays*). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 493-497, 2011.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.A.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**.v.18, p.105–111, 2005.

ARRUDA, V.A.S. **Pólen apícola desidratado**: composição físico-química, qualidade microbiológica, compostos fenólicos e flavonóides, atividade antioxidante e origem botânica. 202 f.Tese (Doutorado em Farmácia) Faculdade de Ciência Farmacêutica. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÊNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial da União**.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria De Vigilância Sanitária. Portaria Nº 685, de 27 De Agosto De 1998. Aprova o Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos" e seu Anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos". **Diário Oficial da União da Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF. de 28 de agosto de 1998.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria De Vigilância Sanitária. Portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998. Adota valores como níveis de IDR para as vitaminas, minerais e proteínas. **Oficial da União da Republica Federativa do Brasil**.16 de janeiro de 1998.

BRASIL. Ministério Da Agricultura. Secretaria De Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DISPOA. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001b. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de abelha, Geleia real, Geleia real liofilizada, Pólen apícola, Própolis e Extrato de própolis. 23 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério Da Justiça. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento - Mapa; Ministério Do Meio Ambiente – Mma. **Lei n. 10.831**, 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Oficial da União da Republica Federativa do Brasil**. 24 de dezembro de 2003.

BRASIL. Lei Orgânica de Segurança Alimentar Nutricional (Losan). Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e

Nutricional - SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. 2006.

BRASIL. Emenda Constitucional n. 64, de 4 de fevereiro de 2010. Altera o art. 6º da Constituição Federal, para introduzir a alimentação como direito social **Oficial da União da República Federativa do Brasil**, fevereiro de 2010.

BRASIL. Ministério Do Desenvolvimento Agrário (Mda). Assentamentos investem na apicultura e criam marca. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/noticias/assentados-investem-na-apicultura-e-criam-marca-pr%C3%B3pria> . Acessado em 04 fev. 2016a.

BRASIL. Ministério Do Desenvolvimento Agrário (Mda). Apicultura estimula preservação ambiental em assentamento sergipano. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/noticias/apicultura-estimula-preserva%C3%A7%C3%A3o-ambiental-em-assentamento-sergipano>. Acessado em: 04 fev. 2016b.

BRASIL. Ministério Do Desenvolvimento Agrário (Mda). Apicultura beneficia indígenas de Alagoas. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/casos-sucesso/apicultura-beneficia-ind%C3%ADgenas-de-alagoas>. Acessado em: 04 fev. 2016c.

BRASIL. Ministério Do Desenvolvimento Agrário (Mda). Benefícios nutricionais e ambientais são destaques na Semana do Alimento Orgânico – Nordeste. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/radio-mda/benef%C3%ADcios-nutricionais-e-ambientais-s%C3%A3o-destaques-na-semana-do-alimento-org%C3%A2nico-nordeste>. Acessado em: 04 fev. 2016d.

CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R.; MITCHELL, K.A; CUNHA, A. P. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 3, p. 742-745, 2003.

CANO, C.B; LUZ, C.F.P; CORREA, A.M.S; ESTEVES, L.M; CRUZ-BARROS, M.A.V; BOSCO, L.B; ROSSI, I; VIOTTI, M.R; PEREIRA, A.M; PERIGOLLI, E.G. Quilombolas: a produção de mel na apicultura familiar do Vale do Ribeira, São Paulo. **Vigilância Sanitária Debate**. V. 3, nº 4, p. 3-10, 2015.

CARPES, S.T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Study Of Preparations Of Bee Pollen Extracts, Antioxidant And Antibacterial Activity. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1818-1825, 2007.

CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, Vol. 31, No. 7, 1660-1664, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Criação de abelhas: apicultura. Brasília, DF. 113p. 2007.

ESTEVINHO, L.; RODRIGUES, S.; PEREIRA, A. P.; FÉAS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.429–435, 2012.

FEAS, X.; VAZQUEZ-TATO, M.P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J.A.; IGLESIAS, A. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. **Molecules**, v.17, 2012.

FERREIRA, R.C. Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Meliponas cutellaris Latreille* submetido a diferentes processos de desidratação. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. Mestrado em Ciência dos Alimentos. Salvador, p. 45-47, 2012.

FRESCURA, V. D.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; CANTODOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. *Biocell*, v. 36, n. 3, p. 143-145, 2012.

GARCÍA, M.; PÉREZ-ARQUILLUE, C.; JUAN, T.; JUAN, M. I.; HERRERA, A. Note: Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. **Food Science and Technology International**, London, v. 7, n. 2, p. 155-158, 2001.

GONZÁLEZ-VARO, J.P.; ORTIZ-SÁNCHEZ, F.J. MONTSERRAT VILÀ. Total Bee Dependence on One Flower Species Despite Available Congeners of Similar Floral Shape. **Plos One**. September 22, 2016.

HERBERT Jr.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. **Apidologie**, v. 9, n.1, p.33-40.

HERVATIN, H.L. avaliação microbiológica e físico-química do pólen apícola in natura e desidratado sob diferentes temperaturas. Tese de Mestrado. Campinas, 2009.

INSTITUTO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Disponível em: <http://teen.ibge.gov.br/mao-na-roda/flora-brasileira/especies-de-plantas.html>. Acesso em: 17 de setembro de 2016.

JESUS, J.N.; VIEIRA, J.F.; SANTANA, A.N.A.; CARVALHO, C.A.L. Capacitação em Manejo de Abelhas melíferas para Agricultores Familiares Realizado no Município de Cruz das Almas, Bahia. **Revista Brasileira De Agroecologia**. v. 4, n.2, 2009.

KALBANDE, D.M.; DHADSE, S.N.; CHAUDHARI, P.R.; WATE, S.R. Biomonitoring of heavy metals by pollen in urban environment. **Environ Monit Assess**, v.138, p.233–238, 2008.

KRISNKI, N. I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, v.17, n.10, p.815-817, 2001.

LABUZA, T.P. The Effect of Water Activity on Kinetics of Food Deterioration. **Food Technology**. Chicago, v.39, n.4, p.36-41, 1980.

MORGANO, M.A.; MARTINS, M.C.; RABONATO, L.C.; MILANI, R.F.; YOTSUYANAGI, K.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Inorganic Contaminants in Bee Pollen from Southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, p.6876-6883, 2010.

MUNHOZ, M.; LUZ, C. F. P.; MEISSNER FILHO, P. E.; BARTH, O. M.; REINERT, F. Viabilidade polínica de *Caryca papaya* L.: Uma comparação metodológica. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 31, n. 2, p. 209-214, 2008.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. **International Journal of Molecular Science**, v.13, 2012.

ÖZCAN, M.; ÜNVER, A.; CEYLAN, D. A.; YETISIR, R.; Inhibitory effect of pollen and propolis extracts. *Nahrung-Food*. v.48, p.188, 2004.

PACHECO, M.E.L.; SCHOTZ, V.; RIGON, S. A.; CASSARINO, J.P.; LEITE, C.E. Soberania e segurança alimentar na construção da agroecologia: sistematização de experiências. Grupo de Trabalho em Soberania e Segurança Alimentar da Articulação Nacional de Agroecologia - GT SSA/ANA. - 1.ed. - Rio de Janeiro : FASE, 2010.

PINHEIRO, E.B.; MARACAJÁ, P.B.; MESQUITA, L.X. SOTO-BLANCO, B.; OLIVEIRA FILHO, R.B. Efeito de diferentes alimentos sobre a longevidade de operárias de abelhas Jandaíra em ambiente controlado. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.4, n.3, p.50-56, 2009.

REIS, V.D.A.; MARCHINI, L.C. Análises Físico-Químicas de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Piracicaba, SP. *In: XIII Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis. 2000.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; FONT, G.; MANE, J.; BERRADA, H.; Determination of Mycotoxins in Bee Pollen by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural Food Chem**. v.61, p.1999–2005, 2013.

RZEPECKA-STOJKO, A.; PILAWA, B.; RAMOS, P.; STOJKO, J. Antioxidative Properties of Bee Pollen Extracts Examined by EPR Spectroscopy. **Journal of Apicultural Science**. v. 56, n.1, 2012.

SATTLER, J. A. G. Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α -, β -Caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil. Dissertação, Universidade de São Paulo, p.45, 2013.

SENAR - SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL. Abelhas *Apis mellifera*: instalação do apiário / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. -- 2. ed. Brasília: SENAR, 2010.

SERRA BONVEHÍ, J.; ESCOLÀ JORDÀ, R. Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.3, p.725-732, 1997.

SHILS, M.E; SHIKE, M; ROSS, A.C; CABALLERO, B; COUSINS, R.J. Nutrição moderna na saúde e na doença. 2ed. Barueri, SP: Manole, 2009.

SHOSKES, D.A. PhytotherapyIn Chronic Prostatitis. **Urology**.(Supplement 6A), v.60, December 2002.

