

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

PERFIL DO PÓLEN APÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL

JUCILENE SILVA ARAÚJO

CRUZ DAS ALMAS – BA

JULHO – 2014

PERFIL DO PÓLEN APÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL

JUCILENE SILVA ARAÚJO

Licenciada em Ciências Biológicas
Universidade de Pernambuco, 2009.

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

A663p	<p>Araújo, Jucilene Silva. Perfil do pólen apícola com indicação monofloral / Jucilene Silva Araújo. _ Cruz das Almas, BA, 2014. 76f.; il.</p> <p>Orientadora: Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa. Coorientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Alimentos – Pólen. 2.Alimentos – Parâmetros físicos- químicos. 3.Microbiologia – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 664.02</p>
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
JUCILENE SILVA ARAÚJO

Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Membro Presidente: Profa. Dra. Maria Angélica de Carvalho Costa
Instituição: UFRB

Daniela de Souza Hansen

Membro Externo à Instituição: Dra. Daniela de Souza Hansen
Instituição: IFBAIANO

Cerilene S. Machado

Membro Externo ao Programa: Dra. Cerilene Santiago Machado
Instituição: PNPB / UFRB

Homologada em / / .

A Deus por ter me concedido a oportunidade de conquistar meus objetivos e a meus pais Eulália Silva Araújo e Antonio Araújo pelo apoio.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua bondade e amor incondicional, por está ao meu lado todos os momentos me dando força e coragem, mostrando que tudo é possível.

Aos meus pais, Antonio Araujo e Eulália Silva Araujo que contribuíram com dedicação, carinho e amor para a conquista de mais um sonho. Aos meus Irmãos Daniel, Meire e Daniela e sobrinhos Raissa, Rodrigo e Rillary pelo apoio, força e amor dedicados a mim.

A minha orientadora Doutora Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa, uma pessoa especial que Deus colocou em minha vida, obrigada pelo respeito, paciência, compreensão e apoio, desejo toda sorte de bênçãos para a sua vida. Ao Doutor Carlos Alfredo Lopes de Carvalho por ter aberto as portas do INSECTA para a realização deste trabalho, me tratando com humanidade e respeito, concedendo todo o apoio necessário, Deus o abençoe sempre. A estes professores queridos, devo esta dissertação.

A Adailton Freitas, Marivalda Figueredo, Maiara Machado, Cerilene Santiago e Cátia Ionara por serem pessoas especiais, sou grata pelo apoio de vocês, pois foram solidários com alguém que mal conheciam. A vocês meu carinho e respeito e se precisarem de ajuda contem comigo sempre.

Aos Doutores Francisco de Assis Ribeiro Santos e Paulino Oliveira da Universidade de Feira de Santana – UEFS, pela identificação dos tipos polínicos, e ao produtor baiano de pólen apícola, Sr. Márcio Brasil, pelo fornecimento de grande parte das amostras de pólen analisadas neste trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste Mestrado. A Eloi Machado, Cristovam Júnior, Ana Patrícia, Lucas Almeida e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Fica aqui o meu, “muito obrigada”.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	01
Capítulo 1	
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, ORIGEM BOTÂNICA E COMPOSTOS BIOATIVOS EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL.....	15
Capítulo 2	
DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA.....	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75

AValiação DE AMOSTRAS DE PóLEN ApÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL

Autora: Jucilene Silva Araújo

Orientadora: Maria Angélica Pereira Carvalho Costa

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi verificar os parâmetros físico-químicos, bioativos, microbiológicos e origem botânica de amostras de pólen apícola com indicação monofloral. As análises foram realizadas a partir de dez amostras de pólen apícola desidratado, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe, doadas pelos produtores entre os anos de 2012 e 2014. As análises físico-químicas revelaram os seguintes valores médios: umidade 8,78%; atividade de água 0,42; cinzas 3,08%, lipídios 1,84%; proteína 19,51%; açúcar total 28,42%; pH 4,81; acidez 99,78 mEq/kg.⁻¹. Todos os parâmetros físico-químicos analisados, à exceção da umidade e 50% de teores de lipídios, encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação Brasileira para o pólen apícola. Os teores fenóis e flavonoides totais apresentaram valores oscilando entre 54,91 mg AGE/100g e 94,32 mg quercetina/100g respectivamente. As análises microbiológicas revelaram a presença de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos acima dos valores considerados seguros, em 20% das amostras, constatando também a presença de indicadores de qualidade sanitária. Apenas 10% das amostras atendeu a todos os critérios avaliados, considerada segura para o consumo. O resultado da análise polínica demonstrou pouca variedade de tipos polínicos entre as amostras, resultando na identificação de 08 amostras monoflorais, sendo o tipo *Cocos nucifera* o de maior representatividade, estando presente em 90% do material avaliado, constituindo duas amostras monoflorais. De um modo geral as amostras de pólen apícola avaliadas podem ser consideradas nutricionalmente balanceadas

PALAVRAS-CHAVE: físico-químicas, pólen apícola, microbiologia, fenóis, origem botânica.

EVALUATION OF SAMPLES OF BEE POLLEN WITH INDICATION MONOFLORAL

Author: Jucilene Silva Araújo

Advisor: Maria Angélica Pereira Carvalho Costa

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the physico-chemical, bioactive, microbiological and botanical origin of bee pollen samples with Monofloral indication parameters. Analyses were performed from ten samples of pollen, from the states of Bahia and Sergipe, donated by producers, between the years 2012 and 2014. The physico-chemical analysis revealed the following average values: moisture 8.78%; water activity of 0.42; 3.08% ash, 1.84% lipids; Protein 19.51%; total sugar 28.42%; pH 4.81; acidity 99.78 mEq / kg⁻¹. All physico-chemical parameters, except for the 50% moisture and lipid levels, are within the limits established by Brazilian legislation for bee pollen. The content of total phenolic compounds showed values ranging from 54.91 mg AGE / 100g and 94.32 mg quercetin / 100g respectively. Microbiological analysis revealed the presence of molds, yeasts and aerobic mesophilic above the levels considered safe in 20% of samples, and the presence of indicators of health quality. Only 10% of the samples met all criteria evaluated, considered safe for consumption. The results of the pollen analysis showed little variation between samples of pollen types, resulting in the identification of 08 Monofloral samples, with the kind *Cocos nucifera* the most representative, being present in 90% of evaluated material, constituting two Monofloral samples. Generally the samples evaluated pollen can be considered nutritionally balanced.

KEYWORDS: physical-chemical, pollen, microbiology, phenols, botanical origin.

INTRODUÇÃO

O pólen representa o gameta masculino das flores, responsável pela fecundação de muitas espécies vegetais (ALVES, 2013). A reprodução das plantas floríferas está atrelada à polinização (POTTS et al., 2010) e a natureza conta com auxílio de agentes bióticos e abióticos para realizar a dispersão dos grãos de pólen da antera até o estigma. Neste processo os grãos de pólen podem polinizar flores da mesma planta, ou ainda flores de outras plantas que pertençam à mesma espécie (CORBET et al., 1991).

Dentre os diversos agentes polinizadores, os insetos são considerados os mais significativos (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2011) sendo responsáveis pela polinização de 73 % das espécies vegetais cultivadas no mundo (FAO, 2004). Dentro do grupo dos insetos, as abelhas respondem por 90% do sucesso reprodutivo das plantas (SHIPP et al., 1994).

O excelente desempenho das abelhas está associado à relação de dependência que as abelhas mantêm com as plantas, pois são das flores que retiram substâncias fundamentais para manterem-se vivas, como néctar para demanda energética e pólen para a protéica (VELTHUIS, 1997), resinas e ceras para construção do ninho, lipídios florais como alimento e construção do ninho e fragrâncias como atrativo para cópula e marcação de território (ROUBIK, 1995), que em contrapartida, retribuem dispersando os grãos de pólen (KRUNIĆ e STANISAVLJEVIĆ, 2006).

A relação simbiótica existente entre plantas floríferas e abelhas além de permitir à reprodução de diversos tipos vegetais garante a transferência de genes entre indivíduos da mesma espécie nos mais diferentes biosistemas, contribuindo para a manutenção da diversidade biológica (COSTA e OLIVEIRA, 2013).

Além de ser elemento fundamental para a reprodução, o pólen é um alimento apreciado por diversos grupos de insetos especialmente pelas abelhas, que acrescentam secreções salivares ricas em enzimas (ROCHA, 2013) e pequenas frações de néctar ao pólen floral, aglutina-o, dando origem ao pólen apícola (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2008; DEVI et al., 2010).

O pólen apícola é considerado um alimento nutricionalmente completo, pois possui todos os aminoácidos essenciais (FÉAS et al., 2012), além de carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005) e quantidades significativas de açúcar total, além de minerais como o zinco, cálcio, ferro, potássio e sódio (CAMPOS et al., 2008). A água também é uma substância encontrada em quantidades consideráveis no pólen, e na forma in natura pode apresentar porcentagens entre 20 a 30%. No entanto valores elevados de água são indesejáveis, por deixar o alimento úmido, propenso à deterioração pela multiplicação de microrganismos.

A composição físico-química do pólen apícola pode apresentar variações que estão relacionados a diferentes fatores, como a origem botânica e geográfica (ESTEVINHO et al., 2012), condições ambiental, maturidade (ISIDOROV et al., 2009), estado nutricional da planta e o clima da região (CARPES, 2008; MONSANTO, 2013)

Estudos físico-químicos são essenciais para o controle de qualidade, agregando valor comercial ao produto. Algumas pesquisas têm sido realizadas com este objetivo, como os trabalhos desenvolvido por Barreto et al. (2012), onde foi realizado um levantamento da composição físico-química de amostras de pólen apícola do Vale do Paraíba, como também os desenvolvidos por Pinto et al. (2012), onde o perfil físico-químico de amostras frescas e secas de pólen apícola, foram analisadas quanto ao valor nutricional e o efeito do tempo na concentração dos nutrientes.

Dentre os produtos da colmeia o pólen, vem conquistado espaço e despertando interesse tanto em produtores quanto em consumidores, pois além de sua utilidade como suplemento alimentício (FÉAS et al., 2012), é usado em outros setores, seja: na farmacologia, utilizado como ingrediente em produtos apifito-aromáticos (encapsulados, tinturas, óleos essenciais); cosmética: para filtros solares, cremes, máscaras, batons, sabonetes, xampus; alimentos: barras

de cereais, chocolates, bolachas, saladas, pastas; como alimento para as abelhas em época de seca, podendo ser utilizado ainda no monitoramento da poluição ambiental (BARRETO et al., 2011).

A China se destaca como o maior produtor mundial de pólen (ESTEVINHOS et al., 2012). Na esfera nacional, Santa Catarina, Paraná e Bahia são admitidos como os produtores mais significativos (BARRETO et al., 2004). Ferreira (2012) reporta que a Bahia vem se destacando no setor apícola, pois além de fornecer pólen para o mercado da região, ainda é responsável pela exportação do produto para alguns estados da região sudeste.

Para ser comercializado no Brasil o pólen apícola deve cumprir os seguintes requisitos que são usados como referência no controle de qualidade: umidade máxima de 4% (pólen desidratado) e 30% (pólen fresco), cinzas máximo de 4%, lipídios mínimo de 1,8%, proteínas mínimo de 8%, açúcar total entre 14,5% a 55%, fibra bruta mínimo de 2%, acidez livre máximo de 300 mEq.Kg¹ e pH entre 4 a 6 (BRASIL, 2001).

Além dos parâmetros de qualidade instituídos como padrão pela legislação brasileira, a caracterização do pólen apícola ainda conta com a análise de atividade de água, que embora seja citada na literatura como um importante parâmetro de qualidade em alimento, devido a sua relação com a quantidade de água disponível para as reações químicas e o desenvolvimento microbiano, não consta na legislação vigente no Brasil.

Alguns alimentos além de apresentar uma composição rica em macro e micronutrientes, possui em sua constituição uma percentagem significativa de compostos com atividade biológica, responsáveis pela realização de ações específicas e benéficas ao organismo (COSTA e ROSA, 2008), esses compostos são chamados de compostos bioativos e os alimentos que os contêm são chamados de alimentos funcionais (OLDONI, 2007; ZERAIK et al., 2010).

Os principais tipos de bioativos encontrados no pólen são os compostos fenólicos (CARPES, 2008; MENEZES, 2009). Eles são derivados das vias do ácido chiquímico (NACZK e SHAHIDI, 2004) e sua estrutura química é composta por uma ou mais hidroxilas, acopladas diretamente a um anel aromático (LEE et al., 2005), tendo como compostos mais simples os fenóis (BRAVO, 1998).

Atualmente o interesse no estudo dos compostos fenólicos tem aumentado devido principalmente à habilidade antioxidante (COSTA e JORGE, 2011) destas substâncias em sequestrar radicais livres (DORMAN et al., 2003; NEVES et al., 2009), além de apresentar propriedades antibacteriana (CARPES et al., 2007), anti-inflamatória, antifúngica e imunomodulatória (NEVES, et al., 2009)

Dentre os compostos fenólicos os flavonóides destacam-se como os principais fitoquímicos presentes no pólen apícola, sendo provavelmente os responsáveis pela ação medicinal do produto (LENSKY e LENSKY, 2001).

Os flavonóides comumente encontrados nos vegetais são quercetina, campferol, e miricetina e estão associados a varias funções (FENNEMA, 1992). A quercetina apresenta atividade anti-inflamatória, o campferol e os seus derivados, agem em problemas prostáticos, e a miricetina atua no combate de alergias (VIT, 2009). Carpes et al. (2008) identificaram os flavonóides rutina e miricetina em amostras de pólen do sul do Brasil.

De acordo com a variedade de espécies botânica que as abelhas visitam o pólen pode ser considerado, monofloral, com predominância de um único tipo polínico e neste caso são mantidas as características sensoriais e físico-químicas da planta que lhe deu origem e polifloral ou multifloral, quando é originado pela mistura de variados tipos de pólen, resultando em um produto com maior diversidade de táxons botânicos (BARRETO et al., 2006; YANG, et al., 2012). A maioria das análises realizadas na esfera nacional, são com pólen apícola heterofloral, sendo pouco conhecidas as características do pólen monofloral brasileiro, especialmente pela diversidade da flora apícola no Brasil.

Cada tipo polínico possui singularidades morfológicas determinadas pelo seu patrimônio genético. Monsanto (2013) relata que o estudo palinológico é um auxílio importante no conhecimento da origem botânica do pólen e dos demais produtos sintetizados pelas abelhas.

Dentre as características utilizadas para a identificação dos tipos polínicos, estão o formato do pólen, que se divide entre ovoides, circular, rugosa, lisa e segmentada (NOGUEIRA et al., 2012), o tamanho, a cor, aparência e aberturas (MONSANTO, 2013). Estas características são determinadas por herança genética, e em função disso não sofrem transformações influenciadas por fatores relacionados ao ambiente (BARTH, et al., 2010).

A identificação botânica é uma técnica importante, pois auxilia na qualificação, ajudando na valorização do produto (MELO et al., 2009). A análise palinológica dos produtos da colmeia resulta em informações valiosas, pois a partir dela é possível conhecer a flora apícola da região de coleta, aumentando assim o conhecimento dos apicultores, obtendo-se ainda informações a respeito das espécies de planta preferidas pelas abelhas, a época que certos tipos de pólen estão sendo produzidos em uma determinada região, como também os períodos em que uma determinada florada encontra-se escassa ou em baixa produção (MORETI et al., 2002).

Dentre as diferentes formas de se qualificar o pólen apícola, encontram-se ainda as avaliações microbiológicas, que ilustram as condições higiênico-sanitárias aplicadas durante as diferentes fases do processo produtivo (SENA, 2000). A preocupação com a qualidade dos alimentos tem sido cada vez maior na sociedade atual. O consumidor, além de buscar produtos com qualidade nutricional, encontra-se atento a questões relacionadas à inocuidade dos alimentos.

