UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α-, β-caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

José Augusto Gasparotto Sattler

Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian

São Paulo - SP
2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α-, β-caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

José Augusto Gasparotto Sattler

Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian

São Paulo - SP
2013

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Sattler, José Augusto Gasparotto
S253q Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-,β-,γ-,δ- tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α-,β- caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil / José Augusto Gasparotto Sattler. -- São Paulo, 2013.
115p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Almeida-Muradian, Ligia Bicudo de

1. Pólen apícola : Ciência dos alimentos 2. Vitamina : Ciência dos alimentos I. T. II. Almeida-Muradian, Ligia Bicudo de, orientador.

641.38 CDD

José Augusto Gasparotto Sattler

Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α-, β-caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

Comissão Julgadora da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Assoc. Ligia Bicudo de Almeida Muradian

orientador/presidente

_____

1º. examinador

_____

2º. examinador

_____

3º. examinador

São Paulo, _____ de _____ 2013.

Dedico este trabalho aos meus pais:

Aroni Sattler,
dedicado pai;

Ivete Maria Sattler,
amorosa mãe;

Júlio César Gasparotto Satter,
querido irmão;

Por todo o apoio e motivação na busca dos
meus objetivos, mesmo que a distância.

AGRADECIMENTOS

A orientadora Dra. Ligia Bicudo de Almeida Muradian, pela acolhida inicial e confiança em mim depositada, pelo incentivo, paciência e orientação durante toda a pesquisa.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida e à FAPESP (Fundação de Aparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo auxílio à pesquisa (Proc. 2011/51826-0), tornando viável o desenvolvimento do trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos pela oportunidade de realização do mestrado.

À todos apicultores participantes da pesquisa pela atenção e empenho na obtenção e envio das amostras de pólen apícola da região sul.

Ao Prof. Ms. Aroni Sattler da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) por todo auxílio na orientação dos apicultores e obtenção das amostras.

Ao apicultor José Cunha, presidente da Confederação Brasileira de Apicultores (CBA) pelas oportunidades a mim concedidas.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação: Elaine Ychico e Jorge de Lima, bem como aos funcionários da Secretaria do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental: Edílson, Mônica, Cléo e Roberta; pelo auxílio, atenção e eficiência.

À Dra. Ortrud Monika Barth Schatzmayr e Alex Freitas pela indispensável colaboração nas análises polínicas.

Ao profissional Lucas André Lobo Gomes pela orientação nas análises estatísticas.

Aos professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental (FCF/USP) pelos ensinamentos transmitidos.

À minha banca de qualificação: Dr. Alexandre Bera, Profa. Dra. Suzana Lanes e Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy pela correção atenciosa e importantes sugestões para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Análise de Alimentos, cuja amizade e convívio foram fundamentais para a continuidade deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório de Análise de Alimentos Elias e Rosa, por toda ajuda e profissionalismo.

Aos alunos de Iniciação Científica que contribuiram para a execução deste trabalho: Davi Figueiredo, Ellen Soares, Cláudia Oliveira, Luciana Barbosa, Mariana Braga e Tarik Andrade.

À Luciana Tedesco Yoshime por toda ajuda, treinamento, conselhos e principalmente pela amizade, muito obrigado!

A Illana Louise Pereira de Melo, minha amada namorada, que tanto me ajudou neste trabalho e que faz os meus dias mais alegres, te amo e muito obrigado!

Aos meus amigos de Porto Alegre-RS, Rodrigo Moíses e Leandro Pilatti por todo apoio na etapa de mudança para São Paulo, e também a todos os amigos que torceram neste tempo para o meu sucesso.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

Página

RESUMO GERAL..... I
ABSTRACT..... II
LISTA DE FIGURAS..... III
LISTA DE TABELAS..... IV

INTRODUÇÃO GERAL..... 1
CONSIDERAÇÕES GERAIS..... 6
REFERÊNCIAS..... 7

CAPÍTULO I
CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O PÓLEN APÍCOLA 13

1 INTRODUÇÃO..... 14

2 PÓLEN DAS FLORES..... 15
2.1 Palinologia..... 16
2.2 As abelhas (*Apis mellifera*) como agentes polinizadores..... 17
2.3 Importância do pólen das flores para as abelhas..... 19