SILVA, G. F.; VENTURIERI, G. C.; SILVA, E. S. A. Meliponicultura como alternativa de desenvolvimento sustentável: gestão financeira em estabelecimentos familiares no município de Igarapé-Açu, PA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16.; CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 2. 2006, Aracaju. Anais. Aracaju, 2006. CD-ROM.

SILVA, P. R. P.; FREITAS, E. S. J. Olhando a cadeia produtiva do mel e dos produtos apícolas no Brasil. **Cartilha da Sistematização de Informações sobre Cadeia Apícola**. Natal, RN. p.6-9, 2007.

SOUSA, D. C. Apicultura: manual do agente de desenvolvimento rural. (Rede APIS – Apicultura Integrada e Sustentável). Brasília: **Sebrae**, Ed.2, 186p, 2007.

SOUZA, B. R. Quantificação das vitaminas do complexo B (B1, B2) e vitâmeros das vitaminas B3 e B6 em amostras de pólen apícola desidratado proveniente da Região Sul do Brasil. Tese (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2014

TRICHES, R.M; SHNEIDER, S. Alimentação Escolar e Agricultura Familiar: reconectando o consumo à produção. *Saúde Soc. São Paulo*, v.19, n.4, p. 933-945, 2010.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. Botânica Organografia. Viçosa: UFV, 2006. 114p.

WHO/FAO. Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd Report. Geneva: World Health Organization – WHO, Technical Report Series n 776, p. 26, 27, 47, 1989.

YANG, K.; WU, D.; YE, X.; LIU, D.; CHEN, J.; SUN, P. Characterization of Chemical Composition of Bee Pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.v.61, p.708–718, 2013.

YOCHUM, L.; FUSHI, L.H.; MEYER, K.; FOLSOM, A.R. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. **American Journal of Epidemiology**. v.149, n.10, 1999.

CAPITULO II

CARACTERISTICAS DE QUALIDADE DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

QUALITY CHARACTERISTICS OF DEHYDRATED BEE POLLEN

Tamsyn Kaminski^a; Marlene Bampi^a; Marcia Regina Beux^b; Sila Mary Rodrigues Ferreira^{c*}

^a Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Universidade Federal do Paraná, Campus III. 80.210-170. Curitiba, PR, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, PO Box 19031, Jardim das Américas, Zip code: 81.531-980. Curitiba, PR, Brasil.

^c Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Paraná, Campus III. 80.210-170. Curitiba, PR, Brasil.

* Corresponding author: Tel.: +55413360-4017; fax: +55413360-4133. E-mail address: sila.ufpr@gmail.com.

RESUMO

O pólen apícola desidratado tem propriedades nutritivas e terapêuticas que o tornam atraente para o consumo humano. No entanto, são necessários estudos sobre a composição dos nutrientes e compostos bioativos deste produto, bem como a verificação da presença de contaminantes que são prejudiciais para a saúde. Este trabalho teve como objetivo identificar as características de qualidade de 12 amostras de pólen apícola desidratado. As amostras destacaram-se na porção de 7g a presença de 1.12 a 1.58 g de proteína, 1.85 a 2.51 g de açúcares redutores, 18.90 a 1101.64 µg de betacaroteno, 19.44 a 1111.03 µg de licopeno, 0.89 a 15.78 mg de vitamina C e quantidades significativas de fósforo e potássio indicando, assim, qualidade nutricional. Não foram detectadas micotoxinas e as quantidades de contaminantes inorgânicos não excederam os limites de ingestão, proporcionando um consumo seguro na porção diária. A atividade antimicrobiana apresentou

concentração mínima inibitória entre 0.5 e 2 g de extrato etanólico de pólen apícola para diferentes microrganismos, sugerindo que o consumo deste produto pode atuar na manutenção da flora microbiana presente no organismo.

Palavras-chaves: pólen apícola, minerais, licopeno, vitamina C, viabilidade polínica.

ABSTRACT

Dehydrated bee pollen has nutritional and therapeutic properties that make it attractive for human consumption. However, studies on the composition of the nutrients and bioactive compounds of this product are required, as well as the presence of contaminants that are harmful to health. This work aimed to identify the quality characteristics of 12 samples of dehydrated bee pollen. The presence of 1.12 to 1.58 g of protein, 1.85 to 2.51 g of reducing sugars, 18.90 to 1101.64 µg of beta-carotene, 19.44 to 1111.03 µg of lycopene, 0.89 to 15.78 mg of vitamin C and amounts Phosphorus and potassium indicating nutritional quality. No mycotoxins were detected and the amounts of inorganic contaminants did not exceed the limits of ingestion, providing a safe consumption in the daily portion. The antimicrobial activity presented a minimal inhibitory concentration between 0.5 and 2 g of ethanolic extract of bee pollen for different microorganisms, suggesting that the consumption of this product can act in the maintenance of the microbial flora present in the organism.

Key words: bee pollen, minerals, lycopene, vitamin C, pollen viability.

1. INTRODUÇÃO

A apicultura é incentivada em todo o mundo por ser considerada uma atividade potencialmente sustentável, seja complementando renda da família no campo ou conservando a mata nativa (Pereira, Adelino, Oliveira, Silva & Holanda-Neto, 2015). Atualmente, o pólen apícola tem recebido grande atenção em função das suas propriedades nutritivas e terapêuticas (Costa, Morgano, Ferreira & Milani, 2017).

O pólen é obtido a partir da aglutinação de pólen de flores com pequenas quantidades de néctar e substâncias salivares pelas abelhas *Apis mellífera* (Funari et al., 2003). O qual é transportado até a colmeia nas corbículas (pernas traseiras) das abelhas (Nogueira, Iglesias, Feas & Estevinho, 2012). Em sua composição são

encontrados carboidratos, fibras brutas, proteínas e lipídios, e em menor quantidade componentes como aminoácidos, minerais, vitaminas, carotenóides, compostos fenólicos e outros. Além do seu valor nutricional, o pólen apresenta vários efeitos na promoção de saúde humana, como atividade antitumorais, antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Kostić et al., 2015a).

A importância nutricional do pólen para seres humanos é reconhecida por ser uma fonte protéica, apresentando também carboidratos, lipídeos e minerais em sua composição. Possui também vitaminas antioxidantes (β -caroteno como pró-vitamina A, vitaminas C e E) e ainda as vitaminas D e do complexo B (Muniategui, 1990 e Campos Markham, Mitchell & Cunha, 1997).

No entanto a composição do pólen pode variar em função de vários fatores, como a espécie floral, localização geográfica, condições nutricionais da planta, meio ambiente, métodos de extração e armazenamento entre outros (Herbert & Shimanuki, 1978). Uma vez que cada grão de pólen pode conter centenas de grãos de pólen floral (Nogueira, Iglesias, Feas & Estevinho, 2012). A variação da sua composição pode interferir em suas propriedades. O que demonstra a importância do conhecimento da composição nutricional e das propriedades bioativas (Aloisi & Ruppel, 2014; Kostic et al., 2015b), uma vez que o pólen apícola tem sido utilizado como complemento na dieta humana (Yang et al., 2013; Kostic et al., 2015a; Krystijan, Gumul, Ziobro & Korus, 2015).

Os benefícios do pólen apícola são otimizados quando há rompimento do grão no momento da ingestão, uma vez que sua capa de celulose é responsável pela resistência à ação dos sucos digestivos. Quando os grãos se rompem, mediante a maceração ou mastigação, o conteúdo viável fica exposto podendo ser melhor aproveitado (Souza, Schemberg & Aguiar, 2010).

Por outro lado, o pólen apícola pode apresentar contaminantes inorgânicos, devido à proximidade dos apiários com áreas urbanas uma vez que entram em contato com a poluição industrial e veicular (Morgano et al., 2010), dependendo da localização geográfica. Além disso, o pólen apícola pode apresentar fungos que favorecem o desenvolvimento de micotoxinas, devido à falha no processo de boas práticas de manipulação do produto. Desta forma, investigar a presença de micotoxinas pode trazer informações sobre a qualidade do pólen apícola desidratado (Rodríguez-Carrasco, Font, Mane & Berrada, 2013).

O interesse científico pelo pólen apícola é recente e poucos pesquisadores se dedicam ao estudo de sua composição nutricional e atividades biológicas. Esta pesquisa pode contribuir para a segurança alimentar e nutricional do consumo e fortalecimento da comercialização desse produto pelos agricultores familiares. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi identificar as características de qualidade do pólen apícola desidratado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Para realização do experimento foram adquiridas 12 marcas comerciais de pólen desidratado em triplicata, na cidade de Curitiba, Paraná, Brasil com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF), período de validade de um ano e embalagens lacradas. As amostras foram levadas ao laboratório para homogeneização do conteúdo das embalagens, em um único frasco asséptico. Na Figura 1 estão identificados os locais de produção das amostras de pólen estudadas.

FIGURA 1 - LOCAL DE PRODUÇÃO DAS AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA.