A segurança alimentar está estruturada sobre vários critérios, e dentre estes se encontra a qualidade microbiológica. A presença de microrganismos nos alimentos não está relacionada apenas deterioração ou mudanças nas características físicas ou químicas, mais também, ao risco potencial que um alimento contaminado pode representar a saúde do consumidor, especialmente quando os microrganismos apresentam natureza patogênica (RODRIGUES et al., 2008)

De uma forma geral o crescimento e desenvolvimento de microrganismos está atrelado a fatores intrínsecos que são características inerentes aos alimentos como, pH, atividade de água e os nutrientes (FIORDA e SIRQUEIRA, 2009) a fatores extrínsecos que estão relacionados ao ambiente que circunda o alimento (BAPTISTA e VENÂNCIO, 2003) e a forma de conservação (SINELL, 1980).

Como qualquer outro tipo de produto destinado ao consumo humano, o pólen apícola, deve ser manipulado de maneira asséptica durante as etapas de produção, armazenamento e envase, garantindo-se desta maneira um produto final de qualidade, livre de contaminantes microbiológicos prejudiciais tanto às características do alimento quanto a saúde humana. Por possui um elevado valor

nutricional, é considerado um alimento passível a contaminação microbiana, que pode ser provenientes das próprias abelhas de outros insetos, animais, manipulação inadequada, e pelo uso de utensílios higienizados inadequadamente (HANI et al., 2012).

De acordo com Rocha (2013), os principais bolores presentes no pólen são os do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Alternaria*. Dentre as leveduras a *Candida magnoliae* é a mais comumente encontrada (GILLIAM et al., 1979). A época do ano e a permanência do pólen no apiário são condições que podem facilitar a contaminação do pólen por bolores e levedura (NOGUEIRA, 2012). Gilliam et al. (1990) relata que as bactérias comumente encontradas no pólen são *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. circulans* e *B. licheniformis*.

Apesar do crescente consumo do pólen apícola, não existe no Brasil parâmetros microbiológicos específicos, sendo necessária a elaboração destes critérios, já que se trata de um produto de consumo direto. O conhecimento dos constituintes nutricionais, bioativos, contaminantes microbiológicos e origem botânica, subsidiaram no controle de qualidade do pólen apícola e na valorização comercial do produto, potencializando sua utilização na indústria de alimentos e fármacos.

O objetivo deste trabalho foi verificar a parâmetros físico-químicos, bioativos, microbiológicos e origem botânica de amostras de pólen apícola com indicação monofloral. Dessa forma, este trabalho foi estruturado em dois Capítulos:

1. Parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e origem botânica em amostras de pólen apícola com indicação monofloral.
2. Determinação dos parâmetros microbiológicos em amostras de pólen apícola.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets.

Journal of Food Composition and Analysis, Roma, v.18, n. 1, p. 105 -111, 2005.

ALVES, M.L.T.M.F. Produção de pólen apícola. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v.10, n. 2, p. 1-5, 2013.

BARRETO, L.M.R.C. **Pólen apícola brasileiro: perfil da produção, qualidade e caracterização organoléptica**. Botucatu, 2004. 150 f. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista, 2004.

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, O.R.; DIB, A.P.S. **Produção de pólen no Brasil**. Taubaté: Cabral Press, 100p., 2006.

BARRETO, L.M.; ORSI, R.C.; OLIVEIRA, R.; NEGRÃO, A.F. Pólen apícola: tendências na produção e diversificação do produto. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, número especial, outubro, 2011.

BARRETO, L.M.R.C.; NORDI, J.C.; DIB, A.P.S.; CÉSAR, V.S.; ALVARELI, L. G.; NORDI, N.T.; CANELLA, J.B. Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba- SP. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 18, p. 64 - 70, 2012.

BARTH, O.M.; FREITAS, A.S.; OLIVEIRA, E.S.; SILVA, R.A.; MAESTER, F.M.; ANDRELLA, R.R.S.; CARDOZO, G.M.B.Q. Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. **Anais Academia Brasileira Ciências**, Rio de Janeiro, v.82, n.4, p. 893-902, 2010.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos, **Forvisão** - Consultoria em Formação Integrada, 1 ed. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001.** 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. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=12479&word>. Acesso em: 27 de abril de 2014.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutrition Significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n.11, p. 317-333, 1998.

CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIFERIO, C.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardization of analytical methods. **Journal Apicultural Research and Bee World**, Reino Unido, v.47, n. 2, p. 156-163, 2008.

CARPES, S.T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M.L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.6, p. 1818-25, 2007.

CARPES, S.T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil.** 2008. 248 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná, 2008.

CORBET, S.A.; WILLIAMS, I.H.; OSBORNE, J.L. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the Europe an Community. **Bee World**, v.72, n.2, p. 47-59, 1991.

CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; FERREIRA, A.F., PODEROSO, J.C.M.; ARAÚJO, E.D.; CARNELOSSI, M.A.G.; RIBEIRO, G.T. Actividade de água (aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do estado de Sergipe. **Revista da Fapese**, Aracaju, v. 4, n. 2, p.27-36, 2008.

COSTA, T.; JORGE N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e Saúde**, Arapongas, PR, v.13, n.3, p. 195-203, 2011.

COSTA, C.C.A.; OLIVEIRA, F.L. Polinização: serviços ecossistêmicos e o seu uso na agricultura, **Revista Verde**, Mossoró, RN, v. 8, n.3, p.1-10, 2013.

COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B. Alimentos Funcionais - Benefícios para a Saúde. 1 ed. Centro Universitário Newton Paiva. Viçosa – MG. 2008.

DEVI, K.A.; SUKRASNO & FIDRIANNY, I. Characterization of bee pollen from ranca bungur, bogor. **Proceedings of the Third International Conference on Mathematics and Natural Sciences**, 2010. Disponível em:<http://icmns.fa.itb.ac.id/proceedings/SESSION-2-BIOSCIENCES-AND-BIOTECHNOLOGY/173.Devi%20Karmilia%20A.pdf>. Acesso em: 12 de março de 2014

DORMAN, H.J.D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

ESTEVINHO, L.M.; RODRIGUES S.; PEREIRA, A.P.; FEÁS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**, Chester/Reino Unido v.47, n. 2, p. 429-435, 2012.

FAO. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture ñ the international response. In: FREITAS, B.M.; PEREIRA, J.O.P. Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Imprensa Universitaria, 2004. p 2-19.

FÉAS, X.; VÁSQUEZ-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**, Basileia/Suíça, v.17, n.7, p.8359-8377, 2012.

FENNEMA OR. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia; 1992. p.1096.

FERREIRA, R. C. **Avaliação das Características Físico-Químicas e Microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* Latreille Submetido a Diferentes Processos de Desidratação**. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador, 2012.

FIORDA, F.A.; SIQUEIRA, M. I. D. Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos, **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. 5/6, p. 817-826, 2009

GILLIAM, M. Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. **Apidologie**, Sophia-Antipolis/França, v.10, p. 43-53, 1979.

GILLIAM, M.; ROUBIK, D.W.; LORENZ, B.J. Microorganisms associated with pollen, honey, and brood provisions in the nest of a stingless bee, *Melipona fasciata*. **Apidologie**, Sophia-Antipolis/França, v.21, p.89-97, 1990.

HANI, B.; DALILA B.; SALIHA D.; DAOUND H.; MOULOUND G.; SEDDIK, K.; Microbiological Sanitary aspects of pollen. **Advances in Environmental Biology**, v. 6, n.4, p. 1415-1420, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CANHOS, D. A. L., SARAIVA, A. M. **Polinizadores do Brasil: Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. Denise de Araújo Alves (Ed. Associada). Instituto de estudos Avançados da Universidade de São Paulo, 2011.

ISIDOROV, V.A.; ISIDOROVA, A.G.; SCZCZEPANIAK, L.; CZYŻYEWSKA. Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. **Food Chemistry**, Oxford, v.115, n. 3, p. 1056-1063, 2009.

LEE, S.J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Oxford, v.91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LENSKY, G.; LENSKY, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.2, n.1, p.171-174, 2001.

KRUNIĆ, M.D.; STANISAVLJEVIĆ, L.Ž. Augmentation of managed populations of *Osmia cornuta* and *O. rufa* (Hymenoptera: Megachilidae) in Southeastern Europe. **Europe Journal Entomology**, v.103, n. 3, p. 695-697, 2006.

MELO, I.L.P.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n.3, p.346-53, 2009.

MENEZES, J. D. S. **Compostos Bioativos do pólen apícola. Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências de Alimentos na Faculdade de Farmácia da Bahia, Brasil.** 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 2009.

MONSANTO, M. G. **Caracterização de Compostos Fenólicos e de Minerais em Alguns Pólenes Apícolas.** 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal, 2013.

MORETI, A.C.C.C.; MARCHINI, L.C.; SOUZA, V. C.; RODRIGUES, R.R. **Atlas do pólen de plantas apícolas**. Rios de Janeiro: Papel virtual; 2002. 93p.

NACZW, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, n.1-2, p. 95-111, 2004.

NEVES, L.C.; ALENCAR S.M.; CARPES, S.T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellífera*. VII BMCFB, Lorena – SP. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, SP, v. 8, p. 107-10, 2009.

NOGUEIRA, C.; INGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHOS, L.M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel/Suíça, v. 13, n.9, p.11173-11187, 2012.

NOGUEIRA, C.M.P. **Estudo do pólen apícola comercial**. 2012, 62 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança, Portugal, 2012.

OLDONI, T.L.C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellífera***. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PINTO, F.A.; CAMPOS, C.N.; BARRETO, L.M.R.C. Perfil físico-químico do pólen apícola produzido em Taubaté, Vale do Paraíba, sudeste do Brasil. **Archivos Latino americanos de Producción Animal**, Maracaibo/Venezuela, v.20, n.12, p.1-6, 2012.

POTTS, S.G.; BIESMEIJER, J.C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W.E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology Evolution**, v. 25, n. 6, p.345-353, 2010.

ROCHA, J.F.M. **Avaliação do efeito do armazenamento na qualidade do pólen apícola**. 2013. 96 f. Dissertação (mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) Escola Superior Agrária de Bragança – Instituto Politécnico, IPB, Portugal, 2013.

RODRIGUES, M.A.A.; KELLER, K.M.; KELLER, L.A.M.; OLIVEIRA, A.A.; ALMEIDA, T.X.; MARASSI, A.C.; KRÜGER, C.D.; BARBOSA, T.S.; LORENZON, M.C.A.; ROSA, C.A.R. Avaliação micológica e micotoxicológica do pólen da abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*) proveniente de ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, **Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro**, v. 30, n. 4, p.249-253, 2008.

ROUBIK, D.W. Pollination of cultivated plants in the tropics. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 1995.

SENA, M.J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus sp.* isolados de queijos coalho comercializados em Recife (PE)**. 2000. 75 f. Tese (doutorado) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2000.

SHIPP, J.L.; WHITFIELD, G.H.; PAPADOPOULOS, A.P. Effectiveness of the bumble bee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.57, n.1-2, p.29-39, 1994

SINELL, H. Factores que influyen en las poblaciones mixtas. In: SILLIKER, J.; ELLIOT, R.; BAIRD-PARKER, A.; BRYAN, J.; CHRISTIAN, J.; CLARK, D; OLSON, J. & ROBERTS, T. **Ecologia microbiana de los alimentos**. Volumen 1.

Fatores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Internacional Comision on Microbiological Specifications for Foods. 2 ed.. 1980.

VELTHUIS, H. H. W. Biologia das abelhas sem ferrão. Congresso Centenário da Apimondia, Antverpia, 1997.

VIT, P. Origen botânico y propiedades medicinales del pólen apícola. **Departamento Ciência de los Alimentos**, v.3, 2009.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Carlos, v. 20, n. 3, p. 459-471, 2010.

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**, Washington, v. 61, n.3, p. 708-718, 2013.

CAPITULO 1

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, COMPOSTOS BIOATIVOS E ORIGEM BOTÂNICA EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL¹

¹Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Ciência Rural.

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, COMPOSTOS BIOATIVOS E ORIGEM BOTÂNICA EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA COM INDICAÇÃO MONOFLORAL.

RESUMO: A caracterização físico-química, bioativa e a elucidação da origem botânica, faz-se importante na busca do controle de qualidade do pólen apícola, potencializando sua utilização tanto na indústria de alimentos quanto na indústria de fármacos. O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros físico-químicos, teor de fenóis e flavonoides totais e a origem botânica de amostras de pólen apícola desidratado com indicação monofloral. Foram analisadas 10 amostras de pólen, sendo nove provenientes do estado da Bahia e uma oriunda do estado de Sergipe, doadas pelos produtores entre os anos de 2012 e 2014. Os parâmetros físico-químicos e bioativos avaliados foram: umidade; atividade de água; cinzas; lipídios; proteínas; açúcar total; pH; acidez livre; fenóis e flavonoides totais. A origem botânica foi determinada por palinologia e resultou na confirmação de oito amostras monoflorais e duas heteroflorais, sendo o tipo *Cocos nucifera* o de maior representatividade, estando presente em 90% das amostras, constituído duas amostras monoflorais, no entanto, o tipo *Miconia* foi o táxon que apresentou o maior número de amostras monoflorais. As análises revelaram os seguintes valores médios: umidade 8,78%; atividade de água 0,42; cinzas 3,08%, lipídios 1,84%; proteínas 19,51%; açucares totais 28,42%; pH 4,81; acidez 99,78 mEq/kg e fenóis e flavonoides totais 54,91 mg AG/100g e 94,32 mg quercetina/100g, respectivamente. Dentre os parâmetros físico-químicos impostos pela legislação brasileira, tidos como padrão de qualidade oficial para o pólen apícola, apenas a umidade e alguns teores de lipídeos encontram-se abaixo dos limites estabelecidos pela Legislação vigente. De um modo geral as amostras de pólen apícola avaliadas podem ser consideradas nutricionalmente balanceadas.

Palavras-chaves: Composição nutricional; fenóis; flavonoides; análise polínica, qualidade.

PARAMETERS PHYSICO-CHEMICAL, COMPOUNDS BIOACTIVE AND ORIGIN BOTANY IN SAMPLES OF BEE POLLEN WITH INDICATION MONOFLORAL.

ABSTRACT: The physical chemistry, bioactive characterization and elucidation of botanical origin, it is important in the search of quality control of bee pollen, boosting both its use in the food industry when in the drug industry. The objective was to evaluate the physico-chemical parameters, total phenols and total flavonoids and dehydrated botanical origin of bee pollen samples with indication Monofloral. Ten samples of pollen were analyzed; nine were from the state of Bahia and one coming from the state of Sergipe, donated by producers, between the years 2012 and 2014. The evaluated physicochemical and bioactive parameters were: moisture; water activity; ash; lipids; proteins; total sugars; pH; acidity; total phenols and flavonoids. The botanical origin was determined, and resulted in confirmation palinology eight samples and two Monofloral heterofloral being *Cocos nucifera* the type most representative being present in 90% of samples, comprising two Monofloral samples, however, the type was *Miconia* taxon that had the highest number of monofloral (n = 3) samples. The analysis revealed the following average values: moisture 8.78%; water activity of 0.42; 3.08% ash, 1.84% lipids; Protein 19.51%; total sugar 28.42%; pH 4.81; acidity 99.78 mEq / kg and total phenols and flavonoids AG 54.91 mg / 100g and 94.32 mg Quercetina/100g, respectively. Among the physico-chemical parameters imposed by Brazilian law, taken as a standard of official capacity for pollen, just moisture and some lipid levels are below the limits established by current legislation. Generally the samples evaluated pollen can be considered nutritionally balanced.

Keywords: Nutritional composition; phenols; flavonoids; Pollen analysis, quality.

INTRODUÇÃO

O pólen apícola é o produto da aglutinação do pólen floral, mediante acréscimo de substâncias salivares e pequenas quantidades de néctar, efetuado pelas abelhas (CAMPOS et al., 2008), formando uma pequena massa que será alojada na corbícula e levada para a colmeia. Este produto apresenta particularidades em relação ao pólen floral, pois ao adicionar saliva, às abelhas estão acrescentando enzimas, aminoácidos e vitaminas, tornando a composição do pólen apícola diferente da contida no pólen das flores.