3 PÓLEN APÍCOLA..... 20
3.1 Processo de produção..... 20
3.2 Composição química..... 23

4 REFERÊNCIAS..... 25

CAPÍTULO II
VITAMINAS ANTIOXIDANTES 33

1 INTRODUÇÃO..... 34

2 VITAMINA C..... 35

3 VITAMINA E..... 38

4 CAROTENOIDES E VITAMINA A..... 42

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 48

6 REFERÊNCIAS..... 49

CAPÍTULO III
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E COMPARAÇÃO COM OS PARÂMETROS DE QUALIDADE DO PÓLEN APÍCOLA PRODUZIDO EM APIÁRIOS GEORREFENCIADOS DA REGIÃO SUL DO BRASIL 55

1 INTRODUÇÃO..... 56

2 OBJETIVO..... 57

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 57

3.1 Material..... 57

3.1.1 Amostragem..... 57
3.1.2 Georreferenciamento dos apiários..... 59

3.2 Métodos..... 62

3.2.1 Processamento (desidratação) das amostras..... 62
3.2.2 Determinação de umidade..... 63
3.2.3 Determinação da composição..... 63
3.2.4 Determinação de açúcares (glicose e frutose)..... 64
3.2.5 Análise estatística..... 64
3.2.6 Tratamento de resíduos químicos..... 65

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 65

5 CONCLUSÕES..... 72

6 REFERÊNCIAS..... 73

CAPÍTULO IV
QUANTIFICAÇÃO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES E (α-, β-, γ-, δ -TOCOFEROL), C (ÁCIDO ASCÓRBICO), PRÓ-VITAMINA A (α- e β-CAROTENO) DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO PRODUZIDO EM APIÁRIOS GEORREFERENCIADOS DA REGIÃO SUL DO BRASIL 79

1 INTRODUÇÃO..... 80

2 OBJETIVO..... 81

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 81

3.1 Material..... 81

3.2 Métodos..... 81

3.2.1 Determinação da vitamina C (ácido ascórbico)..... 81

3.2.2 Determinação da vitamina E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol)..... 82
3.2.3 Determinação dos carotenóides totais..... 83
3.2.4 Analise dos carotenóides (α- e β-caroteno)..... 84
3.2.5 Obtenção do padrão analítico de α-caroteno..... 84
3.2.6 Análise estatística..... **85**

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... **86**

5 CONCLUSÕES..... **93**

6 REFERÊNCIAS..... **94**

CAPÍTULO V
ESTUDO DA ORIGEM BOTÂNICA E SUA RELAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO PRODUZIDO EM APIÁRIOS GEORREFERENCIADOS DA REGIÃO SUL DO BRASIL 99

1 INTRODUÇÃO..... 100

2 OBJETIVO..... 101

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 101

3.1 Material..... 101

3.2 Métodos..... 101

3.2.1 Análise polínica (microscópica) 101
3.2.2 Composição química e análise de vitaminas..... 102
3.2.3 Análise estatística. 102