FONTE: O autor (2015)

2.2 Análise físico-química

Os resultados da composição centesimal, conteúdo de betacaroteno, licopeno, vitamina C, minerais e nível de ingestão tolerável de contaminantes inorgânicos foram calculados em uma porção de sete (07) gramas, conforme indicado no rótulo do produto. Uma vez que não há uma recomendação de ingestão diária estabelecida para o pólen.

A quantidade de amostra utilizada nas análises físico-química teve como base o Manual de Controle de Qualidade do Pólen Apícola (Almeida-Muradian, Arruda & Barreto, 2012), o qual utiliza como parâmetros a legislação vigente (Brasil, 2001b).

A atividade de água (a_w) foi determinada por meio do *AquaLab* PRE CAP®, (IAL, 2008). As demais análises foram realizadas seguindo os métodos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005). O teor de umidade (método 925.09) foi determinado por secagem direta em estufa a 105°C até massa constante. O potencial hidrogeniônico (pH) (método 981.12) foi determinado utilizando um pHmetro. A acidez titulável (método 942.15) foi expressa em mg de ácido cítrico. O teor de cinzas (método 923.03) foi determinado por incineração em mufla a 550 °C. O conteúdo proteico foi determinado pelo método de Kjeldahl (método 920.87) e lipídios totais (método 920.85) por extração intermitente de Soxhlet.

A análise de açúcares totais e redutores foram realizados pelo método Somogyi (1945), Nelson (1944) e Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers & Smith (1956) em espectrofotômetro (UV-VIS Femto, São Paulo, SP) com comprimento de 490 e 535 nm, respectivamente. Os carboidratos foram calculados por diferença, considerando a soma dos teores de proteínas, lipídios, cinzas e umidade. O valor energético total (VET) foi calculado segundo conversão de *At Water* (Osborne & Voogt, 1978).

2.3 Determinação de minerais

A identificação e quantificação dos minerais presentes nas amostras foram determinados utilizando um espectrômetro de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), modelo Varian 720-ES com vista axial (Palo

Alto, USA). Amostras de 10 g de pólen foram incinerada em mufla a 550 °C, e as cinzas das amostras obtidas foram solubilizadas em ácido nítrico (8% m/m). Em seguida foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml e completando o volume com água ultra pura.

2.4 Determinação de carotenoides

Os teores de betacaroteno e licopeno foram analisados conforme metodologia de Rodriguez-Amaya, (2008) e Britton (1995) e determinados em espectrofotômetro (Glod S53 UV-Vis, Ningbo Biocotek) a 450 e 490 nm, respectivamente. As quantidades foram calculadas pela Eq. (1).

$$\text{Equação 1: Carotenoides } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times M \times 100}$$

Onde: A = absorbância da solução no comprimento de onda de 450 nm ou 490 nm; V = volume final da solução; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de extinção (coeficiente de 2592 para betacaroteno e 3450 para licopeno); M = massa da amostra.

2.5 Determinação de vitamina C

A vitamina C foi determinada segundo o método descrito por Paulo *et al.* (1999), com adaptações. Para extração da vitamina, 0,1 g da amostra foi diluída em 900 µL de tampão fosfato de potássio 2%. A solução foi centrifugada a 10.000 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado e filtrado em filtro de seringa com poro de 0,22 µm.

A quantificação do conteúdo de ácido ascórbico foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo Varian Star 350, coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) e fase móvel de tampão fosfato de potássio 2%, pH 2,32. O fluxo utilizado foi de 0,4 mL/min, o tempo de corrida foi de 20 minutos e a absorbância foi registrada no comprimento de onda de 254 nm.

A curva padrão foi preparada por dissolução de 100 mg de ácido ascórbico em solução tampão de fosfato de potássio 2%, a uma concentração final de 1 mg/mL. A curva de calibração foi realizada em triplicata, com seis níveis de

concentração variando de 0,1 mg/mL a 0,0005 mg/mL, totalizando 18 leituras. Os resultados de vitamina C foram expressos em mg de ácido ascórbico /mL

2.6 Contagem de bolores e micotoxinas

A quantificação das unidades formadoras de colônias (UFC/g) de fungos filamentosos, por grama, foi realizada segundo metodologia de diluição decimal seriada em placa. Cada amostra (10 g) foi homogeneizada em 90 ml de água destilada estéril (diluição 10^{-1}). A partir desta diluição, diluições decimais seriadas foram realizadas até 10^{-3} . Alíquotas de 0,1 ml foram semeadas, em triplicatas, no meio de cultivo Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC). As placas foram incubadas durante sete dias a 25°C. (Samson, Hockstra, Frisvad & Filtenborg, 2000).

Para determinação das micotoxinas foi utilizado o método 975.36 recomendado pela AOAC (2005). Este método é direcionado para detecção de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, em alimentos, com subsequente qualificação e confirmação das amostras positivas por cromatografia de camada delgada (CCD) com limite de quantificação de 2 µg/kg. O procedimento contemplou as etapas de extração da matriz, limpeza, concentração do extrato, leitura cromatográfica e quantificação com auxílio de luz ultra-violeta. Para extração foram utilizados 50 g de grãos de pólen que foram homogeneizados com 250 ml de acetona/água (85:15) e trituradas. Posteriormente à extração, foram realizadas as etapas de limpeza e filtração da amostra e em seguida a concentração do extrato com clorofórmio. O extrato foi seco em fluxo de nitrogênio e diluído com tolueno antes de ser aplicado em placas de sílica gel para leitura. O padrão de aflatoxinas também foi aplicado nas placas para quantificação. Com auxílio da luz ultravioleta no comprimento de onda de 360nm, a intensidade da fluorescência das aflatoxinas foi comparada com as soluções padrões, sendo expressas em µg de aflatoxinas/kg.

2.7 Atividade antimicrobiana

Foi utilizado o método de maceração dos grãos em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) segundo metodologia do CLSI (2009). A avaliação da atividade antimicrobiana foi relacionada ao

desenvolvimento de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). As amostras foram preparadas mediante a diluição seriada em 100 µL de caldo nutritivo brain heart infusion (BHI), em um intervalo de concentração de 0.2 a 0.05 g/mL de extrato etanólico de pólen em placas de 96 poços. As suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina fisiológica na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, equivalente ao tubo 0.5 de McFarland, após, foram inoculadas 5 µL nos orifícios.

O controle negativo da atividade inibitória dos diluentes, etanol e dimetilsulfóxido (DMSO) foram preparados adicionando-se 100 µL de solução de etanol 10 % e DMSO 2 % em 100 µL de BHI e 5 µL das suspensões bacterianas. Para o controle de esterilidade, foram utilizados 100 µL de MHB e 100 µL do extrato, fração ou composto isolado. O controle positivo ou de viabilidade bacteriana, foi preparado com 100 µL de MHB e 5 µL dos inócuos bacterianos. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 16 a 20 horas. Após este intervalo de tempo foram acrescentados 20 µL de solução aquosa de resazurina a 0,5 %, conforme Ayres *et al.* (2008) e as microplacas foram reincubadas por três horas a 35 °C. Posteriormente foram realizadas as leituras. Quando houve formação da coloração rosada nos orifícios das microplacas, o resultado foi interpretado como ausência da atividade antibacteriana, enquanto que a não formação da coloração rosada foi considerada como presença de atividade.

A CIM foi considerada como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano (ausência de coloração vermelha). Cada teste foi realizado em duplicata e a CIM final foi determinada de acordo com a média aritmética dos resultados obtidos (Tanaka *et al.*, 2005; Ayres *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008). Para interpretação dos resultados foram usados “+++” para CIM de 0.05 g/ml, “++” CIM de 0.1 g/ml e “+” CIM de 0.2 g/ml, sendo o número de cruzeiros proporcional ao poder inibitório.

2.8 Viabilidade polínica

Para testar a viabilidade do pólen apícola, foi realizada a técnica de coloração dos grãos mediante o reativo de Alexander (1980). Para isso foi preparado uma solução com os seguintes reagentes, seguindo a metodologia de Alexander (1980): 20 ml de álcool etílico (95 %), 20 mg de verde malaquita (2 ml de solução em 1 % de álcool 95 %), 50 ml de água destilada, 35 ml de glicerol, 100 mg de fucsina ácida (10 ml de solução aquosa a 1 %), 5 g de fenol e 15 ml de ácido láctico. A água destilada, o glicerol e o ácido láctico foram adicionados nesta ordem, em contínua homogeneização. A solução foi armazenada em frasco âmbar.

Cerca de 5 aglutinados de pólen apícola foram solubilizados em 1 ml de água salina, para a dispersão dos grãos de pólen. Desta suspensão, 0.5 ml foi misturado a 2 gotas do reativo sobre uma lâmina, coberto com uma lamínula e deixado reagir por 5 minutos para posterior leitura em microscópio óptico (20x). Foram observados aproximadamente seis campos até a contagem de 400 grãos de pólen, em triplicata, totalizando aproximadamente 1200 grãos de pólen.