A depender da variedade de espécies vegetais que as abelhas visitam o pólen apícola pode ser considerado monofloral, com predominância de um único tipo polínico e neste caso são mantidas as características sensoriais e físico-químicas da planta que lhe deu origem (GONZÁLEZ-MARTÍN et al., 2007) e polifloral ou multifloral, ocorrendo quando as abelhas por visitarem diversas flores, formam um mix de diversos tipos polínicos, apresentando uma maior diversidade de características físico-químicas e morfológicas (BARRETO et al., 2006; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005).

Além da nutrição das abelhas, o pólen apícola pode ser utilizado na dieta humana e neste contexto a determinação dos elementos que fazem parte da sua constituição torna-se um aliado importante para entender as particularidades dos produtos provenientes das mais diversas origens geográficas (MACHINI et al., 2006). O pólen apícola representa uma importante fonte de proteína, apresentando também carboidratos, lipídeos e minerais (FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ et al., 2013), além de vitaminas antioxidantes (β -caroteno como pró-vitamina A, vitaminas C e E) vitaminas D e do complexo B (MUNIATEGUI et al., 1990).

Além das propriedades nutricionais o pólen apícola tem se destacado pela presença de substâncias bioativas, como os compostos fenólicos (MENEZES, 2009) principalmente flavonoides (CARPES, 2008). Estes compostos apresentam propriedades, antifúngica, anti-inflamatória, imunomodulatória, anticariogênica e antibacteriana, exercendo ainda função antioxidante inibindo a ação lesiva dos radicais livres (GRAIKOU et al., 2011). Neste sentido, o pólen apícola vem ganhado espaço no mercado pelo seu potencial terapêutico (ALMARAZ-ABARCA

et al., 2007), sendo considerado um alimento funcional (ZERAİK et al., 2010; OLDONI, 2007).

O mercado apícola tem crescido muito nos últimos anos e essa nova realidade tem exigido a comercialização de produtos mais elaborados. O consumidor atual está atento a qualidade do produto que está sendo adquirido, no entanto este novo consumidor não está preocupado apenas com aspectos relacionados a aparência ou características organolépticas do alimento, tendo como foco, características químicas que atestam a qualidade do produto, como também a ação benéfica que o mesmo pode proporcionar a saúde humana.

Conhecer a composição dos diferentes tipos polínico é um subsídio importante na escolha do melhor local para instalação dos apiários (PEREIRA et al., 2006) contribuindo assim para o controle de qualidade e para a orientação da produção comercial de pólen monofloral.

Cada tipo polínico apresenta singularidades morfológicas, determinadas pela herança genética, que não sofrem qualquer tipo de alteração influenciada por fatores ambientais (BARTH et al., 2010) e neste âmbito a palinologia entra como um aliado importante, pois é através da análise palinologica que a origem botânica do pólen e dos demais produtos sintetizados pelas abelhas é determinada (MONSANTO, 2013).

O Conhecimento dos constituintes nutricionais, bioativos e origem botânica subsidiarão no controle de qualidade do pólen apícola, agregando valor comercial ao produto, potencializando sua utilização tanto na indústria de alimentos quando na indústria de fármacos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas, o teor de fenóis e flavonoides totais e a origem botânica de amostras de pólen apícola com indicação monofloral.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido a partir de 10 amostras de pólen apícola desidratado, obtidas diretamente com os apicultores, sendo nove provenientes do estado Bahia e um do Sergipe. As amostras foram coletadas entre os anos de 2012 e 2014, declaradas por seus produtores como monoflorais e armazenadas sob-refrigeração para garantir a conservação até o momento das análises.

As amostras foram submetidas a análises físico-químicas, fenóis e flavonoides totais e palinológica, realizadas no Laboratório de Análises do Núcleo de Estudo dos Insetos - INSECTA do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas – Bahia. Os dados referentes às amostras encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Dados referentes as 10 amostras de pólen apícola com indicação monofloral, origem botânica indicada pelo produtor, local de coleta e ano de coleta.

Amostras	Origem botânica indicada pelo apicultor	Local de coleta	Ano da Coleta
897	<i>Eucalyptus</i>	Teixeira de Freitas / Bahia	2012
898	<i>Eucalyptus-Canes</i>	Canavieiras / Bahia	2012
899	<i>Acacia magium</i>	Teixeira de Freitas / Bahia	2012
900	Cajá	Canavieiras / Bahia	2012
901	<i>Cocos nucifera</i>	Maraú / Bahia	2012
968	NIA	Valença / Bahia	2013
969	NIA	Valença / Bahia	2013
970	NIA	Valença / Bahia	2013
971	NIA	Ilhéus / Bahia	2013
972	<i>Cocos nucifera</i>	Neópolis / Sergipe	2014

NIA: não informado pelo apicultor

Determinação físico-química

Os seguintes parâmetros foram avaliados: umidade, cinzas, proteína, lipídios, pH, acidez livre, açúcar total e atividade de água. As análises físico-químicas seguiram os parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 2001), preconizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), exceto a atividade de água. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Umidade

O teor de umidade foi determinado pesando-se 2,0 gramas de pólen de cada amostra, previamente macerada através do método gravimétrico em estufa a 105 °C até peso constante, de acordo com as normas da AOAC (1995).

Cinzas ou Resíduo Mineral Fixo (%)

Pesou-se 2,0 g de pólen em cadinhos de porcelana, sendo o teor de cinzas determinado por incineração em mufla (Fornitec), a 550°C. Este método consiste na incineração da matéria orgânica presente até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Proteína (%)

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Micro-Kjeldahl, que determina o teor de nitrogênio utilizando o fator de conversão 6,25 para transformar a porcentagem de nitrogênio total em proteínas (AOAC, 1995; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2012).

Lipídios (%)

Pesou-se 2,0 gramas de cada amostra e transferiu-se para cartucho de papel filtro previamente preparado. O cartucho foi transferido para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Acoplou-se o copo de fundo chato previamente tarado a 105°C contendo aproximadamente 70 ml de hexano (C₆H₁₄) ao extrator. A primeira fase consiste no aquecimento, com o cartucho mergulhado no solvente sob-temperatura de 100°C por 1 hora. Transcorrido o tempo, suspendeu-se o cartucho contendo a amostra para a região intermediária por 1 hora a 150°C, sendo esta a fase de lavagem. Após este período trocou-se a conexão intermediária e iniciou-se a fase de recuperação do solvente, esta fase dura de 1 a 2 horas. O copo foi desacoplado com o extrato etéreo e evaporou-se o resíduo de hexano em estufa a 105°C. Esfriou-se em dessecador até temperatura ambiente e pesou (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

.pH e Acidez livre (mEq/kg)

Pesou-se 2,0 gramas de pólen de cada amostra, sendo diluídas em 50 mL de água destilada. Com auxílio de pHmetro previamente calibrado utilizando soluções tampão certificadas com pH 4,00 e 7,00, realizou-se a leitura direta do pH da amostra diluída. A acidez livre foi determinada a partir do método de titulação potenciométrica com solução de NaOH 0,05 mol/L padronizada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Açúcar total

O conteúdo de açúcar total foi determinado pelo método titulométrico de Fehling (LANE e EYNON, 1934).

Atividades de água

A determinação da atividade de água (aw) foi efetuada com o auxílio do aparelho PawKit (Decagon), que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medição do produto. A análise foi realizada a partir da adição de 3,0 gramas de pólen de amostra em uma cápsula circular que é acoplada ao equipamento, realizando a leitura automaticamente.

Análise de compostos bioativos

Preparo do Extrato Etanólico de Pólen apícola (EEP)

Os extratos foram preparados a partir de 4,0 gramas de pólen de cada amostra, diluídas em 12,5 mL de etanol a 70% (v/v). Em seguida procedeu-se a etapa da extração em banho ultrassônico por 60 minutos. Após este período foi realizada uma centrifugação a 4000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante filtrado com o auxílio de papel filtro quantitativo, diretamente em placa de petri. A evaporação do álcool foi realizada em capela de exaustão, finalizando com a raspagem do extrato seco e o armazenamento sob-refrigeração, em tubos falcon (MAIA-ARAÚJO et al., 2011).

Fenóis totais

O conteúdo de fenóis total foi determinada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999), utilizando ácido gálico como padrão de referência. Do extrato de pólen foi retiradas uma alíquota de 0,5 ml e adicionada a 2,0 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada 1:10 (v/v). Uma fração de 2.0 mL de carbonatos de sódio a 4% (v/v) foi adicionado no preparado e deixado em repouso por duas horas em temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 765 nm. Uma curva analítica foi construída com ácido gálico, sendo os resultados expressos em mg GAE/100g de pólen (GAE: equivalente em ácido gálico,).

Flavonoides totais

A determinação de teores de flavonoides totais foi realizado a partir do extrato metanólico de pólen desidratado baseado no método proposto por Park et al.(1995) sendo o cloreto de alumínio e o álcool metanólico os agentes modificadores do método. Para as análises foi realizada uma mistura em triplicata de 2 ml da solução do extrato de pólen e 2 ml de $AlCl_3$ a 2%. Após repouso de 40min à temperatura ambiente, foi realizada a leitura da solução em espectrofotômetro a 415 nm de absorbância. Foi utilizado a quercetina como padrão para a construção da curva analítica, sendo o teor de flavonoides expresso em termos de concentração de quercetina (mg / 100g).

Análise palinológica

A análise palinologica foi realizada a partir da diluição de 5,0 gramas de pólen de cada amostra em 20 mL de água destilada (40°C) permanecendo em repouso por um período de 1 hora. Transcorrido o tempo de repouso a mistura foi centrifugada (3000 rpm durante 5 minutos) e o líquido sobrenadante descartado. O sedimento polínico foi desidratado em ácido acético glacial (2,0 mL) e em seguida submetido ao processo de acetólise de Erdtman (1960). O sedimento resultante foi montado em lâminas contendo gelatina glicerinada. Duas lâminas foram montadas por amostra e os tipos polínicos fotomicrografados e analisados

de forma qualitativa (origem botânica) e quantitativa (contagem de 1000 grãos de pólen por amostras, com o auxílio de microscópio óptico).

A identificação foi realizada por comparação com a literatura e com o auxílio da palinoteca e colaboração dos palinólogos (especialistas) do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). A classes de ocorrência foi determinada segundo Louveaux et al. (1978) em: pólen dominante - PD (>45% do total de grãos), pólen acessório - PA (16 a 45%), pólen isolado importante - PII (3 a 15%) e pólen isolado ocasional - PIO (<3%).

Análise Estatística

A análise foi realizada com o auxílio do programa estatístico *SAS-Statistical Analysis System* (SAS Institute, 2011).

Para as variáveis físico-químicas e bioativas foi realizada a estatística descritiva: valores mínimos, máximo, média, desvio padrão e coeficiente de variação. Os dados foram testados quanto a sua distribuição normal pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Para a análise de agrupamento utilizou-se a distância euclidiana média e o método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages), a partir dos dados padronizados (CRUZ e REGAZZI, 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise palinologica

Os dados sobre a origem botânica indicada pelo produtor e a origem botânica real confirmada pela análise polínica, encontram-se expressos na tabela 2. De acordo com os resultados obtidos, observaram-se discordâncias em algumas informações prestadas pelo produtor da Bahia. Segundo as indicações dadas às nove amostras provenientes da Bahia seriam monoflorais, no entanto a análise polínica revelou a presença de duas amostras heteroflorais. Foi constatada ainda que às amostras 898, 899 e 900, não pertenciam à origem

botânica indicada pelo produtor (*Eucalyptus-Canes*, *Acacia magium* e Cajá respectivamente), sendo oriundas do tipo *Eucalyptus* (898), de um tipo polínico dominante não identificado (899), sendo a amostras 900 considerada heterofloral.

Tabela 2. Origem botânica indicada pelo produtor, origem botânica confirmada através da análise palinológica do pólen apícola com indicação monofloral, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe.

Amostras	Origem botânica indicada	Origem botânica confirmada	Local de coleta
897	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i>	Teixeira de Freitas / Bahia
898	<i>Eucalyptus- Canes</i>	<i>Eucalyptus</i>	Canavieiras / Bahia
899	<i>Acacia magium</i>	Indet.1	Teixeira de Freitas / Bahia
900	Cajá	Heterofloral	Canavieiras / Bahia
901	<i>Cocos nucifera</i>	<i>Cocos nucifera</i>	Maraú / Bahia
968	NIP	<i>Miconia</i>	Valença / Bahia
969	NIP	<i>Miconia</i>	Valença / Bahia
970	NIP	<i>Miconia</i>	Valença / Bahia
971	NIP	Heterofloral	Ilhéus / Bahia
972	<i>Cocos nucifera</i>	<i>Cocos nucifera</i>	Neópolis / Sergipe

NIP: não indicado pelo produtor; Indet.- indeterminada.

Sattler (2013), avaliando a origem botânica de 21 amostras de pólen, observou, que das 17 indicações botânicas informadas pelos apicultores apenas cinco tiveram a origem botânica confirmada, ressaltando ainda que a origem presumida de duas amostras monoflorais feitas pelos produtores não estavam de acordo com os resultados obtidos através análise polínica.

Almeida-Muradim et al. (2005) analisando amostras de pólen com indicação monofloral provenientes do Sul do Brasil, constataram que todas as amostras apresentavam diferentes táxons, sendo consideradas heteroflorais. Com isso os autores concluíram que amostras com cores homogêneas, não confirmam se o pólen é monofloral, apesar da probabilidade do produto ser de um único táxon ser maior. Esta é possivelmente uma das explicações que levam os produtores a cometer equívocos no momento de determinar se o pólen é

monofloral. Outra explicação estaria relacionada à falta de conhecimento da totalidade da flora apícola da região onde se encontra instalada o apiário.

Assim, os devidos cuidados devem ser tomados pelos produtores no momento da identificação de seus produtos, evitando uma comercialização incorreta. A identificação palinológica dos grãos consiste num auxílio necessário para confirmar de forma precisa a qual táxon botânico pertence um determinado produto, como também a frequência de cada tipo polínico, caracterizando o pólen como monofloral, bifloral ou heterofloral.

As frequências dos tipos polínicos encontra-se expresso na (Tabela 3). O pólen é admitido monofloral, quando apresenta um táxon botânico dominante com valor igual ou maior que 90%, tomando como referência os 1000 grãos de pólen contados. Nove famílias foram identificadas entre as amostras, sendo elas: Myrtaceae, Fabaceae, Asteraceae, Arecaceae, Solanaceae, Anacardiaceae, Melastomataceae, Poaceae, Cyperaceae.

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que 80% do material avaliado apresentaram um único tipo polínico dominante, com frequência maior que 90%, portanto, podem ser considerados monoflorais. Em contrapartida as amostras 900 e 971, apesar de apresentarem um táxon dominante, foram consideradas heteroflorais, pois suas frequências encontram-se abaixo de 90%. A amostra 900 apresentou os táxons: *Cocos nucifera* (5,02% PII); Indet. 2 (50,28% PD); *Spondia* (43,5% PA); Poaceae (0,6% PIO) e Cyperaceae (0,6% PIO), enquanto os tipos *Cocos nucifera* (33,3% PA); *Myrcia* (60,0% PD); *Shinus* (6,7% PII) constituíram a amostra 971.

O tipo *Eucalyptus* apresentou-se como pólen dominante nas amostras 897 e 898, com frequência de 96,8% e 97,0% respectivamente. A análise palinológica confirmou a presença de um táxon botânico predominante na amostra 899 com frequência de 97,8%, no entanto não foi possível confirmar sua origem botânica, sendo o tipo polínico representado pela terminologia Indet.1, ou seja, origem indeterminada.

Tabela 3 – Frequência de tipos polínicos obtidos em amostras de pólen apícola desidratado, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe.