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 103

4.1 Análise polínica das amostras..... 103

4.2 Origem botânica presumida pelos apicultores..... 108

4.3 Correlação entre os tipos polínicos e os parâmetros químicos analisados..... 110

5 CONCLUSÕES..... 113

6 REFERÊNCIAS..... 113

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... **115**

RESUMO GERAL

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

O objetivo geral deste trabalho foi quantificar as vitaminas antioxidantes (tocoferóis, ácido ascórbico, α- e β-caroteno) bem como a composição química de amostras de pólen apícola obtidas em apiários georreferenciados da região sul do Brasil e desidratadas de forma controlada conforme recomendação da legislação brasileira. Inicialmente foi realizada a composição química de 21 amostras de pólen apícola desidratados sendo os valores médios de 3,37% para umidade, 19,80% para proteínas, 3,44% para lipídios, 2,02% para cinzas. Pode-se verificar que a maioria das amostras encontraram-se dentro dos parâmetros de qualidade preconizados pela legislação brasileira. Além disso, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi confirmando a presença de açúcares redutores glicose (6,77%) e frutose (5,39%) nas amostras. A determinação da vitamina C foi realizada por titulometria e os valores encontrados variaram entre 60 e 797 µg/g, sendo duas amostras consideradas fonte desta vitamina para homens e três para mulheres conforme a Ingestão Dietética de Referência (IDR). Já os tocoferóis e o α- e β-caroteno foram analisados por CLAE. Com relação aos tocoferóis (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), os valores foram apresentados como equivalentes de alfa-tocoferol e variaram entre 0,57 e 11,7 mg/100g, podendo duas amostras serem consideradas fontes de vitamina E. Da mesma forma, duas amostras foram consideradas fontes de vitamina A, levando-se em consideração os valores encontrados para α- e β-caroteno, que variaram entre 3,9 e 4945 µg de equivalentes de retinol por 100g de amostra. A caracterização das amostras com relação a origem botânica mostrou uma grande variedade entre os tipos polínicos encontrados nas diferentes amostras. Chama-se atenção para o gênero *Eucalyptus* que esteve presente em 16 amostras, sendo em duas delas como pólen dominante (>45% do total de grãos), bem como duas amostras que puderam ser considerados monoflorais (>90% do total de grãos). Os resultados estatísticos (correlação) mostraram que alguns tipos polínicos se correlacionam de maneira positiva e forte com a composição nutricional do pólen apícola, como os gêneros *Brassica*com os teores de lipídios e proteínas, *Euterpe* com o α-tocoferol, α- e β-caroteno, *Piptocarpha* com os tocoferóis (β-, γ- e δ-), *Senecio* com α- e β-caroteno. O presente trabalho contribui de forma importante para a caracterização química e botânica do pólen apícola produzido em apiários georreferenciados da região sul do Brasil, valorizando assim o produto e trazendo informações e benefícios para apicultores e consumidores além de fornecer dados relevantes para o estudo e padronizações metodológicas nacional e internacionais para este produto.

Palavras-chave: pólen apícola desidratado, vitaminas antioxidantes, composição química, georreferenciamento.

ABSTRACT

SATTLER, J. A. G. **Quantification of antioxidant vitamins E (α-, β-, γ-, δ-tocopherol), C (ascorbic acid), provitamin A (α-, β-carotene) and chemical composition of dehydrated bee pollen produced in georeferenced apiaries of southern Brazil.** Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2013.

The aim of this study was to quantify the antioxidant vitamins (tocopherols, ascorbic acid, α- and β-carotene) as well as the chemical composition of samples of bee pollen obtained from georeferenced apiaries of southern Brazil and dehydrated in a controlled manner as recommended by brazilian regulation. Initially the chemical composition of 21 samples of dehydrated bee pollen was performed and the average values is 3.37 % for moisture, 19.80 % for proteins, 3.44 % for lipids, 2.02 % for ash. It can be seen that most of the samples were within the quality parameters recommended by brazilian regulation. Furthermore, using high performance liquid chromatography (HPLC) was confirmed the presence of reducing sugars glucose (6.77%) and fructose (5.39%) in the samples. The determination of vitamin C was performed by titration and the values varied from 60 to 797 µg/g, and two samples can be considered source of this vitamin for men and three for women according to the Dietary Reference Intake (DRI). The tocopherols and α- and β-carotene were analyzed by HPLC. With respect to tocopherols (α-, β-, γ-, δ-tocopherol), the values were expressed as equivalents of alpha-tocopherol and ranged between 0.57 and 11.7 mg/100g, so two samples can be considered sources of vitamin E. Similarly, two samples were considered sources of vitamin A, taking into consideration the values for α and β-carotene, ranging from 3.9 to 4945 µg of retinol equivalents per 100g of sample. The characterization of the samples with respect to botanical origin showed a variety of pollen types found in different samples. Attention is drawn to the genus *Eucalyptus*which was present in 16 samples, and in two of them as the predominant pollen (> 45 % of total grains counted) and two samples that could be considered monofloral (> 90 % of total grains counted). The statistical results (correlation) showed that some pollen types correlate positively and strongly with the nutritional composition of pollen as *Brassica* genera with the levels of lipids and proteins, *Euterpe* with α-tocopherol, α- and β-carotene, *Piptocarpha* with tocopherols (β- , γ- and δ-), *Senecio* with α- and β-carotene. This study contributes significantly to the chemical and botanical characterization and the georeferenced bee pollen produced in apiaries of southern Brazil, thus enhancing the product and bringing information and benefits to beekeepers and consumers and provide relevant data for the study and methodological standardization national and international for this product.