Essa metodologia permitiu diferenciar a celulose da parede do grão de pólen, em verde-claro-azulado (pólen não viável), e o protoplasma, em púrpura (pólen viável). A porcentagem de grãos viáveis se deu a partir dos grãos com interior corado em púrpura.

2.9 Tratamento estatístico

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de probabilidade de 95 %. Nos casos em que houve diferença significativa ($p < 0.05$), as médias foram comparadas aplicando o teste de *Tukey*. Quando não houve normalidade de variâncias, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis, complementado pelo teste de DMS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise físico-química

Os resultados das análises físico-química das amostras de pólen apícola desidratado, bem como o padrão estabelecidos pela legislação brasileira, argentina e suíça são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 - ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO E LEGISLAÇÃO VIGENTE

AMOSTRAS	UMIDADE (g/100g)	pH	ACIDEZ (mEq/7g)	Aw	CINZAS (g/7g)	PROTEÍNA (g/7g)	LIPÍDIOS TOTAIS (g/7g)	AÇUCARES REDUTORES (g/7g)	CCARBOIDRATOS (g/7g)	VET (kcal/7g)
P1	12.73 ± 0.54	4.67 ± 0.04	2.61 ± 0.04	0.48 ± 0.00	0.21 ± 0.02	1.12 ± 0.02	0.40 ± 0.03	2.11 ± 0.01	4.24 ± 0.05	25.58 ± 0.41
P2	14.74 ± 0.51	4.64 ± 0.08	2.34 ± 0.11	0.48 ± 0.00	0.15 ± 0.00	1.23 ± 0.04	0.43 ± 0.02	2.49 ± 0.06	4.02 ± 0.05	25.39 ± 0.18
P3	13.90 ± 0.63	4.90 ± 0.02	2.14 ± 0.08	0.49 ± 0.00	0.15 ± 0.00	1.20 ± 0.03	0.43 ± 0.08	2.26 ± 0.27	4.10 ± 0.05	25.65 ± 0.51
P4	11.82 ± 0.89	4.87 ± 0.05	2.35 ± 0.05	0.51 ± 0.00	0.18 ± 0.04	1.13 ± 0.09	0.35 ± 0.00	2.21 ± 0.32	4.21 ± 0.35	25.01 ± 1.04
P5	15.04 ± 0.56	4.59 ± 0.04	2.69 ± 0.15	0.53 ± 0.00	0.17 ± 0.00	1.32 ± 0.02	0.31 ± 0.00	1.87 ± 0.32	3.99 ± 0.06	25.65 ± 0.17
P6	14.07 ± 0.22	4.56 ± 0.04	2.73 ± 0.04	0.57 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.81 ± 0.71	0.32 ± 0.02	1.85 ± 0.01	4.53 ± 0.63	24.58 ± 0.52
P7	16.29 ± 0.50	4.72 ± 0.04	3.37 ± 0.27	0.50 ± 0.00	0.20 ± 0.00	1.58 ± 0.00	0.13 ± 0.01	2.02 ± 0.63	3.77 ± 0.03	23.28 ± 0.13
P8	14.84 ± 0.50	4.41 ± 0.02	2.92 ± 0.15	0.47 ± 0.00	0.15 ± 0.03	1.19 ± 0.02	0.18 ± 0.14	2.45 ± 0.15	4.30 ± 0.03	24.15 ± 0.05
P9	12.30 ± 0.59	4.98 ± 0.05	2.16 ± 0.09	0.47 ± 0.00	0.18 ± 0.01	1.14 ± 0.03	0.22 ± 0.00	2.23 ± 0.12	4.46 ± 0.01	24.92 ± 0.10
P10	15.42 ± 0.08	4.98 ± 0.09	2.48 ± 0.06	0.46 ± 0.00	0.26 ± 0.08	1.33 ± 0.00	0.15 ± 0.00	2.04 ± 0.27	3.38 ± 1.21	20.73 ± 4.86
P11	12.32 ± 1.62	4.81 ± 0.10	2.28 ± 0.12	0.48 ± 0.00	0.19 ± 0.00	1.17 ± 0.03	0.27 ± 0.00	1.91 ± 0.02	5.19 ± 1.46	28.39 ± 5.69
P12	10.59 ± 0.20	5.23 ± 0.09	2.23 ± 0.23	0.45 ± 0.00	0.23 ± 0.00	1.39 ± 0.03	0.19 ± 0.02	2.51 ± 0.20	4.26 ± 0.04	25.03 ± 0.18
<i>p</i> ⁺	0.025	0.000	0.072	0.000	0.004	0.000	0.000	0.025	0.002	0.002
Mín.	11.82 ± 0.89	4.41 ± 0.02	2.14 ± 0.08	0.45 ± 0.00	0.15 ± 0.42	1.12 ± 0.35	0.13 ± 0.01	1.85 ± 0.01	3.38 ± 1.21	20.73 ± 4.86
Max.	16.29 ± 0.50	5.23 ± 0.09	3.37 ± 0.27	0.53 ± 0.00	0.26 ± 1.24	1.58 ± 0.10	0.43 ± 0.08	2.51 ± 0.20	5.19 ± 1.46	28.39 ± 5.69
Média ± DP	13.67 ± 0.57	4.78 ± 0.06	2.52 ± 0.12	0.49 ± 0.00	0.19 ± 0.30	1.25 ± 0.56	0.28 ± 0.02	2.16 ± 0.20	4.21 ± 0.04	24.78 ± 1.15
Brasil*	Max. 4%	4 a 6	Max. 2.1 mEq/7g	-	Max. 0.28	Min. 0.56	Min. 0.82	-	1.01 a 3.85	
Argentina**	Max. 8%	-	-	-	Max. 0.28	1.05 a 1.96	-	-	-	
Suíça***	Max. 6%	-	-	-	0.14 a 0.42	0.7 a 2.8	0.07 a 0.7	-	0.91 a 3.85	

Os valores correspondem à média ± desvio padrão das triplicatas
 Números em negrito representam valores mínimos, máximos e médios para cada parâmetro.

+ Significância ($p \leq 0.05$)

*Brasil (2001); **Código Alimentario Argentino (1998); ***Bogdanov, Gremaud, Känzig & Seiler (2004)

As variáveis acidez, proteínas e lipídios totais não apresentaram diferença estatística ($p \leq 0.05$), pelo teste de Tukey. As demais variáveis resultaram em diferença significativa ($p \leq 0.05$) pelo teste Kruskal Wallis.

Os valores de umidade, acidez, proteína, lipídios totais e carboidratos se encontram fora do recomendado pelo padrão do Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do pólen Apícola (Brasil, 2001b) e das legislações Argentina (Código Alimentario Argentino, 1998) e Suíça (Bogdanov *et al.*, 2004).

Os resultados para umidade apresentaram grande variabilidade e este fato pode ser atribuído a alta higroscopicidade do pólen apícola. O qual pode sofrer interferência das condições ambientais e de armazenamento (Marchini, Reis & Moreti, 2006).

Os valores de acidez acima do estabelecido podem ser utilizados como um indicativo da ocorrência do processo de fermentação das amostras (Arruda, Pereira, Estevinho & Almeida-Muradian, 2013). O qual pode ter ocorrido entre a produção do pólen pelas abelhas e o beneficiamento do mesmo. Esses resultados indicam que se deve ter atenção nas etapas de beneficiamento, assim como armazenamento, embalagem e comercialização do pólen.

A quantidade significativa de proteína presente na composição nutricional do pólen pode ser atribuída a diversidade de fontes polínicas utilizada pelas abelhas como estratégia para reduzir deficiências nutricionais nas colmeias (Forcone, Calderón & Kutschker, 2013; Aloisi & Ruppel, 2014).

O conteúdo proteico presente em uma porção de 7g de pólen apícola é superior ao feijão preto cozido (0.31 g/7g), semelhante ao grão de bico cru (1.48 g/7g), e inferior ao amendoim (1.90 g/7g) (Taco, 2011). Isso demonstra que o pólen pode ser utilizado para complementar o conteúdo proteico diário da dieta humana.

O baixo teor de lipídios totais pode estar relacionado com a disponibilidade floral. Possivelmente em períodos de escassez de reservas de pólen rico em lipídios, as abelhas são forçadas a coletar polens com menor valor nutricional (Campana & Moller, 1977), podendo justificar os baixos valores encontrados nesta pesquisa (média 0.28 g/7 g). Segundo Yang *et al.* (2013), a presença de ácidos graxos no pólen apícola, como o ácido linoleico, é essencial aos seres humanos, podendo o pólen apícola implicar na diminuição da proporção de lipoproteínas de baixa

densidade e na melhora dos valores de ácidos graxos insaturados totais no organismo, prevenindo doenças cardiovasculares.

Cerca de 4 g de carboidratos, componente nutricional majoritário no pólen apícola desidratado, em uma porção recomendada de 7 g, corresponde a frutose e glicose. Grande parte dos carboidratos é proveniente principalmente do mel ou néctar coletado pelas abelhas. A celulose também está presente, agregando valor à quantidade total de açúcares (Krell, 2017). O valor energético total obtido variou entre 20.73 a 28.39 kcal/7 g, destacando-se a amostra P11 que também teve maior valor de açúcar.