Tipos polínicos / Famílias	Amostras / Frequência (%)									
	897	898	899	900	901	968	969	970	971	972
<i>Eucaliptus</i> Myrtaceae	96.8 (PD)	97 (PD)	0.6 (PIO)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mimosa</i> ssp. Fabaceae	-	1.0 (PIO)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mikania</i> Asteraceae	2.2 (PIO)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cocos nucifera</i> Arecaceae	1.0 (PIO)	-	1.6 (PIO)	4.3 (PII)	100 (PD)	3.0 (PIO)	2.8 (PIO)	1.5 (PIO)	33.3 (PA)	100 (PD)
<i>Solanaceae</i>	-	2.0 (PIO)	-	-	-	-	-	-	-	-
Indet.1	-	-	97.8 (PD)	-	-	-	-	-	-	-
Indet.2	-	-	-	50.28 (PD)	-	-	-	-	-	-
<i>Spondia</i> Anacardiaceae	-	-	-	43.5 (PA)	-	-	-	-	-	-
<i>Miconia</i> Melastomataceae	-	-	-	-	-	97 (PD)	97.2 (PD)	98.5 (PD)	-	-
<i>Myrcia</i> Myrtaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	60 (PD)	-
<i>Shinus</i> Anacardiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	6.7 (PII)	-
Poaceae	-	-	-	0.6 (PIO)	-	-	-	-	-	-
Cyperaceae	-	-	-	0.6 (PIO)	-	-	-	-	-	-

Indet.: indeterminado; PD = pólen dominante (> 45% do total de grãos); PA = pólen acessório (de 16% a 45%); PII = pólen isolado importante (de 3% a 15%); PIO: pólen isolado ocasional (< 3%).

A falta de conhecimento das plantas visitadas pelas abelhas em uma determinada área é um dos fatores que dificulta a identificação dos tipos polínicos. Outra provável justificativa estaria ligada a realização da acetólise, pois este procedimento pode modificar o perfil estrutural dos grãos, impossibilitando sua identificação.

O tipo *Cocos nucifera*, foi constatado em 90% das amostras, apresentando-se como pólen dominante nas amostras, 901 e 972, ambas com frequência de 100%, consideradas dessa forma monoflorais. Estes resultados demonstram a importância deste táxon nas regiões de coleta. A presença marcante de *Cocos nucifera* entre as amostras pode estar relacionada a uma maior produção de pólen por este táxon na época em que as amostras foram coletadas, condição que justificaria uma maior utilização deste tipo polínico pelas abelhas.

As amostras 968, 969 e 970 apresentaram o tipo *Miconia* como pólen dominante com as seguintes frequências, 97,0%, 97,2%, 98,5% respectivamente. A amostra 900 apresentou um tipo polínico dominante com frequência de 50,28%, no entanto, sua origem botânica não pode ser identificada, sendo representado por Indet. 2. Enquanto a amostra 971 apresentou o tipo polínico dominante *Mycia*, apresentado frequência de 60,0%, não sendo considerada monofloral por não alcançar frequência $\geq 90\%$.

A divulgação das propriedades do pólen tem proporcionado um aumento na procura por este alimento. Desta maneira o conhecimento dos táxons botânicos de uma determinada região é de fundamental importância para o produtor, sendo uma ferramenta essencial na caracterização e identificação do produto.

Análises físico-químicas e compostos bioativos.

Os dados obtidos a partir das análises físico-químicas e os teores de fenóis e flavonoides totais, assim como o Regulamento Técnico para Fixação Identidade e qualidade de pólen apícola (Brasil, 2001), estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados obtidos para os critérios físico-químicos, teores de fenóis e flavonoides de pólen apícola provenientes dos estados da Bahia e Sergipe e especificações brasileira (Regulamento Técnico).

Variáveis	Mínimo	Máxima	Média	Desvio padrão	Teste Normalidade	CV(%)	Especificações Brasileiras
Umidade (%)	7,37	10,37	8,78	1,03	0,94 ^{ns}	11,76	Máximo 4%
Atividade de água	0,30	0,47	0,42	0,05	0,79*	11,79	-
Cinzas (%)	2,20	3,81	3,06	0,53	0,93 ^{ns}	17,34	Máximo 4%
Lipídios (%)	0,62	3,31	1,84	1,03	0,93 ^{ns}	48,14	Mínimo 1,8%
Proteínas (%)	16,26	21,19	19,51	1,83	0,83*	9,38	Mínimo 8%
Açúcar total (%)	26,62	31,26	28,42	1,55	0,86*	5,46	14% a 55% m/m
pH	4,49	5,07	4,81	0,18	0,95*	3,89	4 a 6
Acidez (mEq/kg ⁻¹)	76,73	124,91	99,78	15,45	0,96 ^{ns}	15,48	300 mEq/kg
Fenóis mg AG/g	42,56	134,91	54,91	28,57	0,49*	52,04	-
Flavonoides mg quercetina/g	42,02	305,02	191,32	80,63	0,91*	41,49	-

Valores seguidos de * - significativo a 5% de probabilidade e ns - não significativo pelo teste (Shapiro-Wilk); CV- Coeficiente de variação.

Umidade

O teor de umidade apresentou valor mínimo de 7,37% e máximo de 10,37%, com média de $8,78 \pm 1,03\%$. Comparando a média obtida, com o valor estabelecido pela legislação brasileira, observa-se que 100% das amostras apresentam valores acima do permitido, já que o máximo admitido é 4% para o pólen apícola desidratado. Uma explicação plausível para tal condição pode está relacionado à natureza higroscópica do pólen apícola, pois é um produto suscetível a condições ambientais (MARCHINI et al., 2006), absorvendo umidade do ambiente com facilidade. Conteúdo elevado de umidade em alimentos é uma condição totalmente indesejável, já que pode criar um ambiente propício ao desenvolvimento de microrganismos.

Apesar de elevados, os teores obtidos nesta pesquisa encontram-se abaixo dos encontrados por Rocha (2013), que avaliando amostras de pólen apícola desidratado em Portugal, encontrou valores de umidade variando entre $15,13 \pm 0,21\%$ e $17,30 \pm 0,14\%$, concluído que as amostras estavam totalmente impróprias para o consumo.

Teores de umidade acima de 4% tem sido comumente verificados em avaliações de pólen apícola desidratado no Brasil. Barreto et al. (2012) estudando pólen proveniente da região do Vale do Paraíba São Paulo, encontraram valores de umidade variando entre 3,8 a 6,8, com média de 5,71%, onde 85,7% do material avaliado estavam acima do valor máximo permitido pelos padrões legais vigentes

Almeida-Muradian (2005), encontrou valores acima dos considerados seguros pela legislação brasileira, com média de 7,4% em pólen oriundos da região sul do Brasil. Serafini (2013) avaliando pólen provenientes do Paraná, encontrou valores de umidade acima do estabelecido pela legislação brasileira com média de 7,44%.

Teor de umidade elevado em pólen apícola desidratado pode ser o resultado de falhas no controle da umidade nas etapas que antecedem a desidratação, que por sua vez comprometeram o processo de secagem. Outras explicações possíveis estariam relacionadas ao uso de maquinários inapropriados e descalibrado ou ainda a manipulação do produto em ambiente com umidade acima de 45% (BARRETO et al., 2012).

Sattler (2013) relata que o valor de umidade no pólen apícola pode variar tanto de acordo com características regionais e ambientais quanto, pelos métodos utilizados para sua determinação. A umidade é um parâmetro de grande relevância na avaliação do pólen apícola ou de qualquer outro tipo de alimento, pois está relacionada à sua conservação podendo comprometer a qualidade final do produto reduzindo sua vida útil, pois teores elevados de umidade deixam o alimento passível à deterioração microbiana.

Atividade de água (aw)

Os resultados obtidos apontam um baixo conteúdo de água livre, com valor mínimo de 0.30 e máximo de 0.47 e média de $0,42 \pm 0,05$ (Tabela 4), portanto, são característicos de alimentos desidratados. Barreto et al. (2005) reporta que para ser classificado como desidratado o pólen precisa apresentar atividade de água com teores entre 0,42 e 0,57 (aw). Esta condição proporciona uma maior estabilidade ao alimento, aumentando sua vida útil.

Durante as últimas três décadas, a atividade de água (aw) tem sido um dos mais importantes parâmetros para avaliar a conservação e processamento dos alimentos (GARCIA, 2004). Entretanto este critério, não é considerado um parâmetro de qualidade oficial pela legislação vigente, no entanto é de grande relevância na análise de alimentos, já que está relacionado ao desenvolvimento de microrganismos.

Krist et al. (1999) reportam que, os alimentos são considerados de baixa atividade de água quando o teor de água livre for menor que 0,60. Baixos conteúdos de água livre associado a um acondicionamento adequado reduz sobremaneira a multiplicação dos microrganismos. O valor médio obtido no presente trabalho 0,42 foi similar a média estadual de atividade de água de 0,44 do pólen apícola obtida no estado de Sergipe (Correia- Oliveira et al., 2008)

Cinzas

O teor de cinzas apresentou valor mínimo de 2,20% e máximo de 3,81% com índice médio de $3,06 \pm 0,53\%$, portanto encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente que estabelece valor máximo de 4%

(Tabela 4), sendo o valor mais elevado registrado na amostra 972 proveniente do estado de Sergipe (Tabela 5).

Os valores obtidos apresentam-se semelhantes aos encontrados por Carpes et al. (2008) em amostras do Sul do Brasil, que encontrou valores oscilando entre 1,90% a 3,91%, e aos obtidos por Machine et al. (2006) e FÉAS et al. (2012), que obtiveram valor médio de 2,9%, em pólen apícola oriundos de Piracicaba e Portugal, respectivamente.

Através da análise de determinação de cinzas é possível verificar algumas irregularidades no produto, que denunciam falhas na higiene e sinalizam um beneficiamento incorreto. Altos teores de cinza apontam a presença de contaminantes inorgânicos, como sílica, terra, areia, fuligem de fumegador e metais (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2012), o que faz desta análise um importante parâmetro de qualidade (VILLANUEVA et al., 2002). No entanto o conteúdo de cinzas também está relacionado à origem botânica ao solo da região e a capacidade do vegetal em armazenar minerais (BONVEHI e JORDÀ, 1997).

Tabela 5. Valores médios de umidade, atividade de água, cinzas, lipídios e proteínas, presentes nas amostras de pólen apícola desidratado de acordo com a origem botânica.

Amostras	Origem botânica	Umidade (%)	Atividade de água	Cinzas (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)
897	<i>Eucalyptus</i>	7.60	0.45	2.40	2.05	21.17
898	<i>Eucalyptus</i>	8.38	0.46	2.56	3.30	20.50
899	Indet.1	8.92	0.44	2.19	3.20	17.80
900	heterofloral	9.05	0.47	2.94	2.18	16.26
901	<i>Cocos nucifera</i>	8.04	0.38	3.19	0.97	17.10
968	<i>Miconia</i>	10.37	0.43	3.3	1.41	19.10
969	<i>Miconia</i>	8.44	0.43	3.39	0.61	20.47
970	<i>Miconia</i>	10.34	0.42	3.50	1.27	21.19
971	heterofloral	9.34	0.45	3.52	1.97	21.02
972	<i>Cocos nucifera</i>	7.36	0.3	3.81	1.42	20.52

Lipídios

Os valores de lipídios oscilaram entre 0,62% e 3,31% com valor médio de $1,84 \pm 1,03\%$, que apesar de ser relativamente baixo, encontra-se no limite do valor mínimo exigido pelos padrões legais vigentes (Tabela 4).

Dentre as amostras avaliadas 50% encontram-se abaixo do valor mínimo exigido. O valor mínimo foi registrado na amostra 901 que representa o tipo polínico *Cocos nucifera*, seguido pela amostra 968 oriunda do táxon *Miconia*. Os maiores teores de lipídios foram verificadas nas amostras 898 (3,30%) e 899 (3,20%), ambas monoflorais, pertencentes ao tipo *Eucalyptus* e a um tipo desconhecido representado por Indet. 1 (Tabela 5).

O valor médio obtido estão neste trabalho encontra-se abaixo da média 3,4%, obtida por Sattler (2013) em amostras do Sul do Brasil, como também dos valores obtidos por Pinto et al. (2012) que obtiveram média de 4.4%. Machine et al. (2006) avaliando pólen apícola em Piracicaba, São Paulo, encontrou valores oscilando entre 2,2 a 5,1% de lipídios, os autores explicam que a oscilação encontrada pode está relacionada a alterações na constituição nutricional das plantas.

Todas as amostras monoflorais do tipo *Miconia* e *Cocos nuciferas* apresentaram valores abaixo do valor mínimo exigido, enquanto, as amostras de *Eucalyptus*, apresentaram valores acima do mínimo estabelecido pelos padrões legais vigentes (Tabela 5)

Os valores de lipídios assim como de outros nutrientes presentes no pólen apícola podem apresentar variações que estão relacionadas especialmente a origem botânica da planta (ESTEVINHO et al., 2012), condições ambientais e climáticas (LEJA et al., 2007), disponibilidade de nutrientes (MELO et al., 2009), além do beneficiamento e armazenamento (DOMÍNGUEZ-VALHONDO et al., 2011) pois se não forem realizados de forma adequadas, podem provocar perdas e prejuízos nutricionais ao produto.

Barreto (2004) reporta que teores de lipídios inferiores aos estipulados pela legislação vigente pode sinalizar a degradação dos lipídios presente no pólen apícola. No entanto, novas investigações precisam ser realizadas, com o intuito de verificar se os baixos conteúdos de lipídios encontrados no presente trabalho são de fato baixos, ou qual condição ou fator pode está ocasionado à

perda ou diminuição deste nutriente já que a constituição nutricional deste alimento pode ser influenciada por diversos fatores.

Proteínas

O teor de proteína no pólen apícola assim como os demais nutrientes está relacionado à sua origem floral (CORONEL et al., 2004). Pesquisas relatam que depois dos carboidratos as proteínas formam o grupo de nutrientes mais representativos no pólen apícola.

A determinação do teor de proteínas resultou em valores oscilando entre 16,26% a 21,19%, atendendo, portanto a determinação imposta pelo Regulamento Técnico Brasileiro (BRASIL, 2001) que estabelece 8% como valor mínimo (Tabela 4).

O menor conteúdo proteico foi verificado na amostra 900, confirmada heterofloral, com tipo polínico Indet. 2 como pólen dominante e *Spondia* como pólen acessório, seguida pela amostra 901 que representa o tipo *Cocos nucifera* (Tabela 5).

Os táxons representados pelas amostras 972, 897, 971, 898, 970, 969, apresentaram os maiores teores de proteína 21,19%, 21,17%, 21,02%, 20,50%, 20,47%, 19,10% respectivamente (Tabela 5), demonstrando potencial para serem utilizadas como suplemento alimentar. O elevado teor de proteína no pólen está geralmente associado aos diferentes táxons botânicos coletados pelas abelhas, no entanto no presente trabalho as amostras monoflorais, apresentaram valores tanto significativo como semelhantes ou até mais elevados aos verificados nas amostras heteroflorais.

A amostra 901 e 972 apesar de pertencerem ao mesmo táxon botânico (*Cocos nucifera*), apresentou variação em seus teores proteicos, 17,10 e 21,02 respectivamente (Tabela 5). É importante enfatizar que fatores ambientais, geográficos, coleta, manipulação, acondicionamento (ORZÁEZ VILLANUEVA et al., 2002), ou ainda variações naturais que existe na composição de cada espécie de planta, podem provocar variações no teor deste nutriente. Almeida-Muradian et al. (2005) explica que diferenças na composição nutricional podem ocorrer entre plantas das mesma espécies que são submetidas a condições ambientais distintas.

O valor médio de $19,51 \pm 1,83\%$ obtido no presente trabalho, foi similar aos encontrados por Almeida-Muradian et al. (2005) e Carpes et al. (2009) com valores de 21,00% e 20,47% respectivamente, em amostras provenientes do Sul do Brasil, sendo inferior ao do trabalho de Estevinho et al. (2012) que obteve valores oscilando entre 34,18% a 24,23%, e por Sattler (2013) que avaliando amostras provenientes do Sul do Brasil obteve média de 23,64%.