Keywords: dehydrated bee pollen, antioxidant vitamins, chemical composition, georeferencing.

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Aparelho reprodutor da flor	16
Figura 2	Bolotas de pólen apícola	17
Figura 3	Abelha com carga de pólen nas duas corbículas.	20
Figura 4	Estrutura química do ácido L-ascórbico	36
Figura 5	Estrutura química dos tocoferóis (grupo A) (α, β-, γ- e δ-tocoferol) e tocotrienóis (grupo B) (α, β-, γ- e δ-tocotrienol).	40
Figura 6	Estruturas químicas do α- e β-caroteno (pró-vitamina A)	44
Figura 7	Estrutura química do retinol (vitamina A)	44
Figura 8	Colmeia com um coletor de pólen apícola tipo Intermediário instalado.	58
Figura 9	Gaveta com pólen apícola *in natura* estocado.	58
Figura 10	Mapa geográfico da região Sul do Brasil e localização dos apiários (GPS).	61
Figura 11	Amostras de pólen apícola *in natura*.	62
Figura 12	Estufa utilizada para secagem das amostras *in natura* de pólen apícola.	63
Figura 13	Tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen apícola desidratado.	106

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Composição química apresentada por pesquisadores em diferentes amostras de pólen apícola desidratado brasileiro.	25
Tabela 2	Informações sobre as amostras de pólen apícola *in natura*, apiário de coleta, mês de coleta, estado/município, posição geografia do apiário (GPS) e tipo de embalagem.	60
Tabela 3	Análise da composição química e de açúcares (glicose e frutose) das amostras de pólen apícola desidratado e as especificações da regulamentação brasileira (BRASIL, 2001), argentina (CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO, 1990) e suíça (BOGDANOV, 2004).	66
Tabela 4	Percentuais médios (%) de composição química e de açúcares (glicose e frutose) das amostras de pólen apícola desidratado por estado.	71
Tabela 5	Teores de vitamina C e % da IDR alcançado em uma porção padrão de 25g/dia nos lotes de pólen apícola desidratado.	86
Tabela 6	Concentração de tocoferóis (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), equivalentes de α-tocoferole porcentagem (%) da IDR alcançada em uma porção padrão de 25 g/dia nos lotes de pólen apícola desidratado.	88
Tabela 7	Concentrações de carotenoides totais, α- e β-caroteno, valor pró-vitamínico A (equivalente de retinol) e porcentagem (%) da IDR alcançada em uma porção padrão de 25 g/dia nas amostras de pólen apícola desidratado.	90
Tabela 8	Valores médios (µg/g) dos vitâmeros presentes nas amostras de pólen apícola desidratado de acordo com o estado de procedência.	92
Tabela 9	Porcentagens de tipos polínicos obtidos em amostras (1 a 14) de pólen apícola desidratado.	104
Tabela 10	Porcentagens de tipos polínicos obtidos em amostras (15 a 21) de pólen apícola desidratado.	105
Tabela 11	Frequências de ocorrência dos tipos polínicos no total das amostras de pólen apícola desidratado e por estado.	107
Tabela 12	Origem botânica presumida pelos apicultores e confirmada em laboratório das amostras de pólen apícola desidratado.	109

INTRODUÇÃO GERAL

O pólen é a célula reprodutiva masculina das flores. As abelhas, outros insetos, vento e a água polinizam as plantas através da transferência do pólen das anteras das flores masculinas para o estigma das flores femininas da mesma planta ou de outras plantas da mesma espécie. As abelhas acumulam os grãos de pólen nas corbículas mantendo-os agregados pela adição de néctar e, em seguida, são transferidos para a colmeia (SNODGRASSS, 1975). As abelhas coletam o pólen, a fim de usá-lo como alimento para todos os estágios de desenvolvimento da colmeia (BASIM et. al., 2006).