Os resultados de pH (4,4 a 4,7) e cinzas (0,15 a 0,26) se encontram dentro dos valores estabelecidos pelas legislações apresentadas. Com base nos valores de pH, o pólen pode ser denominado como um alimento pouco ácido. Um vez que alimentos com pH acima de 4,5 são classificados como pouco ácido (Souza, Álvares, Leite, Reis & Felisberto, 2008) e estão sujeitos ao desenvolvimento, quase que restrito, de bolores e leveduras (Franco & Landgraf, 2003). O que justifica a investigação do crescimento de bolores nas amostras estudadas.

As amostras P1, P7, P10 e P12 apresentaram os maiores valores de cinzas. O qual nos fornece informação da quantidade de mineral fixo total, porém não quais minerais estão presentes na amostra. Segundo Morgano et al. (2010) podem estar presentes no pólen contaminantes inorgânicos, como alumínio, níquel e outros. No entanto, a composição e a quantidade de minerais presente nas amostras podem variar em função da capacidade da planta em acumular sais minerais dependendo da origem geográfica, tipo de solo e/ou espécies florais e outros (Martins *et al.*, 2011; Almeida-Muradian, Arruda & Barreto, 2012). Assim justificando a identificação e quantificação dos minerais presentes nas amostras de pólen apícola comerciais, conforme apresentado na Tabela 3.

Os demais parâmetros analisados como atividade de água (a_w) e açúcares (redutores e totais) não são exigidos pelas legislações apresentadas. No entanto, ambos são parâmetros de qualidade. A a_w mede a quantidade de água livre no alimento e desempenha um papel importante nas características sensoriais e na vida de prateleira do pólen apícola (Nogueira, Iglesias, Feas & Estevinho, 2012). As amostras estudadas podem ser consideradas microbiologicamente estável (a_w de 0,45 a 0,49). Uma vez que a_w abaixo de 0.60 é considerada limitante para

multiplicação de qualquer microrganismo (Labuza, 1980). A viabilidade está relacionada com o crescimento de MO.

A presença de açúcares redutores (frutose e glicose) serve como um indicativo de qualidade do pólen. Dado que o uso da frutose na alimentação, em comparação à glicose e à sacarose, resulta em efeito glicêmico reduzido (Kalaycioğlu Kaygusuz, Doker, Kolavli & Erim, 2017).

3.2 Determinação de elementos minerais

Nas amostras de pólen desidratado foram identificados treze elementos minerais e os resultados apresentados referem-se a uma porção de sete gramas, conforme indicada nos rótulos comerciais das amostras avaliadas. Os minerais encontrados em maiores quantidades foram fósforo (média 68.70 mg/7 g), potássio (média 41.78 mg/7 g), cálcio (média 5.13 mg/7 g) e magnésio (média 4.80 mg/7 g), seguidos do segundo grupo manganês (Mn), zinco (Zn), ferro (Fe), alumínio (Al), cobre (Cu), níquel (Ni), cromo (Cr) (Tabela 2).

TABELA 2 - INGESTÃO DIÁRIA DE MINERAIS ESSENCIAIS (mg) E NÍVEL DE INGESTÃO TOLERÁVEL DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS (mg) POR PORÇÃO (7g) DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	
	MINERAIS ESSENCIAIS												RDA (mg/d)*
Ca	5.13±0.25	5.17±0.5	5.14±0.46	5.18±0.54	5.19±0.52	5.27±1.65	5.37±0.06	5.19±0.43	4.94±0.4	5.05±1.31	4.56±0.87	5.42±0.74	1000
Fe	0.88±0.22	0.88±0.22	0.59±0.08	0.68±0.06	0.77±0.12	0.76±0.1	0.90±0.05	0.43±0.06	0.80±0.12	0.54±0.06	0.61±0.14	0.54±0.11	8
Cr	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.04±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0,02
Cu	0.14±0.02	0.18±0.05	0.13±0.03	0.10±0.02	0.23±0.04	0.13±0.01	0.18±0.02	0.13±0.03	0.15±0.03	0.27±0.04	0.11±0.02	0.20±0.03	0,9
K	39.47±3.25	38.07±5.87	39.96±4.38	37.46±1.91	40.63±4.14	39.95±5.11	53.31±3.54	39.52±2.86	41.92±6.03	45.47±0.68	38.60±2.34	46.95±3.18	4700
Mg	4.99±0.22	4.55±0.67	4.85±0.49	5.01±0.69	4.95±0.49	4.92±0.62	5.15±0.67	4.52±0.43	4.57±0.29	4.81±0.52	4.35±1.41	4.87±0.87	320
Mn	0.42±0.09	1.00±0.19	1.67±0.16	0.26±0.01	0.65±0.11	0.71±0.09	0.39±0.03	1.13±0.23	0.72±0.17	1.23±0.19	0.25±0.03	3.11±0.47	1.8
Na	3.74±0.3	1.87±0.2	0.77±0.16	3.13±0.31	1.86±0.13	2.20±0.18	3.80±0.28	1.73±0.03	5.43±1.17	4.74±0.46	2.60±0.34	5.80±0.7	1500
P	71.72±29.2	64.53±8.52	73.15±14.26	65.61±6.09	72.93±6.73	9.04±14.57	87.74±7.55	66.99±19.63	67.26±9.17	90.19±14.26	64.04±20.08	91.22±24.7	700
Se	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	0,05
Zn	0.71±0.05	0.71±0.21	0.78±0.14	0.52±0.04	0.72±0.12	0.71±0.07	0.78±0.07	0.70±0.07	0.73±0.12	0.83±0.15	0.50±0.1	0.93±0.32	8
	CONTAMINANTES INORGÂNICOS												UL (mg/d)**
Al	1.19±0.24	1.14±0.16	0.42±0.1	0.63±0.24	0.59±0.14	0.76±0.1	0.10±0.05	0.13±0.1	1.01±0.42	0.26±0.14	0.55±0.18	0.34±0.18	ND
Ni	0.00±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.00±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.02	0.01±0.02	0.00±0.02	0.01±0.01	1

Os valores correspondem à média ± desvio padrão das triplicatas

*RDA: Recommended Dietary Allowance para adultos (IOM, 1991)

**UL: Tolerable Upper Intake Level (IOM, 1991)

ND: não determinado

O conteúdo de minerais pode variar consideravelmente, mas para o crescimento normal de uma colônia, as abelhas coletam pólen rico em nutriente, principalmente potássio e o fósforo (Kostic *et al.*, 2015b), confirmando a alta quantidade desses elementos em todas as amostras.

A quantidade de minerais pode estar relacionada ao tipo de solo onde cresce a vegetação. A amostra P7 e P12 destacam-se com a maior quantidade total de minerais, o que pode estar relacionado ao fato de serem provenientes do litoral sul de Santa Catarina que apresenta solo latossolo vermelho, caracterizado pela grande quantidade de óxidos de ferro (Brasil, 2007). A amostra P10 ocupa a terceira posição em relação à quantidade total de minerais, sendo originária do litoral baiano que possui solo bastante poroso com grande capacidade de reter e fixar nutrientes. Também está localizada próxima de áreas de proteção ambiental, reservas ecológicas, recursos hídricos de água mineral e sofre influência do próprio mar que oferece minerais não metálicos (Brasil, 2017a). Já a amostra P11 apresentou os menores valores para a metade dos minerais analisados. Ela é proveniente do norte do estado de São Paulo cujo solo chamado argissolo caracteriza-se por ser altamente argiloso e arenoso, possuindo baixa fertilidade natural e alta suscetibilidade a processos erosivos (Brasil, 2017b).

De maneira geral, as amostras apresentam contaminantes inorgânicos (alumínio e níquel) em quantidade segura, podendo essas serem consumidas complementando a alimentação diária. Esses contaminantes estão presentes possivelmente devido à proximidade das colmeias com indústrias madeireiras, de carvão, de cerâmica e rodovias, porém não indicam risco à saúde.