Açúcar total

O maior conteúdo de açúcares totais foi verificado na amostra 971 (31,26%) e o menor valor foi observado na amostra 900 (26,62%), apresentando índice médio de $28,42 \pm 1,55\%$ (Tabela 4).

Os resultados encontrados corroboram com os valores obtidos por Machine et al. (2006) que obtiveram valor médio de 28,4% e superiores aos encontrados por Serafini (2013) que verificou valor médio de 15,5% de açúcares totais. Todas as amostras avaliadas encontram-se dentro dos valores limites exigidos pela legislação brasileira.

As amostras heteroflorais 900 e 971 apresentaram os maiores teores de açúcares totais, No entanto não se observou grandes variações entre os valores obtidos nas amostras monoflorais e heteroflorais (Tabela 6).

pH e Acidez (mEq.kg¹)

A medida de pH ou potencial hidrogeniônico é um parâmetro de grande relevância em análise de alimentos, pois exercer influencia sobre o desenvolvimento microbiano, estando associado ao processo de deterioração dos alimentos (FIORDA e SIRQUEIRA, 2009). Os resultados obtidos apresentaram valor mínimo de 4,49 e máximo de 5,07, com média de $4,81 \pm 0,18$ (Tabela 4). De acordo com a classificação de Franco e Landgraf (2005) estes valores se enquadram na faixa de pH pouco ácido ($\text{pH} > 4,5$).

Nesta condição de pH é possível ocorrer o desenvolvimento de microrganismos, principalmente fungos e leveduras, visto que os valores encontram-se dentro da faixa ótima para o desenvolvimento destes organismos.

Os valores obtidos estão dentro dos limites (4 e 6), estabelecido pela legislação brasileira, sendo semelhante aos obtidos por Marchini et al. (2006) que obtiveram média 5,1 em amostras de pólen coletadas na região de Piracicaba-SP e por Pinto et al. (2012) com valor médio de 5,0 em pólen proveniente de Taubaté, Vale do Paraíba, sudeste do Brasil.

Com relação à acidez a legislação vigente prevê 300 mEq/kg⁻¹ como valor máximo de acidez admitida para pólen apícola. O menor teor de acidez foi registrado na amostra 897 (*Eucalyptus*), com valor mínimos de 76,73 mEq/kg⁻¹ e máximo 124,91 mEq/kg⁻¹, na amostra 971 (heterofloral), apresentando valor médio de 99,78 mEq/kg⁻¹ (Tabela 4), portanto todos os valores encontram-se dentro dos limites preconizados pela legislação utilizada como referencia neste estudo.

Tabela 6. Valores médios de açúcar total, pH, acidez, fenóis e flavonoides nas amostras de pólen apícola desidratado de acordo com a origem botânica.

Amostras	Origem botânica	Açúcar total (g)	pH	Acidez (mEq/kg ⁻¹)	Fenóis mg AG/100g	Flav. * mg Q/100g
897	<i>Eucalyptus</i>	27,66	5,00	76,73	4273	250,62
898	<i>Eucalyptus</i>	27,44	4,92	85,80	45,34	305,02
899	Indet.1	30,68	4,49	99,00	43,00	42,02
900	Heterofloral	26,61	5,07	99,83	59,90	85,58
901	<i>Cocos nucifera</i>	29,45	4,97	97,35	42,56	211,92
968	<i>Miconia</i>	28,62	4,67	110,39	43,32	202,15
969	<i>Miconia</i>	27,61	4,69	113,86	43,62	223,52
970	<i>Miconia</i>	27,34	4,80	109,57	47,18	240,31
971	heterofloral	31,25	4,63	124,91	46,52	239,59
972	<i>Cocos nucifera</i>	27,51	4,89	80,36	134,91	142,48

* Flav. – Flavonoides

Fenóis e flavonoides totais

Os compostos fenólicos são o grupo de fotoquímicos mais significativos

no pólen apícola (MENEZES, 2009), sendo a eles atribuída sua ação terapêutica. O resultado de fenóis totais, obtido pelo método de Folin-Ciocalteu apresentou valor mínimo de 42,56 mg AGE/100g e máximo de 134,91 mg AGE/100g, com valor médio de $54,91 \pm 28,57$ mg AGE/100g (Tabela 4).

De acordo com os dados expressos na (Tabela 6), pode-se verificar que a amostra 972, representando o tipo polínico *Cocos nucifera*, proveniente do estado de Sergipe, apresentou o maior teor médio de fenóis 134,91 mg AGE /100g, seguido pela amostra 900 confirmada como heterofloral, com valor médio de 59,90 mg AGE/100g. Leja et al. (2007) reporta que a quantidade de compostos fenólicos presente no pólen é proporcional a sua ação antioxidante.

Nogueira et al. (2012) encontrou valores de fenóis totais variaram entre 16,07 e 45,95 mg AGE/g. Freire et al. (2012) avaliando amostras de pólen proveniente da região de Canavieira-Ba, encontrou valores oscilando entre 41,50 a 213,20 mg AGE/g de pólen.

Os dados obtidos demonstram diferenças entre as amostras de *Cocos nucifera* provenientes da Bahia e Sergipe. A amostra de *Coco nucifera* proveniente da Bahia apresentou valor médio abaixo do obtido pela amostra proveniente de Sergipe (Tabela 6). Este fato pode estar relacionado, entre outros fatores, com a origem geográfica do pólen (Carpes et al., 2007) já que apresentam o mesmo tipo polínico, ou ainda com o tempo de armazenamento do produto.

Os teores de flavonoides totais expressos em mg quercetina/100g de pólen apícola, oscilaram entre 42,02 a 305,02 mg de quercetina/100g (Tabela 4). Os valores mais elevados foram verificados no pólen monofloral de *Eucalyptus*, seguindo pelas amostras 700, 701,969, que representam os tipos polínicos, *Miconia*, pólen heterofloral e *Miconia* respectivamente (Tabela 6). Neves et al. (2009) observou as seguintes variações 4,68 a 6,87 mg quercetina/g em amostras de pólen apícola proveniente de diferentes estados do Brasil.

A partir dos resultados de fenóis e flavonoides totais obtidos, pode-se observar variações significativas entre as amostras. Este fato pode estar associado à origem botânica ou ainda a constituição da planta, fatores

ambientais, localização geográfica, tempo de armazenamento e aos procedimentos que tais amostras foram submetidas durante o beneficiamento.

.Análise de agrupamento

As 10 amostras de pólen apícola foram comparadas pela análise de agrupamento, considerando os seguintes parâmetros: umidade, lipídios, proteínas, pH, acidez, açúcar total, fenóis e flavonoides, descartando-se as variáveis atividade de água e cinzas em virtude da alta correlação apresentada. Os resultados do agrupamento estão representados no dendrograma (Figura 1).

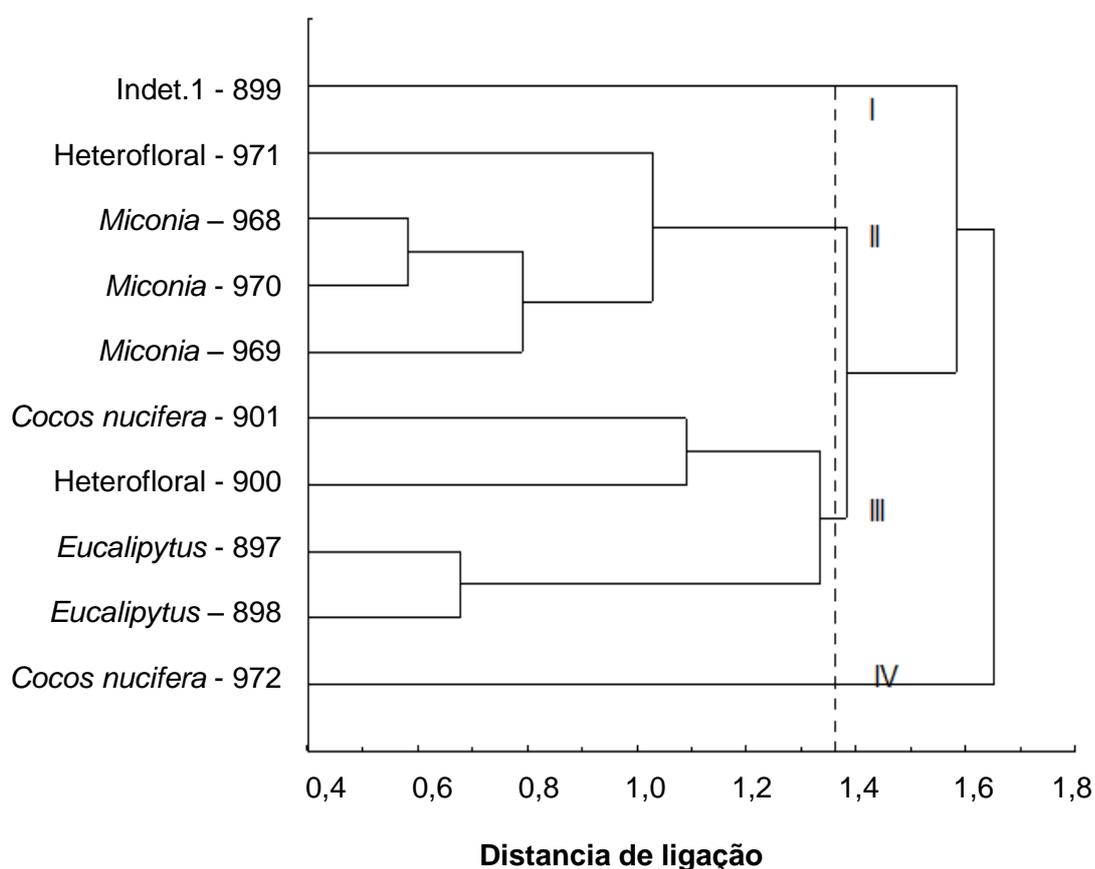


Figura 1. Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento, utilizando-se a Distância Euclidiana Média e algoritmo UPGMA, a partir da composição físico-química e teores de fenóis e flavonoides de 10 amostras de pólen apícola, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe.

Considerando a análise de agrupamento, pode-se verificar a formação de quatro grupos: I – Grupo formado apenas pela amostra 899; II – formado pelas amostras 968,969, 970 e 971; III – formado pelas amostras 897, 898, 900 e 901; e IV formado apenas pela amostra 972, caracterizando-se pela maior homogeneidade dos tipos polínicos dentro dos grupos e heterogeneidade entre os polens de grupos diferentes. O ponto de corte foi efetuado tomando-se como base o critério do salto, representado pela linha tracejada na figura 1

Observando os valores obtidos pela análise de Singh (1981) pode - se inferir que o grupo dos flavonoides foi a variável que mais contribuiu para o agrupamento, seguido pelos fenóis e acidez livre (Tabela 7).

Tabela 7. Contribuição relativa - Singh (1981), das variáveis para a divergência entre as amostras de pólen apícola desidratado.

Variável	Contribuição relativa (%)
Umidade	0,014
Lipídios	0,104
Proteína	0,044
Açúcar	0,032
Acidez	3,156
Fenóis	10,80
Flavonoides	85,95

A partir do dendrograma observa-se um distanciamento entre o tipo *Cocos nucifera* provenientes da Bahia representado pela amostra 901 e o tipo *Cocos nucifera* oriundo do estado de Sergipe (972). A amostra 972 representando o tipo *Cocos nucifera* oriunda do estado do Sergipe, formou um grupo isolado, não se agrupando com o tipo *Cocos nucifera* proveniente da Bahia (901).

Este fato pode ser explicado pela diferente origem geográfica, pois mesmo tendo a mesma origem botânica os táxons podem apresentar diferenças em suas composições, já que se encontram submetidas a condições ambientais distintas (Almeida- Muradian et al., 2005). Pelos dados da (Tabela

6), verifica-se que o houve grande variação entre os teores de fenóis e flavonoides das amostras, o que foi confirmado pela análise de Singh que indicou tais variáveis como as responsáveis pelas divergências entre os grupos (Tabela 7).

A amostra 899 monofloral, tendo como táxon dominante um tipo polínico indeterminado formou outro grupo isolado. Avaliando os dados expressos na (tabela 6), verifica-se que está amostra apresentou um dos menores valores de fenóis e flavonoides totais. Pelos dados obtidos pela análise de Singh (Tabela 7) pode-se inferir que o grupo dos flavonoides foi a variável que mais contribuiu para a separação desta amostra em relação as demais, provenientes do estado da Bahia formando um grupo isolado.

CONCLUSÃO

A análise polínica resultou na confirmação de oito amostras monofloral. A família Arecaceae representada pelo tipo *Cocos nucifera* foi à de maior representatividade entre as amostras, constituindo duas amostras monoflorais, sendo o tipo *Miconia* foi o táxon que apresentou o maior número de amostras monoflorais, demonstrando importância na região de coleta.

Excetuando-se a umidade e alguns teores de lipídios os demais parâmetros físico-químicos avaliados encontram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira. No entanto, o elevado teor de umidade desqualificou todas as amostras para o consumo, demonstrando que uma maior atenção deve voltada para o processamento e acondicionamento deste produto.

Observou-se a partir dos dados obtidos que as amostras de pólen apícola avaliadas apresentaram teores de fenóis e flavonoides totais. Os maiores teores de flavonoides foram encontrados nas amostras monoflorais de *Eucalyptus*, enquanto o maior conteúdo de fenóis foi verificado na amostra monofloral de *Cocos nucifera* proveniente de Sergipe.

Considerando o teor significativo de açúcar, proteína total, o pólen apícola avaliado apresenta potencial nutricional além da presença de compostos bioativos, podendo ser consumido de forma direta ou como

ingrediente na indústria de alimentos. De um modo geral as amostras de pólen apícola avaliadas podem ser consideradas nutricionalmente balanceadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMARAZ-ABARCA N.; CAMPOS M. G.; ÁVILA-REYES, J.A.; NARANJO-JIMENEZ, N.; CORRAL, J. H.; LAURA SILVIA GONZÁLEZ-VALDEZ, L. S. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). **Journal Food Composition and Analysis**, Roma, v. 20, n.1, p.119-124, 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, Roma, v.18, n. 1, p. 105 -111, 2005.

ALMEIDA-MURADIAN L.B.; ARRUDA, V.A.S.; BARRETO, L.M.R.C. **Manual de Controle de Qualidade do pólen apícola**. São Paulo: APACAME, p. 28, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washington. Association of Official Agricultural **Chemistry**. 1995, 960p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001**. 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. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=12479&word>. Acesso em: 27 de abril de 2014.

BARRETO, L. M. R. C. **Pólen apícola: beneficiamento, armazenamento e legislação**. 2004.150p. Tese (Doutorado Medicina Veterinária e Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 62, n. 2, p. 167-175, 2005.

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. **Produção de pólen no Brasil. Taubaté**: Cabral Press, p.100, 2006.

BARRETO, L. M. R. C.; NORDI, J. C.; DIB A. P. S.; CÉSAR, V. S.; ALVARELI, L. G.; NORDI, N. T.; CANELLA, J. B. Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba- SP. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 18, p. 64-70, 2012.

BARTH, O. M.; FREITAS, A.S. ; OLIVEIRA E. S.; SILVA, R. A.; MAESTER, F. M.; ANDRELLA, R. R. S.; CARDOZO, G. M. B.Q. Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 893-902, 2010.

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

CAMPOS, M. G. R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIFERIO, C.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardization of analytical methods. **Journal Apicultural Research and Bee World**, v.47, n.2, p. 156–163, 2008.

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. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil**. 2008. 248 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná - Curitiba, 2008.

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**, São Paulo, v.31, n.7, p. 1660-1664, 2008.

CARPES, S.T.; CABRAL, I. S. R.; LUZ, C. F. P.; CAPELETTI, J. P.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Palynological and physicochemical characterization of *Apis mellifera* L. bee pollen in the Southern region of Brazil. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v.7, n. 3, p. 667-673, 2009.

CORONEL, B.B.; GRASSO D.; PEREIRA S.C.; FERNÁNDEZ G.A. Caracterización bromatológica del pólen apícola Argentino. **Ciencia, Docencia y Tecnología**, Republica Argentina, v. 15, p. 141–181, 2004.

CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; FERREIRA, A.F.; PODEROSO, J.C.M.; LESSA, A. C.V.; ARAÚJO, E.D.; CARNELOSSI, M.A.G.; RIBEIRO, G.T. Atividade de água (Aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do estado de Sergipe. **Revista da Fapese**, Aracaju, Sergipe, v.4, n. 2, p. 27-36, 2008.

CRUZ, C.D; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento** genético. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994, p. 277-374.

DOMÍNGUEZ-VALHONDO, D.; BOHOYO GIL, D.; HERNÁNDEZ, M. T.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-collected pollen. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, n.10, p. 2204–2211, 2011.

ERDTMAN, G. The acetolysis method in a revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**. Lund, v. 54, n.4, 1960, p. 561-564.

ESTEVINHO, L.M.; RODRIGUES S.; PEREIRA, A.P.; FEÁS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**, Chester/Reino Unido 47, n. 2, p. 429-435, 2012.

FATROCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K.;NÔŽKOVA,J.;KAČÁNIOVÁ,M.;MÁRIÁSSYOVÁ, M.; ROVNÁ, K.; STRIČÍK, M. Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. **Journal of Environmental Science and Health**, v.48, n. 2, p.133-138, 2013.

FÉAS, X.; VÁSQUEZ-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**, Basileia/Suíça, v.17, n.7, p.8359-8377, 2012.

FIORDA, F. A.; SIQUEIRA, M. I. D. Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos, **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. 5/6, p. 817-826, 2009.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182p. 2005.

FREIRE, K. R. L.; LINS, A. C. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honeybee-collected pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, Basel/Suíça, v. 17, n. 2, p. 1652-1664, 2012.

GARCIA, D. M. **Análise de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**. 2004. 50 f. Dissertação (mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto alegre, 2004.

GONZÁLEZ-MARTÍN, I.; HERMÁNDEZ-HIERRO, J. M.; BARROS-FERREIRO, N.; MARCOS, C.C.; GARCÍA-VILLANOVA, R. J. Use of NIRS technology with a remote reflectance fibre-optic probe for predicting major components in bee pollen. **Talanta**, v.72, n. 3, p. 998-1003, 2007.

GRAIKOU, K.; KAPETA, S.; ALIGIANNIS, N.; SOTIROUDIS, G.; CHONDROGIANNI, N.; GONOS, E.; CHINOI, I. Chemical analysis of Greek pollen-Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. **Chemistry Central Journal**, Atenas, Grécia, v. 33, n. 5, p. 1-9, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2005.

LANE, J. H.; EYNON, L. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator, **Norman Rodge, London**, 1934, p. 8.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; WYŻGOLIK, G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKOŃ, K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, Oxford, v.100, n. 1, p. 237-240, 2007.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, Gerrards Cross, v.59, n.4, p.139-157, 1978.

KRIST, K.A.; NICHOLS, D. S.; ROSS, T. **Ecology of bacteria and fungi in foods: Influence of available water**. In: ROBINSON, R.; BATT, C. A.; PATEL, P. Encyclopedia of food microbiology. Ed. London, GB: Academic Press, p. 540-547, 1999.

MARCHINI L.C.; REIS, V.D.A.; MORETI, A. C.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**, Santa Maria, v. 36, n.3, p. 949-953, 2006.

MAIA-ARAÚJO, Y.L.F.; MENDONÇA, L.S.; ORELLANA, S.C.; ARAUJO, E.D. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena** v. 7, n. 4, 2011.

MELO, I.L.P.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 68, n. 3, p.346-53, 2009.

MENEZES, J.D.S. **Compostos Bioativos do pólen apícola. Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências de Alimentos na Faculdade de Farmácia da Bahia, Brasil**. 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 2009.

MONSANTO, M. G. **Caracterização de Compostos Fenólicos e de Minerais em Alguns Pólenes Apícolas**. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Inovação e **Qualidade** na Produção Alimentar) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal, 2013.

MUNITEGUI, S.; SANCHO, M.T.; LOPEZ, J.; HUIDOBRO, J.F.; SIMAL, J. Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**. Cardiff, v.29, n.3, p.147-150, 1990.

NEGRI, G.; TEIXEIRA, E. W.; ALVES, M.L.T.M.F.; MORETI, A.C.C.C.; OTSUK, I.P.; BORGUINI, R.G.; SALATINO, A. Hydroxycinnamic acid amide derivatives, phenolic compounds and antioxidant activities of extracts of pollen samples from Southeast Brazil. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 59, n.10, p. 5516–5522, 2011.

NEVES, L. C.; ALENCAR S. M.; CARPES S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellífera*. VII BMCFB, Lorena – SP. **Brazilian Journal Food Technology**, p. 107-10, 2009.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel/Suíça, v.13, n.9, p.11173-11187, 2012

OLDONI, T. L. C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellífera***. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ORZÁEZ VILLANUEVA, M.T.; DIAZ MARQUINA, A.; BRAVO SERRANO, R. BLAZQUEZ - ABELLÁN, G. The importance of bee collected pollen in the diet: a study of its composition. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 53, n. 3, p. 217-224, 2002.

PARK, Y.K., KOO, M.H., SATO, H.H., CONTADO, J.L. Survey of some components of própolis which were collected by *Apis mellífera* in Brazil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, n.1, p.1253–1259, 1995.

PEREIRA, F.M.; FREITAS, B.M.; VIEIRA-NETO, J.M.; LOPES, M.T.R.; BARBOSA, A.L.; CAMARGO, R.C.R. Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos protéicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.1-7, 2006.

PINTO, F.A.; CAMPOS, C.N.; BARRETO, L.M.R.C. Perfil físico-químico do pólen apícola produzido em Taubaté, Vale do Paraíba, sudeste do Brasil.

Archivos Latino americanos de Producción Animal, Maracaibo/Venezuela, v.20, n.12, p.1-6, 2012.

ROCHA, J.F.M. **Avaliação do efeito do armazenamento na qualidade do pólen apícola**. 2013. 96f. Dissertação (mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) Escola Superior Agrária de Bragança – Instituto Politécnico, IPB, Portugal, 2013.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user`s guide – version 6**. 4. ed. Cary, 521 p. 2011.

SATTLER, J.A.G. **Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitaminas A (α -, β - caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Alimento e Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2013.

SERAFINI, L.F. **Atividade antioxidante dos extratos de manjerona e pólen apícola: efeito na qualidade de hambúrguer**. 2013. 139f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics e Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, California, v. 299, n.1, p.152-178, 1999.

VILLANUEVA, M.T.O.; MARQUINA, A.D.; SERRANO, R.B.; ABELLAN, G.B. The importance of bee-collected pollen in the diet: A study of its composition

International. **Journal Food Science Technology Nutrition**, Parma/Italia, v. 53, n.3, p. 217–224, 2002.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, PR, v. 20, n.3, p. 549-471, 2010.

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA ²

²Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Bragantia.

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE PÓLEN APÍCOLA

RESUMO: O pólen apícola é um alimento elaborado pelas abelhas *melíferas* a partir da aglutinação do pólen floral, saliva e néctar. Este produto apresenta uma rica composição nutricional e pode ser consumidos de forma direta ou como ingrediente na indústria de alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de pólen apícola com indicação monofloral. Foram analisadas 10 amostras de pólen desidratado, provenientes do estado da Bahia e Sergipe, doadas pelos produtores entre os anos de 2012 e 2014. As amostras foram analisadas quanto aos seguintes parâmetros: atividade de água, pH, presença de bolores e leveduras, aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* spp., *Clostrídios* sulfito redutores e *Staphylococcus* coagulase positiva. As amostras apresentaram valores médios de 0,43 e 4,7 para os parâmetros, atividade de água e pH respectivamente. A presença de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos apresentaram valores acima dos padrões considerados seguro pelo Código Alimentario Argentino em 20% das amostras e 100% seguras quanto aos organismos psicotróficos, pois os valores encontravam-se abaixo dos limites adotados como referencia neste estudo. Os indicadores de contaminação higiênico-sanitária, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e Coliforme totais e termotolerantes, foram encontrados respectivamente em 20%, 90%, 40%, 40% das amostras, enquanto os *Clostridium* sulfito redutores mostraram-se positivos em 40% do material avaliado. Apenas a amostra 971 mostrou-se segura quanto a todos os critérios microbiológicos analisados, considerada desta maneira adequada para o consumo.

Palavras-chave: Abelha, microbiologia, atividade de água, bolores e leveduras, *Salmonella* spp.

DETERMINATION OF PARAMETERS IN MICROBIOLOGY BEE POLLEN SAMPLES

ABSTRACT: The pollen is a food produced by honey bees from the assemblage of floral pollen, nectar and saliva. This product features a rich nutritional composition and can be consumed directly or as an ingredient in the food industry. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of samples of bee pollen with monofloral statement. 10 samples of dehydrated pollen from the state of Bahia and Sergipe, donated by producers, between the years 2012 and 2014 were analyzed. The samples were analyzed for the following parameters: water activity, pH, presence of yeasts and molds, aerobic mesophilic, psychrotrophic, total and fecal coliforms, *Salmonella* spp, Clostridium sulfite reducers and coagulase positive. The samples showed average of 0.43 and 4.7 for the parameters mean value, water activity and pH respectively. The presence of molds, yeasts and aerobic mesophilic had values above the standards considered safe by Alimentario Code Argentino in 20% of samples and 100% secure as the psychrotrophic organisms, because the values are below the limits adopted by reference in this study. Indicators of hygienic-sanitary contamination, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus*, total and thermotolerant coliform, found respectively in 20%, 90%, 40%, 40% of samples, while reducing sulfite Clostrídios were positive in 40% of the material evaluated. Only sample 971 was safe as all microbiological criteria examined, considered suitable for consumption this way.

Keywords: Bee, microbiology, water activity, yeasts and molds, *Salmonella* spp.

INTRODUÇÃO

A busca por opções alimentares mais saudáveis tem provocado uma expansão no consumo de produtos naturais (ANDRADE e BERTOLDI, 2012). Neste contexto, produtos da colmeia como mel, geleia real, pólen e própolis têm recebido atenção especial, devido a suas propriedades nutricionais e fisiológicas benéficas à saúde humana (KROYER e HEGEDUS, 2001).

Dentre os produtos da colmeia o pólen, vem conquistado espaço e despertando interesse tanto em produtores quanto em consumidores, pois além de sua utilidade como suplemento alimentício (FÉAS et al., 2012), é usado em outros setores, seja na farmacologia utilizado como ingrediente em produtos apífito-aromáticos (encapsulados, tinturas, óleos essenciais); na indústria de cosméticos em filtros solares, cremes, máscaras, batons, sabonetes, xampus; na área de alimentos como barras de cereais, chocolates, bolachas, saladas, pastas; na atividade apícola como alimento para as abelhas em períodos de seca; e no monitoramento de poluição ambiental (BARRETO et al., 2011).

O pólen apícola é considerado um alimento nutricionalmente completo, pois possui todos os aminoácidos essenciais (FÉAS et al., 2012), além de carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005), açúcar total e minerais como o Zinco, Cálcio, Ferro, potássio e sódio (CAMPOS et al., 2008).

Por apresentar uma composição rica em nutrientes o pólen apícola está sujeito ao crescimento de uma grande variedade de microrganismos. A exemplo de fungos produtores de micotoxinas, que podem colonizar alimentos durante a colheita, transporte e principalmente durante o armazenamento, sendo capazes de causar danos à saúde humana (RODRIGUES et al., 2008).

Embora sejam inquestionáveis os benefícios que o pólen apícola propicia a saúde humana é necessário assegurar a qualidade do produto para o consumo, a partir do monitoramento da produção, elaboração e armazenamento (ANDRELLA et al., 2009).

A qualidade microbiológica é uma dentre as várias exigências relacionadas aos critérios de segurança a serem considerados nos alimentos.

Pois a presença de microrganismos, além de provocar alterações nas características organolépticas e físico-química do produto, pode constituir risco para a saúde do consumidor, principalmente em se tratando de microrganismos patogênicos (RODRIGUES et al., 2008).

Durante o processo de produção e armazenamento, os alimentos estão sujeitos a diversas situações e condições que podem ocasionar algum tipo de contaminação microbiológica. Este problema pode está associado à forma como o alimento é manejado, possivelmente pela falta de informação ou treinamento dos manipuladores. Litz et al. (2007) chamam a atenção sobre esse problema, relatando que a manipulação dos alimentos durante o processamento deve ser vista com especial cuidado, já que descuidos nesta prática podem ser responsáveis por desencadear enfermidades de origem alimentar.

A garantia que o produto final encontra-se livre de agentes biológicos nocivos é um aspecto relevante em produtos alimentícios. A avaliação microbiológica é uma ferramenta indispensável no ramo de alimentos, pois auxilia no processo de qualificação, fornecendo informações relacionadas às condições em que o alimento foi submetido no decorrer da sua produção.

Contudo o desenvolvimento e multiplicação dos microrganismos em alimentos, não estão condicionados apenas a influência de fatores externos (BAPTISTA e VENÂNCIO, 2003). Características inerentes aos alimentos ou fatores intrínsecos também podem oportunizar, evitar ou impedir a proliferação ou multiplicação de microrganismos, e entre esses fatores podem-se destacar a atividade de água e o pH (FIORDA e SIRQUEIRA, 2009).

A atividade de água e o pH são fatores relacionados com a preservação ou vida de prateleira dos alimentos, e podem atuar tanto nas características físicas e químicas como influenciar na proliferação dos microrganismos. (TERRA, 2007).

A atividade de água é uma forma de expressar a quantidade de água que se encontra disponível para reagir e/ou promover o desenvolvimento de microrganismos e reações químicas deteriorativas (OLIVEIRA et al., 2008).

Apesar do crescente consumo do pólen apícola, não existe no Brasil parâmetros microbiológicos específicos, sendo necessária a elaboração destes

critérios, já que se trata de um produto de consumo direto. É de fundamental importância a aplicação de manejo eficientes na coleta, processamento, armazenamento e comercialização, para que os microrganismos não encontrem ambiente apropriado para o seu desenvolvimento, representando assim riscos aos consumidores.

O pólen é processado por várias técnicas, desde as mais remotas formas artesanais até o emprego de tecnologia específica, indicando o amplo espaço a ser desenvolvido nesse segmento da cadeia.

Neste contexto, a determinação da atividade de água, pH e da microbiota é de grande importância ao trazer informações sobre as condições microbiológicas do pólen apícola, que possam comprometer sua qualidade, e dos potenciais riscos de se consumir o produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de pólen apícola com indicação monofloral.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido a partir de 10 amostras de pólen apícola desidratado, obtidos diretamente com os apicultores, sendo nove provenientes do estado da Bahia e uma do Sergipe. As amostras foram coletadas entre os anos de 2012 e 2014 e declaradas por seus produtores como monoflorais, armazenadas sob-refrigeração para garantir a conservação até o momento das análises.

As amostras foram submetidas a análises microbiológicas, atividade de água e pH no Laboratório Análises, pertencente ao Núcleo de Estudo dos Insetos - INSECTA do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas – Bahia. Os dados referentes às amostras encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Dados referentes as 10 amostras de pólen apícola com indicação monofloral, origem botânica indicada pelo produtor, local de coleta e ano de coleta.