3.3 Determinação de carotenoides e vitamina C

Os resultados da concentração de betacaroteno, licopeno e vitamina C em uma porção de sete gramas de pólen apícola são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – CONTEÚDO DE BETACAROTENO, LICOPENO E VITAMINA C DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

Amostras	Betacaroteno ($\mu\text{g}/7\text{g}$)	Licopeno ($\mu\text{g}/7\text{g}$)	Vitamina C ($\text{mg}/7\text{g}$)
P1	133.35 \pm 9.18	136.11 \pm 9.37	0.89 \pm 0.42
P2	539.72 \pm 1.91	549.30 \pm 1.94	1.35 \pm 0.62
P3	280.97 \pm 16.06	291.48 \pm 16.66	0.60 \pm 0.17
P4	130.79 \pm 1.81	134.49 \pm 1.87	1.79 \pm 0.14
P5	363.10 \pm 4.87	368.90 \pm 4.95	1.60 \pm 0.19
P6	62.76 \pm 4.94	63.37 \pm 4.98	2.19 \pm 0.35
P7	1101.64 \pm 2.83	1111.03 \pm 2.85	4.08 \pm 0.04
P8	92.32 \pm 3.35	92.90 \pm 3.37	1.55 \pm 0.19
P9	155.53 \pm 0.81	157.35 \pm 0.82	1.86 \pm 0.44
P10	50.35 \pm 0.53	50.77 \pm 0.54	1.70 \pm 0.19
P11	88.06 \pm 3.95	90.38 \pm 4.05	1.33 \pm 0.52
P12	18.90 \pm 3.63	19.44 \pm 3.74	15.78 \pm 2.07
<i>p</i> ⁺	0.0003	0.0003	0,0695
Mín.	18.90 \pm 3.63	19.44 \pm 3.74	0.89 \pm 0.42
Max.	1101.64 \pm 2.83	1111.03 \pm 2.85	15.78 \pm 2.07
Média \pm DP	251.46 \pm 4.49	255.46 \pm 4.59	2.89 \pm 0.44

⁺ Significância ($p \leq 0.05$)

Os valores correspondem à média \pm desvio padrão das triplicatas

Números em negrito representam valores mínimos, máximos e médios para cada parâmetro.

Os teores de betacaroteno e licopeno variam de 18.90 a 1101.64 $\mu\text{g}/7\text{g}$ e 19,44 a 1111 $\mu\text{g}/7\text{g}$, respectivamente. As amostras P2, P3, P5, P7 se destacaram, apresentando altos teores tanto de betacaroteno quanto de licopeno quando comparadas com as demais amostras analisadas. Essa diferença pode estar relacionada com a origem botânica do pólen e a oxidação desses compostos. Os carotenoides podem sofrer oxidação na presença de luz, oxigênio e calor (Almeida-Muradian, Arruda & Barreto, 2012).

O betacaroteno é um dos carotenóides com maior atividade provitamina A, podendo ser absorvido e convertido em vitamina A pelo corpo humano (Pereira *et al.*, 2012). Assim, os resultados encontrados tornam o pólen apícola desidratado uma boa opção para contribuir na ingestão diária desta pró-vitamina.

O licopeno não é produzido pelo organismo, então é necessário obtê-lo por ingestão de alimentos que o contenham. No entanto ele é encontrado em quantidades limitadas, sendo ele o principal pigmento de muitos alimentos que variam da cor vermelho claro a escuro. O licopeno não tem atividade de provitamina A, mas tem, Estevinho & Almeida-Muradian, 2013; Manzanares, García, Galdón,

Rodríguezefeito protetor direto contra radicais livres, sendo considerado um potente antioxidante (Rosa *et al.*, 2011).

Para ser considerado fonte de carotenóide um alimento deve conter mais de 20 µg/g de determinado carotenoide em sua composição (Rodriguez-Amaya, 2008). Uma porção de 7 g de pólen apícola apresenta de 10 a 600 vezes mais betacaroteno quando comparada a acerola; e de 8 a 470 vezes mais quando comparada a cenoura (Rodriguez-Amaya, Kimura & Amaya-Farfan, 2008). Portanto, as amostras deste estudo podem ser consideradas fontes de carotenóides, reforçando assim o valor nutritivo desde produto.

Em relação a vitamina C, as amostras apresentaram uma variação de 0,89 a 15,78 mg/7 g. A vitamina C foi identificada em todas as amostras de pólen apícola desidratado em concentrações estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Essa variação não ocorre somente pela diversidade de plantas visitadas pelas abelhas *A. mellifera*, mas também pela sensibilidade ao tratamento térmico e pelo alto teor de umidade no produto. Por pertencer ao grupo das vitaminas hidrossolúveis, a vitamina C sofre facilmente oxidação perante a alta umidade. Por isso a melhor forma de conservar a vitamina C do pólen apícola é mediante correta desidratação ou até mesmo da liofilização (Bonta *et al.* 2013).

A legislação estabelece que um produto pode ser considerado de alto teor de vitamina quando apresenta 30 % do valor da ingestão diária recomendada (IDR) em 100 g do produto (Brasil, 2012). Para a vitamina C valores diários recomendados de acordo com a Dietary Reference Intakes (DRI) é de 90 mg/dia para homens adultos (IOM, 2000) e o pólen fornece 40 mg/100 g, correspondendo aproximadamente a 44 % das recomendações diárias, assim podendo ser considerado produto de alto teor de vitamina C.

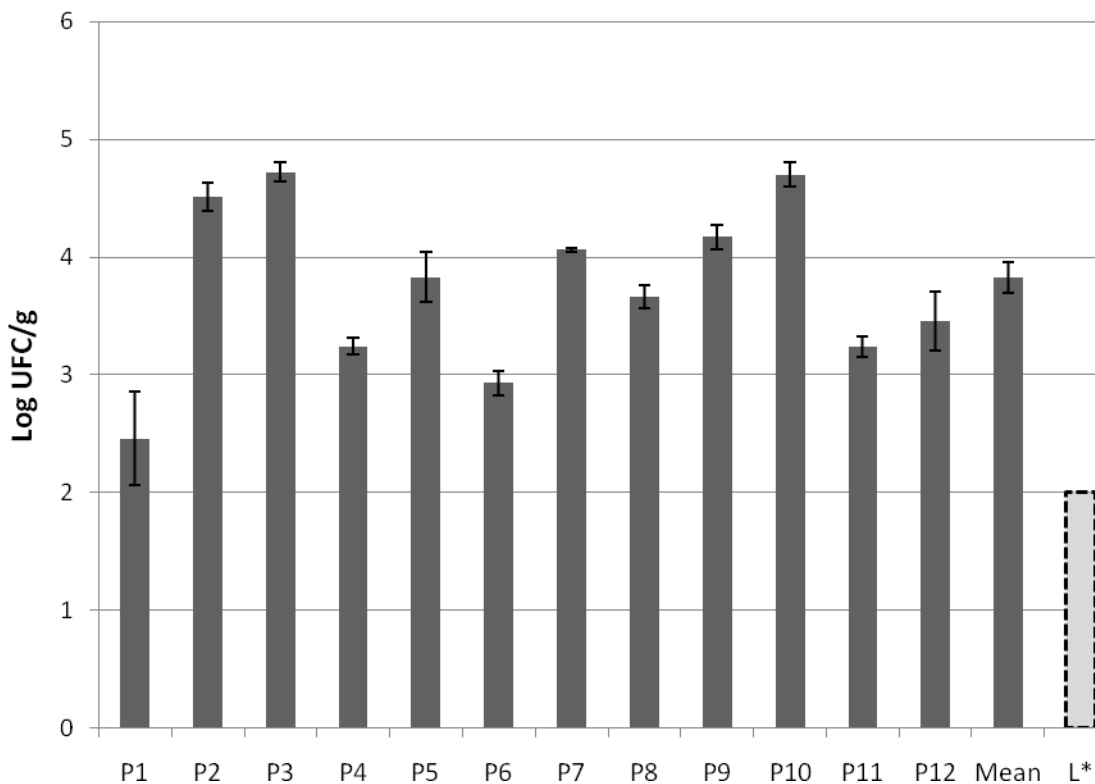
Com base na variação dos valores observados dos parâmetros analisado, se faz necessário controlar e supervisionar os diferentes processos de desenvolvimento, a fim de garantir que os alimentos processados forneçam aos consumidores todos os nutrientes na sua forma mais disponível, atendam aos seus requisitos e mantenham suas propriedades organoléptica (Arruda, Pereira-Rodríguez & Romero, 2017). Uma vez que o pólen apícola tem ampla aplicação como suplemento dietético, devido seu elevado valor nutricional e o potencial

antioxidante (Solgajová, Nôzková & Kadákova, 2014; Krystijan, Gumul, Ziobro & Korus, 2015).

3.4 Contagem de bolores e micotoxinas

Os resultados da contagem de bolores estão apresentados na Figura 2. As amostras variaram de 2.47 a 4.70 Log UFC/g com média de 3.84 Log UFC/g. O Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos vigente (Brasil, 2001a) não estabelece padrões para bolores em pólen apícola desidratado, no entanto, esta análise é relevante, visto que estes microrganismos são indicadores da qualidade e segurança dos alimentos.

FIGURA 2 – CONTAGEM DE BOLORES EM PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO E LEGISLAÇÃO VIGENTE



L* = Código Alimentario Argentino (1998).

Comparando o padrão microbiológico argentino (Código Alimentario Argentino, 1998) com os resultados apresentados pelas amostras de pólen, observa-se uma contagem acima do estabelecido.

A presença de bolores está relacionada a alta umidade, pH e acidez ótimos para crescimento. Segundo a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1994), os bolores não oferecem riscos à saúde, mas indicam condições higiênicas deficientes dos equipamentos, falha no processamento, armazenamento e matéria prima com contaminação excessiva.