Amostras	Origem botânica indicada pelo apicultor	Local de coleta	Ano da Coleta
897	<i>Eucalyptus</i>	Teixeira de Freitas / Bahia	2012
898	<i>Eucalyptus-Canes</i>	Canavieiras / Bahia	2012
899	<i>Acacia magium</i>	Teixeira de Freitas / Bahia	2012
900	Cajá	Canavieiras / Bahia	2012
901	<i>Cocos nucifera</i>	Maraú / Bahia	2012
968	NIA	Valença / Bahia	2013
969	NIA	Valença / Bahia	2013
970	NIA	Valença / Bahia	2013
971	NIA	Ilhéus / Bahia	2013
972	<i>Cocos nucifera</i>	Neópolis / Sergipe	2014

NIA: não informado pelo apicultor

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas tomando como base os métodos recomendados pela American Public Health Association (APHA) descrito nas normas internacionais (DIWNES e ITO, 2001) para cada grupo de microrganismo, sendo realizada a contagem padrão de bolores e leveduras, mesófilos aeróbios e psicrotróficos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais a 35 °C e termotolerantes a 45 °C, como também a quantificação da presença de *Salmonella* spp, Clostrídios sulfito redutores e *Staphylococcus* coagulase positiva. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Diluições seriadas decimais

As amostras foram submetidas a diluições seriadas decimais. A diluição 10^{-1} foi efetuada a partir da pesagem de uma alíquota de 5g de amostra, diluída

em 45 mL de água peptonada, mantida em repouso enriquecendo, por 1 hora. A diluição subsequente (10^{-2}) foi realizada a partir da transferência de 1,0 mL da diluição (10^{-1}) para um tubo contendo 9 mL do diluente, sendo a diluição 10^{-3} realizada seguindo o mesmo princípio da diluição 10^{-2} e assim consecutivamente.

Bolores e leveduras

Para análise de bolores e leveduras foram utilizadas as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , onde alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas de Petri contendo o meio Agar Batata Dextrose (BDA). O inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalski, até completa absorção. As placas foram lacradas com plástico filme e incubadas de modo invertido em BOD (demanda biológica de oxigênio) a 25°C , por um período de cinco dias. A contagem do número de colônias foi efetuada ao término do período de incubação e os resultados foram expressos em unidade formadora de colônias (UFC. g^{-1}).

Aeróbios mesófilos e psicrótrópicos

Para determinação de aeróbios mesófilos e psicrótrópicos, alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas por profundidade em placas de petri, em seguida o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA) foi vertido e homogeneizado cuidadosamente. Após a solidificação do meio as placas foram fechadas e incubadas a 35°C por 48 h para aeróbios mesófilos e por 10 dias a 7°C para aeróbios psicrótrópicos. Ao término do tempo de incubação foi realizada a contagem das colônias, sendo os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC. g^{-1}), segundo a metodologia descrita por Silva et al. (2010).

Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais e termotolerantes foram avaliados segundo o método do Número Mais Provável (NMP). A partir das diluições seriadas, procedeu-se o teste presuntivo, onde uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição foi inoculada em uma série de três tubos contendo 9,0mL de Caldo Lauril

Sulfato Triptose (LCT), contendo tubos de Durhan invertidos. Em seguida os tubos foram incubados em demanda biológica de oxigênio (BOD) a 35°C por 48h.

O teste confirmativo foi realizado a partir dos tubos positivos com produção de gás em LCT, realizando a transferência de duas alçadas para tubos contendo Caldo EC submetidos a incubação por 24 horas a temperatura de 45°C em banho-maria. A confirmação de *Escherichia coli* foi realizada a partir dos tubos de Caldo EC positivos (com produção de gás), utilizando o Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), e posteriormente seguiu-se com as provas bioquímicas de Agar citrato, Caldo VP (prova do Vorges Proskauer), caldo VM (vermelho de metila).

***Salmonella* spp.**

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi efetuada a partir de uma alíquota de 25 g de cada amostra de pólen, diluída em 45 mL de Água Peptonada e incubada a 35° C por 24h em BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Após o período de incubação, foi realizada uma agitação cuidadosa no frasco contendo o caldo pré-enriquecido e transferiu-se 1 ml para os tubos contendo 10 ml do caldo Tetratonato e 0,1 ml para os tubos contendo 10 ml do caldo Rappaport.

Os caldos Tetratonato foram incubados por 24 horas a 37° C em BOD, enquanto os tubos contendo Rappaport foram incubados em banho-maria a 43° por 24h. Após este período, alíquotas de Tetratonato e Rappaport foram retiradas e estriadas em placas de Petri contendo SSA (*Salmonella Shigella* Agar), Ágar Mac Conkey e Ágar Verde Brilhante, sendo incubadas a 35 C ° por 24 h. O Ágar Tríplice Açúcar Ferro inclinado (TSI), Ágar Lisina Ferro inclinado (LIA), meio SIM (sulfeto indol motilidade), Caldo VP (prova do Vorges Proskauer) e caldo VM (vermelho de metila), foram utilizados para as provas bioquímicas e os resultados expressos em presença ou ausência em 25 g.

Clostrídios sulfito redutores

Com relação à contagem Clostrídios sulfito redutores tomou-se uma alíquota de 25g de pólen foi diluída em 45 mL de Água Peptonada e em seguida homogeneizada. A inoculação foi realizada a partir da transferência de

0,1 mL desta solução para as placas de Petri contendo m-CP (Agar *Clostridium*) e incubadas por 24h a uma temperatura de 46°C em anaerobiose. A ausência ou presença foi observada a partir da metodologia proposta Silva et al. (2010). Por falta de placas de Petri contendo m-CP (Agar *Clostridium*), a amostra 702 não foi analisada.

***Staphylococcus* coagulase positiva**

Para análise de *Staphylococcus* coagulase positiva a inoculação foi realizada por superfície nas placas de Agar Baird Parker a partir da transferência de 0,1 ml de cada diluição. Com o auxílio da alça de Drigalski o inóculo foi espalhado até ser absorvido por completo. As placas foram incubadas de modo invertido em BOD (demanda biológica de oxigênio) a 35°C por 48h. As colônias foram contados seguindo a metodologia descrita por Silva et al. (2010) e os resultados foram expressos em presença ou ausência.

Por não existir tais critérios, utilizou-se para comparação os padrões estabelecidos pelo Código Alimentario Argentino (1998), que apresenta critérios microbiológicos específicos para este produto, como também, os parâmetros microbiológicos fixados para os grupos de alimentos similares (grupo 10; subitem n) estabelecidos no Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para alimentos da ANVISA (Brasil, 2001).

Análises físico-químicas

Atividades de água (aw)

A determinação da atividade de água (aw) foi efetuada com o auxílio do aparelho Pawkit (Decagon), que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho. A análise foi realizada a partir da adição de três gramas de amostra em uma cápsula circular que em seguida é acoplada ao equipamento, sendo a leitura efetuada automaticamente. As análises foram realizadas em triplicata.

pH

Para a determinação do pH, foi diluída 2 gramas da amostra em 50 ml de água destilada, em seguida a leitura foi realizada em pHmetro calibrado

com tampão de pH 7,00 e pH 4,0 de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005). As análises foram realizadas em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de pólen apícola desidratado encontram-se expressos na Tabela 2.

Observou-se que 100% das amostras apresentam bolores e leveduras, com valores mínimos de $1,5 \times 10^1$ e máximo de $4,3 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, e aeróbios mesófilos com valores variando entre $2,1 \times 10^2$ a $7,8 \times 10^3$ UFC.g⁻¹. Comparando os resultados obtidos com os valores máximos admitidos para bolores e leveduras (10^2 UFC.g⁻¹) e aeróbios mesófilos ($1,5 \times 10^3$ UFC.g⁻¹), estabelecidos pelo Código Alimentario Argentino (1998), observa-se que 80% das amostras estavam dentro dos limites considerados seguros, para os dois parâmetros analisados. Desta maneira, pode-se inferir que as boas práticas de manejo foram aplicadas na colheita, processamento e acondicionamento do produto.

Em contrapartida 20 % das amostras apresentaram bolores e leveduras (897e 898) e aeróbios mesófilos (899 e 900), exibindo valores acima dos limites considerados seguros pelo Código Alimentario Argentino (1998). Estes parâmetros não estão incluídos no grupo de alimentos similares do Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para alimentos da ANVISA (Brasil, 2001).

Alguns fatores podem justificar a presença de bolores e leveduras em alimentos desidratados. Uma das justificativas para este fato seria um aumento de umidade, que provavelmente tenha acontecido durante o processamento ou acondicionamento, resultando em um ambiente apropriado, para o desenvolvimento destes microrganismos (CATÃO 1999).

Tabela 2. Resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos de amostras de pólen apícola desidratados, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe.

Amostras / Parâmetros microbiológicos	897	898	899	900	901	968	969	970	971	972
Bolores e leveduras (UFC. g ⁻¹)	1,1x 10 ³	4,3x10 ³	3,9x10 ²	1,5x10 ¹	1,5x10 ¹	2,9x10 ²	4,5x10 ²	4,2x10 ²	1,9x10 ²	1,0x10 ¹
Aeróbios Mesófilos (UFC. g ⁻¹)	1,2x10 ³	1,1x10 ³	7,8x10 ³	6,8x10 ³	1,2x10 ³	1,0x10 ³	2,9x10 ²	2,5x10 ²	2,1x10 ²	2,7x10 ²
Aeróbios Psicotróficos (UFC. g ⁻¹)	8,5x10 ²	4,2x10 ²	1,0x10 ²	<10	<10	9,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	1,5x10 ²
Coliformes Totais (NMP. g ⁻¹)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 1100	< 1100	210	< 3	75
Coliformes Termotolerante (NMP. g ⁻¹)	< 3	7,4	< 3	< 3	< 3	1100	< 1100	35	< 3	< 3
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Clostrídios sufitos redutores	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença	Presença	Presença	Presença	Ausência	NR
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Ausência	Presença

UFC/g⁻¹ - Unidade Formadora de Colônia por grama; NMP/g⁻¹ - Número mais provável por grama; Term.- termotolerantes; NR - não foi realizada

Outras explicações para a presença elevada, tanto de fungos quanto de aeróbios mesófilos seria a higienização inadequada aplicada durante o manejo, ou ainda uma matéria prima com valores consideráveis de contaminação, não sendo o processo de desidratação eficiente o bastante para eliminar todos os microrganismos existentes (JAY, 2005).

Os dados encontrados são semelhantes aos obtidos por Hervantin (2009) que avaliando o perfil microbiológico de amostras de pólen apícola *in natura* e desidratado, observou a presença de bolores e leveduras em 100% das amostras, concluindo que a contagem destes microrganismos é um dos principais parâmetros microbiológicos de avaliação para este alimento. Rocha (2014) que analisando amostras de pólen Português, observou a presença de bolores e leveduras e aeróbios mesófilos em todas as amostras analisadas.

Nogueira et al. (2012) avaliando 08 amostra de pólen apícola comercial em Portugal, verificaram a presença de bolores e leveduras em apenas 50% das amostras, não ultrapassando o valor de 10^2 UFC.g⁻¹, enquanto a presença de aeróbios mesófilos foi verificada somente em 12,5% das amostras, valor inferior ao verificado no presente trabalho (Tabela 2) .

Para Moreno e Velosa (2009) o controle das condições de armazenamento, temperatura e umidade devem ser realizados cuidadosamente para evitar a proliferação de fungos, já que estes microrganismos são considerados um dos principais responsáveis em provocar alterações nas características organoléptica dos alimentos. Santana e Correa (2006) relatam que a presença considerável de bolores, leveduras e mesófilos aeróbios funciona como um sinalizador das práticas às quais o alimento foi submetido e pode resultar na redução de sua vida útil.

Os organismos Psicrotróficos foram verificados em 50% das amostras com valor mínimo de < 10 e máximo de $8,5 \times 10^2$ (Tabela 2).

Apesar da presença destes microrganismos as amostras não apresentam contaminação, pois os valores encontrados estão dentro dos limites considerados seguros ($1,5 \times 10^3$ UFC.g⁻¹) pelo Código Alimentario Argentino (1998). Os psicrotróficos são microrganismos indicadores de higiene, relacionados com a deterioração dos alimentos. Estes microrganismos possuem potencial para se

desenvolver em temperaturas mais baixas de 0° a 7°C (SILVA et al., 2010), constituindo-se um problema em alimentos refrigerados.

Os valores obtidos para contagem de coliformes totais apontam que das 10 amostras avaliadas 40% apresentaram-se positivas, com valor mínimo de < 3 e máximo de >1100 NMP.g⁻¹. Enquanto que a presença de coliformes termotolerantes foi verificada em 40% das amostras, com valores entre < 3 e 1100 (NMP.g⁻¹).

As amostras 968 e 969 não estão dentro dos padrões fixados pela ANVISA, uma vez que, os valores encontram-se superiores a 5×10^2 NMP.g⁻¹. Comparando os valores obtidos com os considerados seguros pela legislação Argentina (1998), observou-se um maior número de amostras (988; 968; 969; 970; 702) fora dos limites legais, já que a referida legislação é exigente quanto a presença de indicadores sanitários, considerando como seguro os alimentos isentos de tais microrganismos. Portanto, as que se mostraram positivas são consideradas impróprias para o consumo.

Coronel et al. (2004) avaliando 37 amostras de pólen comercial Argentino, observaram a presença de coliformes totais em 23 amostras, enquanto que, os coliformes termotolerantes foram verificados em apenas 4 das amostras avaliadas, entretanto, Féas et al. (2012) avaliando a qualidade microbiológica de amostras pólen apícola Português, não verificaram a presença de coliformes totais nem de coliformes termotolerante em nenhuma das amostras em estudo.

Os microrganismos indicadores como os do grupo dos coliformes são geralmente utilizados para verificar se práticas de higienização foram aplicadas de forma eficiente (TEIXEIRA, 2013; SILVA et al., 2008). Tais microrganismos não são necessariamente bactérias patogênicas, porém, a sua presença é considerada como um indicativo de falhas nas condições higiênico-sanitárias dos utensílios utilizados durante a manipulação dos alimentos (ALVES et al., 2011).

A presença de coliformes termotolerantes em produtos utilizados para o consumo é totalmente indesejável, pois normalmente está relacionada à contaminação direta ou indireta de origem fecal, indicando a possível presença de microrganismos de origem entérica. (THOMAS e KARL, 2009). Em função disso o consumo de alimentos com a presença destes microrganismos deve ser evitado.

A análise de *Staphylococcus* coagulase positiva demonstrou que 90% das amostras não atendem as exigências impostas pelo Código Alimentario Argentino, em contrapartida a amostra 701 está dentro dos padrões exigidos, pois encontra-se isenta de tais bactérias. A elevada incidência entre as amostras demonstra uma possível contaminação das mãos dos manipuladores, apontando assim para uma higienização ineficaz.

Féas et al. (2012), não observaram a presença de *Staphylococcus aureus* em nenhuma dos tratamentos avaliados. Em estudos realizados por Hani et al. (2012) em amostras de pólen provenientes de diferentes locais da Argélia, foi detectado a presença de *Staphylococcus aureus* em uma de suas amostras.

SILVA et al. (2004) reportam que a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, em produtos alimentícios é totalmente indesejável, uma vez que estas bactérias são capazes sintetizar enterotoxinas que apresentam potencial para provocar intoxicação. A presença desses microrganismos em um número elevado de amostras pode ser atribuída ao estado de higiene dos manipuladores, já que os *Staphylococcus* coagulase positiva são encontradas no corpo do homem, principalmente nas vias respiratórias e em vários pontos da pele (RADDI et al., 1988).

Os indicadores de contaminação higiênico-sanitária, *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e Coliforme a 45°C, apontam para uma higienização insipiente das mãos dos manipuladores, já que estes são os principais microrganismos associados com contaminação de alimentos por meio de manipulação inadequada (NETO, 2014).

Os resultados indicam baixa incidência de contaminação entre as amostras, por *Salmonella* spp. e Clostrídios sufite redutores. De acordo com os dados expressos verificou-se que, a presença de *Salmonella* spp. foi constatada em apenas 2 amostras, enquanto que a presença de Clostrídios sufite redutores foi verificada em 4 amostras (Tabela 2).

De acordo com a Legislação Argentina (1998), as amostras com presença de *Salmonella* e Clostrídios sufite redutores encontram-se fora dos padrões estabelecidos, pois sua presença é um indicativo de contaminação. Já os padrões legais Brasileiros determinam a ausência de *Salmonella* em 25 gramas para qualquer tipo de alimento, portanto, as amostras com presença deste patógeno

encontram-se impróprias para o consumo, no entanto, não existem valores ou padrões estabelecidos para a presença de Clostrídios sufito redutores.