A temperatura máxima de 42 °C utilizada na desidratação do pólen (Almeida-Muradian, Arruda & Barreto, 2012), não elimina os esporos de fungos, por isso bolores podem se desenvolver. As amostras P2, P5, P7 e P10 apresentaram os maiores valores de umidade o que também pode justificar o elevado crescimento de bolores nas mesmas amostras. Apesar desse crescimento, nenhuma das amostras apresentou aflatoxinas B1, B2, M1 e M2. Isso se deve possivelmente pelas demais condições, como baixa atividade de água, ou ainda a ausência dos fungos do gênero *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, que produziriam as aflatoxinas como metabolitos secundários (Pitta & Markaki, 2010).

3.5 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do extrato etanólico de pólen apícola desidratado perante diferentes microrganismos é apresentada na Tabela 4.

TABELA 4 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DE PÓLEN APÍCOLA

	Extratos etanólicos de pólen apícola											
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Bacilo Gram-negativo												
<i>Escherichia coli</i>	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	+++	+	+++	++	+++	+	+	++	++	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	++	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	+	++	+++	++	+	+	++	++	+	+	+
Bacilo Gram-positivo esporulado												
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	++	+	+	+	++	++	+	+	+
Coco Gram-positivo												
<i>Enterococcus faecalis</i>	+++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	++	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+	++	+++	+++	+	+	++	++	+	+	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	++	+
Bacilo Gram-positivo												
<i>Listeria monocytogenes</i>	++	++	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+

+++ Concentração inibitória mínima de 0.05 g/ml;

++ Concentração inibitória mínima de 0.1 g/ml;

+ Concentração inibitória mínima de 0.2 g/ml;

Nota: O numero de cruces é proporcional ao poder inibitório.

O teste controle demonstrou que a solução diluente (etanol 10 %, DMSO e BHI) usado na extração não apresentou ação inibitória. Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) obtidos mostraram que todos os extratos causaram inibição do crescimento microbiano para as cepas testadas nas condições estabelecidas. Por se tratar de um teste aplicado para formulação de novos produtos farmacêuticos, exige baixa concentração para considerar um bom resultado sugerindo que o pólen apícola desidratado empregado na porção diária de 7 g possa ter atividade antimicrobiana.

Destacam-se as amostras P1, P3 e P5 que inibiram tanto bacilos Gram-negativos quanto cocos Gram-positivos. Os diferentes resultados da atividade antimicrobiana podem ser atribuídos à ação dos compostos fenólicos, geralmente presentes no pólen apícola (Carpes *et al.*, 2009), que está relacionada com a inativação de enzimas e as mudanças na permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos. O efeito antimicrobiano do pólen apícola é específico para cada espécie de microrganismo e sua atividade biológica depende de sua composição química que está diretamente relacionada com a origem floral e geográfica (Kroyer & Hegedus, 2001). Sugere-se que pesquisas nesta área se direcionem ao isolamento e identificação de tais compostos biologicamente ativos, a fim de determinar os responsáveis por tais ações.

Considerando que o processo de desidratação inadequado pode reduzir a qualidade do produto, sugere-se que a forma mais indicada para conservação da atividade biológica do pólen apícola seja a liofilização, pois pode preservar a atividade antioxidante, antiinflamatória e propriedades antimicrobianas do produto (Melo *et al.*, 2016).

3.6 Viabilidade polínica

O reativo de Alexander identifica polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida. O primeiro tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde-claro-azulado, enquanto o protoplasma, substância nutritiva dos grãos, é corado em púrpura pela

fucsina ácida. Dessa maneira, quando não apresentam protoplasma, os grãos de pólen inviáveis coram-se de verde-claro-azulado (Alexander, 1980) (Figura 3).

FIGURA 3 – GRÃO DE PÓLEN (A) VIÁVEL E (B) INVIÁVEL, CORADOS COM REATIVO DE ALEXANDER, OBSERVADOS EM MICROSCOPIO OPTICO (40X)



FONTE: O autor (2017)

A viabilidade polínica variou de 81.38 % a 99.24 % (Tabela 5). A amostra P1 apresentou a maior porcentagem de grãos viáveis, seguida da amostra P4. E a amostra P8 apresentou a menor porcentagem de grãos viáveis, seguida da amostra P2. Isso mostra que se o pólen for consumido diariamente com auxílio de maceração ou mastigação para o rompimento da celulose, cerca de 95% dos nutrientes estarão disponíveis para absorção. Para compensar o percentual de inviabilidade de 5 % dos nutrientes sugere-se o aumento da porção diária para aproximadamente 9,0 g. Logo, é possível afirmar que o consumo seguro de pólen apícola varia de 7 a 9 g.

TABELA 5 – PORCENTAGEM DE GRÃOS VIÁVEIS DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO CORADO COM REATIVO DE ALEXANDER

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Média	99.24	83.92	94.20	99.11	97.19	99.05	97.70	81.38	98.68	98.01	98.80	95.18
± DP	± 0.41	± 0.55	± 1.42	± 0.13	± 0.97	± 0.84	± 0.33	± 0.94	± 0.28	± 0.37	± 0.59	± 1.62
p^*	0.0007											

+ Significância ($p \leq 0.05$)

Acredita-se que a riqueza de nutrientes e os compostos bioativos identificados nos polens apícolas desidratados o tornam um produto de qualidade que pode ser utilizado como complemento da dieta humana.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o pólen apícola desidratado é um alimento nutritivo principalmente em proteínas, açúcares redutores e minerais. O pólen apresenta em sua composição um conteúdo importante de minerais essenciais, como fósforo e potássio. Além disso, o pólen também constitui uma boa fonte de compostos antioxidantes, como betacaroteno, licopeno e vitamina C, podendo ser útil na manutenção da saúde. O pólen possui atividade antimicrobiana perante diferentes microrganismos e a qualidade microbiológica deste produto é considerada aceitável, não oferecendo risco à saúde, pois não foram identificadas espécies micotoxigênicas.

O consumo diário de pólen apícola, de 7 a 9 g, pode ser benéfico para a saúde, pois em média 95 % de seu conteúdo nutricional é viável. A investigação de sua composição química, nutricional e microbiológica contribui para a valorização deste produto natural, confirmando seu papel de complemento alimentar nutritivo e com potencial terapêutico benéficos para os seres humanos.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ - Programa Nacional de Cooperação Acadêmica Procad-Casadinho (processo n°. 552448/2011-7) e a Capes pelo financiamento da pesquisa; ao Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUT), da UFPR, pela análise de minerais; ao Laboratório Laborclin® pela doação de cepas microbiológicas.

6. CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

REFERENCES

- ALOISI, P. V.; RUPPEL, S. Propiedades bioactivas y nutricionales del polen apícola de la provincia del Chubut, Argentina. **La Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)**. 40(3), 2014.
- ALEXANDER, M.P.A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, 1(5), 3-8, 1980.
- ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; ARRUDA, V.A.S.; BARRETO, L.M.R. Manual de Controle de Qualidade do Pólen Apícola. São Paulo. **ACAPAME**, 28p, 2012.
- A.O.A.C. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (19th ed.). Gaithersburg, 2005.
- ARRUDA, V.A.S; PEREIRA, A.A.S; ESTEVINHO, L.M; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Presence and stability of B complex vitamins in bee pollen using different storage conditions, **Food and Chemical Toxicology**, 51, 143-148, 2013.
- AYRES, M.C.C.; BRANDÃO, M.S.; VIEIRA-JUNIOR, G.M.; MENOR, J.C.A.S.; SILVA, H.B.; SOARES, M.J.S.; CHAVES, M.H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(1), 90-97, 2008.
- BOGDANOV, S.; BIERI, K.; GREMAUD, G.; IFF, D.; KANZIG, A.; SEILER, K.; *et al.* Swiss Food Manual: Bienenprodukte: Pollen, BAG (Swiss Federal Office for Public Health), Berne. Cap. 23 B, 2004.
- BONTA, V.; MARGUITAS, L.A.; BOBIS, O.; MARGAOAN, R.; BARNUTIU, L.; DEZMIREAN, D. Quantitative determination of vitamin C in honey and bee pollen using HPLC-DAD method. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies** 70(1), 31-36, 2013.
- BRASIL. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001 que aprova o regulamento técnico sobre padrão microbiológico para alimentos e seus Anexos I e II. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, Brasília, DF, n.7, 10 Jan. 2001. Seção 1, 45-53, 2001a.
- BRASIL. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001 que aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de abelha, Geléia real, Geléia real liofilizada, Pólen apícola, Própolis e Extrato de própolis. Diário oficial [da] Republica Federativa do Brasil. Brasília, DF, 19 de janeiro de 2001. 2001b.
- BRASIL. Ministério Do Planejamento, Orçamento E Gestão Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística – IBGE. Manuais Técnicos em Geociências. 4ed. 2007.
- BRASIL. Resolução RDC n.54, de 12 de novembro de 2012 que dispõe sobre o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, de 12 de novembro de 2012. 2012.

BRASIL. Ministério De Minas e Energia. Secretaria De Geologia, Mineração E Transformação Mineral Disponível em: http://www.cprm.gov.br/publique/media/geodiversidade_bahia.pdf. Acesso em 17 de abril de 2017. 2017a.

BRASIL. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (Apta). São Paulo. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/solosp/pdf/Argissolos.pdf>. Acesso em 08 de maio de 2017. 2017b.

BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (eds), Carotenoids: spectroscopy, vol 1B. Birkhäuser Verlag, Basel, 13-63, 1995.

CAMPANA, B. J.; MOELLER, F.F. Honeybee preference for and nutritive value of pollen from five plants sources. **Journal of Economic Entomology**. 70, 39-41, 1977.

CAMPOS, M; MARKHAM, K.R; MITCHELL, K.A; CUNHA, A.P. An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. **Phytochem Anal** 8: 181–185, 1997.

CARPES, S.T.; CABRAL, I.S.R.; ROSALEN, P.L.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Caracterização do potencial antimicrobiano dos extratos de pólen apícola da região sul do Brasil. **Alim. Nutr. Araraquara**. 20(2), 271-277, 2009.

CLSI - Clinical And Laboratory Standarts Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. **Approved standard**. 8ed. M7-A8, 2009.

Codigo Alimentario Argentino. De La Canal y Asociados, Buenos Aires, 1998.

COSTA, M.C.A; MORGANO, M.A; FERREIRA, M.M.C; MILANI, R.F. Analysis of bee pollen constituents from different Brazilian regions: Quantification by NIR spectroscopy and PLS regression. **LWT - Food Science and Technology**, 80, 76-83, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. **Nature**, 28(3), 350-356, 1956.

FORCONE, A.; CALDERÓN, A.; KUTSCHKER, A. Apicultural pollen from the Andean region of Chubut (Argentinean Patagonia). **Grana**, 52(1), 49-58, 2013.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu. 180p, 2003.

FUNARI, S.R.C; ROCHA, H.C; SFORCIN, J.M; FILHO, H.G; CURI, P.R; GOMES DIERCKX, S.M.A; FUNARI, A.R.M; OLIVEIRA ORSI, R.O. Composições Bromatológica e Mineral do Pólen Coletado por Abelhas Africanizadas (Apis

mellifera L.) em Botucatu, Estado de São Paulo. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** 11(2), 88-93, 2003.

HERBERT E.W., SHIMANUKI H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen, **Apidologie** 9, 33–40, 1978.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos. São Paulo, IV Edição – 1 Edição Digital, 2008.

IOM. Institute of Medicine (2005). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, DC: National Academies Press.

ICMSF. (1994). INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganismos de los alimentos. 1. Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acribia. 804p.

KALAYCIOĞLU, Z; KAYGUSUZ, H; DÖKER, S; KOLAYLI, S; ERIM, F.B. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities, **LWT - Food Science and Technology**, 84, 402-408, 2017.

KOSTIC, A.Z.; BARAC, M.B.; STANOJEVIC, S.P.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.M.; TESIC, Z.L.; SIKOPARIJA, B.; RADISIC, P.; PRETOVIC, M. PESIC, M.B. (2015a). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. **LWT - Food Science and Technology**, 62, 301-309, 2015a.

KOSTIC, A.Z.; PESIC, M.B.; DOJCINOVIC, B.P.; NATIC, M.M.; TRIFKOVIC, J.D. Mineral content of bee pollen from Serbia. **Arhv Za Higijenu Rada Toksikologiju** 66, 251-258, 2015b.

KRELL, R. Value-added products from Beekeeping. FAO Corporate Document Repository. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e10.htm>. Acesso em: 01 de maio de 2017, 1996.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evolution of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2(1), 171-174, 2001.

KRYSTYJAN, M.; GUMUL, D. ZIOBRO, R.; KORUS, A. The fortification of biscuits with bee pollen and its effect on physicochemical and antioxidant properties in biscuits. **LWT – Food Science and Technology**. 63, 640-646, 2015.

LABUZA, T.P. The Effect of Water Activity on Kinetics of Food Deterioration. **Food Technology**. Chicago, 39(4), 36-41, 1980.

MANZANARES, A.B; GARCÍA, Z.H; GALDÓN, B.R; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E.M; ROMERO, C.D. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of monofloral honeys from Tenerife, Spain, **Food Chemistry**, 228, 441-446, 2017.

MARCHINI, L.C.; DOS REIS, V.D.A.; MORETI, A.C.D.C.C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo **Ciência Rural**, 36(3), p. 949-953, 2006.

MARTINS, M.C.T.; MORGANO, M.A.; VICENTE, E.; BAGGIO, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Physicochemical composition of bee pollen from eleven brazilian states. **Journal of Apicultural Science**, 55, 107-116, 2011.

MELO, A.A.M.; ESTEVINHO, M.L.M.F.; SATTler, J.A.G.; SOUZA, B.R.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Effect of processing conditions on characteristics of dehydrated bee-pollen and correlation between quality parameters. **LWT – Food Science and Technology**. 65, 808-815, 2016.

MORGANO, M.A.; MARTINS, M.C.; RABONATO, L.C.; MILANI, R.F.; YOTSUYANAGI, K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Inorganic Contaminants in Bee Pollen from Southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 58, 6876-6883, 2010.

MUNIATEGUI, S; HUIDOBRO, J.F; LÓPEZ, J; SANCHO, M.T; SIMAL, J. Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, 29 (3), 147-150, 1990.

NELSON, N. (1944). A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, 153, 375-80.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. **International Journal of Molecular Science**, 13, 2012.

OSBORNE, D. R.; VOOGT, P. The analysis of nutrient in foods. London: Academic. 1978.

PAULO, M.G., MARQUES, H.M., MORAIS, J.A., ALMEIDA, A.J. An isocratic LC method for the simultaneous determination of vitamins A, C, E and beta-carotene. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 21(2), 399-406, 1999.

PEREIRA, M. C., STEFFENS, R. S., JABLONKI, A.,HERTZ, P. F., RIOS, A. O., VIZZOTTO, M.; FLORES, S.H. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae Family. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, 60(1), 3061-3067, 2012.

PEREIRA, D.C.; ADELINO, C.J.; OLIVEIRA, M.S.; SILVA, M.; HOLANDA-NETO, J.P. Apicultura como fonte de renda na comunidade de Vaca Morta no município de Marcelino Vieira – RN, Brasil. **Caderno de Agroecologia**, 10(3), 2015.

PITTA, M.; MARKAKI, P. Study of aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus* in bee pollen of Greek origin. **Mycotox Res** 26, 229–234, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 98p, 2008.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; FONT, G.; MANE, J.; BERRADA, H. Determination of Mycotoxins in Bee Pollen by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural Food Chem.** 61, 1999–2005, 2013.

ROSA, C.L.S.; SOARES, A.G.; FREITAS, D.F.G.C.; ROCHA, M.C.; FERREIRA, J.C.; GODOY, R.L.O. Caracterização físico-química, nutricional e instrumental de quatro acessos de tomate italiano (*Lycopersicon esculentum* Mill) do tipo 'Heirloom' produzido sob manejo orgânico para elaboração de polpa concentrada. **Alim. Nutr., Araraquara**, 22(4), 649-656, 2011.

SAMSON, R.A; HOCKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. & FILTENBBORG, O. Introduction to food and airborne fungi. 6th ed. Centra al bureau Voor Schimmelcultures, Utrecht, 388p, 2000.

SANTOS, A. O. *et al.* Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 103(3), 277-281, 2008.

SOLGAJOVÁ, M.; NÔZKOVÁ, J.; KADÁKOVÁ, M. Quality of durable cookies enriched with rape bee pollen. **Journal of Central European Agriculture**, 15(1), 24-38, 2014.

SOMOGYI, M. A New Reagent for Determination of Sugars. A new Sugar Reagent, May. 61-68, 1945.

SOUZA, J.M.L.; ÁLVARES, V.S; LEITE, F.M.N.; REIS, F.S; FELISBERTO, F.Á.V. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca oriundas do município de Cruzeiro do Sul – Acre. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas Terra, Agrárias e Engenharia**. Ponta Grossa, 14 (1), 43-49, 2008.

SOUZA, V.A.; SCHEMBERG, E.A.; AGUIAR, A.V. Germinação in vitro do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham). **Sci. For., Piracicaba**, 38(86), 147-151, 2010.

T.A.C.O. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2011). Unicamp, Campinas. Disponível em: https://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada. Acesso em 03/03/2017.

TANAKA, J.C.A.; SILVA, C.C.; DIAS FILHO, B.D.; NAKAMURA, C.V.; CARVALHO, J.E. FOGIO, M.A. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Química Nova**, 28, 834-837, 2005.

YANG, K.; WU, D.; YE, X.; LIU, D.; CHEN, J.; SUN, P. Characterization of Chemical Composition of Bee Pollen in China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 61, 708–718, 2013.