Estevinhos et al. (2012) avaliando amostras de pólen Português, não detectaram a presença de *Salmonella* spp. e de Clostrídios sufito redutores em nenhuma de suas amostras. Puig-Peña et al. (2012) avaliando 26 amostras de pólen apícola desidratado em Cuba, detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 4 amostras, todavia a presença de Clostrídios sufito redutores foi totalmente descartada.

Campos et al. (2008), tomando como base diversas pesquisas publicados com este produto, estabeleceram alguns critérios microbiológicos para o pólen apícola. Segundo os autores os seguintes aspectos devem ser seguidos: ausência de *Salmonella*/10g, ausência de *Escherichia coli*/g, ausências de *Staphylococcus*/g; contagem total em placa aeróbia que não pode exceder 10^5 /g e presença de fungos e leveduras inferior a 5×10^4 UFC.g⁻¹. Comparando as indicações propostas por Campos et al. (2008) com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se observar que o pólen apícola representado pela amostras 791, atendem a todos os critérios, considerado ideal para o consumo, uma vez que, todos os parâmetros microbiológicos avaliados, encontram-se dentro dos padrões apontados como seguros.

A amostra 972 também atendeu a todos os critérios, exceto por se mostrar positiva quanto ao parâmetro *Staphylococcus* coagulase positiva. Em contra partida as amostras 968, 969 e 970, foram consideradas impróprias para o consumo, enquanto as demais apresentaram um ou outro critério fora dos limites adotados (Tabela 2).

As médias de atividade de água e pH, estão expressos na tabela 3. As amostras avaliadas obtiveram índices médios de 0,43 e 4,7 para os parâmetros, atividade de água e pH respectivamente. Os resultados obtidos apontam um baixo conteúdo de água livre, com valor mínimo de 0.30 e máximo de 0.47, condição desejável, uma vez que inibi o crescimento microbiano.

Baixos conteúdos de água livre, associado com um acondicionamento adequado reduz a multiplicação dos microrganismos. Em contrapartida os valores de pH variaram entre 4,58 a 5,07 e portanto enquadram-se na faixa de pH pouco ácido pH > 4,5 (AZEREDO et al., 2012). Nesta condição, é possível ocorrer o

desenvolvimento de microrganismos, principalmente fungos e leveduras, visto que os valores encontram-se dentro da faixa ótima, para o desenvolvimento destes organismos (ALEXOPOULOS et al., 1996).

Tabela 3. Médias de atividade de água e pH de amostras de pólen apícola desidratado.

Amostras	Atividade de água (aw)	p H
897	0,45	5,00
898	0,46	4,90
899	0,44	4,49
900	0,47	5,07
901	0,38	4,97
968	0,43	4,67
969	0,43	4,69
970	0,42	4,80
971	0,45	4,58
972	0,30	4.89

Apesar do baixo teor de água livre, observou-se a presença de diversos microrganismos, por isso é possível admitir a possibilidade de ter ocorrido um acondicionamento inadequado, permitindo um aumento de umidade no produto.

Krist et al. (1999) reportam que, os alimentos são considerados de baixa atividade de água quando o teor de água livre for menor que 0,60. Esta condição é responsável por produzir um ambiente impróprio para o desenvolvimento dos microrganismos inibindo o seu crescimento, contudo, não é condição suficiente para impedir sua sobrevivência.

Os microrganismos apresentam peculiaridades quando se trata de suportar diferentes níveis de atividade de água. De uma forma geral as bactérias tem seu crescimento inibido em teores de atividade de água menores que 0,90, sendo o *Staphylococcus aureus*, a bactéria mais resistente, podendo em condições aeróbias crescer a 0,86 de atividade de água (MUNDO et al., 2004). No entanto

alguns fungos podem se desenvolver em teores de água livre de até 0,60, demonstrando sua importância em alimentos desidratados (AZEREDO et al., 2012).

Santos et al. (2010), trabalhando com amostras de pólen comercial no Estado de São Paulo, obtiveram resultados semelhantes ao do presente trabalho. Os autores reportam que a presença de tais microrganismos em alimentos com baixa quantidade de água livre, possivelmente estaria ligada a temperatura empregadas na desidratação que fica em torno de 40°C a 45°C, condição que pode ter possibilitado o crescimento microbiano. A contaminação provavelmente foi ocasionada no campo e intensificada pelo manejo durante o processamento. Os autores reportam ainda que o aumento de umidade associado a rica composição nutricional do pólen, podem criar um ambiente apropriado para a multiplicação e desenvolvimento de microrganismos.

A temperatura em torno de 40°C, empregada no processo de secagem na produção de pólen apícola, pode permitir o desenvolvimento microbiano (SALOMÉ e SALOMÉ, 1998), podendo não ser eficiente na destruição de esporos bacterianos, de fungos e algumas bactérias Gram positivas e negativas presentes nos alimentos (JAY, 2005), já que muitos microrganismos são capazes de suportar temperaturas superiores a esta.

Conforme Catão (1999) a presença de fungos em produtos desidratados, em quantidade consideráveis, indicam um possível aumento do teor de umidade, ocasionado durante o processamento ou armazenamento, propiciando assim uma condição favorável a proliferação de microrganismos.

É importante enfatizar que o processo de desidratação é um procedimento que reduz sobremaneira o número de microrganismos, entretanto, se os devidos cuidados higiênicos não foram adotados, após esse procedimento, microrganismos patogênicos podem crescer causando contaminação nos alimentos.

CONCLUSÃO

As amostras analisadas de pólen apícola desidratado proveniente da Bahia

e Sergipe apresentaram bolores e leveduras e aeróbios mesófilos, como os microrganismos mais expressivos entre as amostras analisadas. Foi detectada a presença de microrganismos de importância em saúde pública *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes, demonstrando a necessidade de aplicação de práticas de manejo mais eficientes, para reduzir e/ou impedir o desenvolvimento de tais microrganismos capazes de comprometer a qualidade final do produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L.M.S.; BERTOLDI, M.C.; Atitudes e motivações em relação ao consumo de alimentos orgânicos em Belo Horizonte – MG. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 15, número especial, p. 31-40, 2012.

ANDRELLA, R.R.S.; CARDOZO, G.M.B.Q.; MAESTER, F.M.; SILVA, R.A.; PAULA, D.C.; BART, O.M. Qualidade microscópica e composição polínica de amostras de pólen apícola da região sudeste do Brasil. Disponível em: <<http://iac.impulsa.com.br/areadoinstituto/pibic/anais/2009/Artigos/RE0901017.pdf>> Acesso em 02 jul. 2014.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, São Diego, v. 18, n. 1, p. 105 -111, 2005.

ALVES, T.T.L.; MENESES A.R.V.; SILVA J. N.; PARENTE G.D.L.; NETO J.P. H. Caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. **Revista Verde**, Mossoró, RN, v.6, n.3, p.91-97, 2011.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology** New York: John Wiley & Sons, Inc. p. 865, 1996.

AZEREDO H.M.C.; PINTO G.A.S.P.; MONTEIRO E.S.B.; AZEREDO R.M.C. **Fundamentos de estabilidade de Alimentos.** In: ___.(Org). Alterações microbiológicas em alimentos durante a estocagem. 2 ed. Brasília, DF : Embrapa, 2012, p. 15-38.

BAPTISTA P.; VENÂNCIO A. Os Perigos para a Segurança Alimentar no processamento de alimentos. In: **Forvisão** – Consultoria em Formação Integrada Ltda, 1 ed. Guimarães; 2003.

BARRETO L.M.; ORSI, R.C.; OLIVEIRA, R.; NEGRÃO, A.F. Pólen apícola: tendências na produção e diversificação do produto. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, número especial, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: www.anvisa.gov.br, acesso em 20 de março de 2014.

CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIFERIO, C.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardization of analytical methods. **Journal Apicultural Research and Bee World**, Cardiff, v.47, n. 2, p. 156–163, 2008.

CATÃO, M.N. de S. **Isolamento e ocorrência de fungos contaminantes e aflatoxigênicos na farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** 1999. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1999.

Código Alimentario Argentino. De la Canal y Asociados. Buenos Aires: De la Canal y Asociados, 1998.

CORONEL, B.B.; GRASSO, D.; PEREIRA, S.C.; FERNÁNDEZ, G.A. Caracterización bromatológica del pólen apícola Argentino. **Ciencia, Docencia y Tecnología**. Republica Argentina, v. 15, n. 29, p.145–181, 2004.

DIWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods** Washington. 4 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001, p. 677.

ESTEVINHO, L.M., RODRIGUES, S., PEREIRA, A.P., FEÁS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**. Chester / Unido, v. 47, n.2, p. 429-435, 2012.

FEÁS, X.; VÁSQUEZ-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**, Basileia/Suíça, v.17, n.7, p.8359-8377, 2012.

FIORDA, F.A.; SIQUEIRA, M.I.D. Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos, **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. 5/6, p. 817-826, 2009.

HANI, B.; DALILA B.; SALIHA D.; DAOUND H.; MOULOUND G.; SEDDIK, K.; Microbiological Sanitary aspects of pollen. **Advances in Environmental Biology**, v. 6, n.4, 1415-1420, 2012.

HERVATIN, H.L. **Microbiológica e Físico-Química do Pólen Apícola in Natura e Desidratado sob Diferentes Temperaturas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. Instituto Adolfo Lutz , São Paulo, p.1020, 2005.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LITZ, V.M.; RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.; PILOTTO, F. Anti-sepsia de mãos na indústria de carnes: avaliação da clorhexidina. Triclosan e iodóforo na redução da contaminação microbiana em manipuladores. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, RS, v.35, n.3, p. 321-326, 2007.

KRIST, k.A.; NICHOLS, D.S.; ROSS, T. Ecology of bacteria and fungi in foods: Influence of available water. In: ROBINSON, R.; BATT, C.A.; PATEL, P. (ed.). encyclopedia of Food microbiology. London, GB: Academic Press, 1999. p. 540-547.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 2, n. 3, p. 171-174, 2001.

MORENO P y VELOSA S. Evaluación de la Inocuidad del Polen Producido por *Apis Mellifera* en la Provincia Centro de Boyacá. Facultad de Química de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, 2009.

MUNDO, M.A.; PADILLA-ZAKOUR, O.I.; WOROBO, R.W. Growth inhibition of food borne pathogens and food spoilage organisms by selected raw honeys. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, NL, v. 97, n. 1, p. 1-8, 2004.

NETO, A.C; ROSA, O.O. Determinação de microrganismos indicadores de condições higiênicas sanitárias nas mãos de manipuladores de alimentos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 8, n.1, p. 1251-1261, 2014.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHO, L. M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach.

International Journal of Molecular Sciences, Bas/Suíça, v.13, n.9, p. 11173-11187, 2012.

OLIVEIRA, M.E.C.; FERREIRA, A.F.; PODEROSO, J.C.M.; LESSA, A.C.V.; CARNELOSSI, M. A. G.; ARAUJO, E. D.; RIBEIRO, G. T. Atividade de água (aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do estado de Sergipe. **Revista da FAPES de Pesquisa e Extensão**, Aracaju, SE, v. 4, n. 2, p. 27-36, 2008.

PUIG-PENÃ, Y.; DEL-RISCO-RÍOS, C.A.; ÁLVAREZ-RIVERA, V.P.; LEIVA-CASTILLO, V.; GARCÍA-NENINGER, R. Comparación de la calidad microbiológica del polen apícola fresco y después de um processo de secado. **CENIC Ciência Biológicas**. Cuba, v.43, n.1, p. 23-27, 2012.

RADDI, M.S.G.; LEITE, C.Q.F.; MENDONÇA, C.P. *Staphylococcus aureus*: Portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 36-40, 1988.

ROCHA J.F.M. **Avaliação do efeito do armazenamento na qualidade do pólen apícola**. 2013. 96 f. Dissertação (mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) Escola Superior Agrária de Bragança – Instituto Politécnico, IPB, Portugal, 2013.

RODRIGUES, M.A.A.; KELLER, K.M.; KELLER, L.A.M.; OLIVEIRA, A.A.; ALMEIDA, T.X.; MARASSI, A.C.; KRÜGER, C.D.; BARBOSA, T.S.; LORENZON, M.C.A.; ROSA, C.A.R. Avaliação micológica e micotoxicológica do pólen da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) proveniente de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 249-253, 2008.

SALOMÉ, J.A.; SALOMÉ, L.G. **Manual prático de produção de pólen apícola**. Santa Catarina: EPAGRI, 1998, p. 54.

SANTANA, A.S.; CORREA, S.S. Efeito da Adição de Dicloran ao diluente, para enumeração de fungos em alimentos desidratados utilizando-se o sistema

Petrifilm TM para bolores e leveduras. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, SP, v. 24, n 140, p. 122-126, 2006.

SANTOS, L.O.; SILVEIRA, N.F.A.; LEITE, R.S.F.; BORGHINI, R. G. **Avaliação microbiológica do pólen apícola comercializado no Estado de São Paulo**.

2010. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutopibic/anais/2010/Artigos/RE10215.pdf>. Acesso em: 05 de março 2014.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: Patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 122, p. 32-40, 2004.

SILVA, M.B.L.; CHAVES, J.B.P.; MESSAGE, D.; GOMES, J.C.; GONÇALVES, M.M.; OLIVEIRA, G.L. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 417- 420, 2008.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A; TANIWAKI, M.H, SANTOS, R.F.S; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010, 624p.

TEIXEIRA, L.E.B.; SANTOS, J.E.F.S.; MOREIRA, I.S.; SOUSA, F.C.; NUNES, J.S. Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças comercializadas na cidade de Juazeiro do Norte-CE. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró – RN, v. 8, n. 3, p. 23-26, 2013.

TERRA, N.N.; FREITAS, R.J.S.; CICHOSK, A.J. Atividade de água, pH, umidade e desenvolvimento de *Staphylococcus xylosus* durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciências Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 27, n.4, p.756-760, 2007.

THOMAS, J.M.; KARL, R.M. **Microorganismos indicadores y criterios microbiológicos**. Microbiología de los Alimentos. España: Editorial Acribia, 2009, p.85-103.

CONSIDERAÇÕES FINAIS.

As amostras de pólen apícola monoflorais e heteroflorais apresentaram comportamento semelhante quanto à composição nutricional e a presença de fenóis e flavonoides totais. Considerando os parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira para comercialização do pólen apícola, 100% das amostras estavam com o teor de umidade acima do recomendado, sendo necessária uma revisão, tanto nas técnicas utilizadas no processo de secagem quanto na determinação de umidade, estavam de acordo com os critérios de qualidade estipulados pelo Regulamento Técnico.

Considerando o teor significativo de açúcar, proteína total, e a presença de fenóis e flavonoides totais, o pólen apícola avaliado apresenta potencial nutricional e terapêutico, podendo ser consumido de forma direta ou como ingrediente na indústria de alimentos.

Em virtude dos resultados obtidos, os tipos polínicos *Eucalyptus*, *Miconia* e especialmente o *Cocos nucifera*, pela sua alta distribuição entre as amostras, devem ser submetidos a mais avaliações para verificar o comportamento destes tipos em diferentes épocas do ano, proporcionando um maior número de informações, auxiliando os apicultores na exploração e tipificação destes táxons botânicos, favorecendo sua comercialização.

Apenas 10% das amostras atenderam a todos os critérios estabelecidos pelos padrões legais adotados como referencia neste estudo, demonstrando a necessidade de melhorias nas práticas de manejo durante a coleta, beneficiamento, armazenamento e envase evitando-se assim a contaminação e deterioração do produto, visando garantir a segurança alimentar e evitar surtos e toxinfecções alimentares. Sendo de extrema importância que critérios microbiológicos específicos para o pólen apícola sejam criados e introduzidos na

legislação vigente, já que a comercialização deste produto vem crescendo e o seu consumo é feito de forma direta.

A caracterização química, botânica e microbiológica do pólen apícola desidratado monofloral e heterofloral, provenientes dos estados da Bahia e Sergipe, resultou em informações importantes, que subsidiaram no controle de qualidade e na valorização do produto, disponibilizando informações que favoreceram a cadeia apícola destas regiões, além de consumidores e base científica.