Conforme BARRETO, FUNARI e ORSI (2004) no Brasil, a produção de pólen apícola iniciou-se de forma modesta no final da década de 80. Atualmente, o mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, vem estimulando e promovendo essa modalidade da cadeia produtiva apícola. Se, por um lado, a procura e o consumo pelo produto vêm aumentando, por outro não se constata que a produção científica brasileira sobre o tema tenha se ampliado com a mesma velocidade.

A preocupação dos consumidores em países desenvolvidos com a qualidade dos alimentos e, consequentemente, com a redução dos riscos à saúde, é crescente. Nesse sentido o pólen apícola tem conquistado destaque na alimentação humana como um alimento diferenciado, devido às suas propriedades nutritivas e medicinais e, também por causa de seu alto teor de proteínas (VILLANUEVA *et al.,* 2002; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006).

Conforme Campos *et. al.* (2010) o pólen apícola além de seu elevado valor nutricional devido a sua composição de macronutrientes, pode trazer benefícios para a saúde humana pela sua capacidade antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana, sendo evidenciado por estudos com células, animais e seres humanos. Os principais compostos biologicamente ativos do pólen apícola são os flavonoides e os fitoesteróis.

O pólen apícola contém proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais na sua composição. Também contém vitaminas antioxidantes (vitamina C, E (α-tocoferol) e β-caroteno, como pró-vitamina A), assim como as do complexo B e vitamina D

(MUNIATEGUI, 1990; CAMPOS, 1997; OLIVEIRA, 2009; MELO, 2009, ARRUDA, 2013).

Por se tratar de uma modalidade recente na cadeia apícola brasileira, a partir da década de 1990, cientistas brasileiros passaram a se dedicar a pesquisas sobre a produção de pólen apícola, objetivando adaptar a técnica de produção à realidade de uma apicultura de clima tropical com abelhas africanizadas, ou seja, escolha do melhor equipamento, ajuste de medidas das telas retentoras, manejo, conhecimento da flora polinífera, conhecimento do comportamento de coleta de pólen na flora brasileira, caracterização físico-química, processamento, preparo e comercialização do pólen apícola (SAMPAIO, 1991; ALVES, 1993; SCHAUSE, 1994; FUNARI *et al.*, 1994; MORETI, 1995; SALOMÉ e SALOMÉ, 1998; BARRETO *et al.*, 2000; ALMEIDA-MURADIAN e PRESOTO, 2000; REIS e MARCHINI, 2000; MELO, 2009; OLIVEIRA, 2009; ARRUDA, 2013).

Existem grupos a nível internacional que buscam a padronização de métodos analíticos e de parâmetros de qualidade para os produtos da colmeia, entre eles o *International Honey Commission* (IHC) que possui um grupo específico de trabalho voltado para o estudo do pólen apícola, cuja orientadora deste trabalho é membro desde 2005, onde diversos trabalhos estão sendo desenvolvidos buscando a caracterização e identificação de novas espécies botânicas fontes de substâncias funcionais e nutricionais além de publicações voltadas para a orientação de aplicação de metodologias para o estudo dos produtos apícolas.

Os maiores produtores de pólen apícola no mundo são China, Estados Unidos, México, Argentina, Austrália e Espanha (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; EATON e LAW, 2000). No Brasil, os maiores Estados produtores são Bahia, Santa Catarina e Paraná (BARRETO, 2004).

O mercado brasileiro ainda é deficiente na oferta de pólen apícola, dada a falta de divulgação de informações sobre o sistema de produção e de reconhecimento de demandas que justifiquem tal iniciativa. Dessa forma, há dificuldades de exportação em larga escala de pólen no momento, devido à pequena produção registrada (NETO e NETO, 2006).

Cada grão de pólen compreende uma única célula, que se apresenta envolvida por duas camadas protetoras, a exina e a intina, uma mais externa e a outra mais interna, respectivamente. A intina é composta basicamente por celulose e

a exina de esporolenina, cuja origem acredita-se ser pela polimerização oxidativa de carotenóides (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; CORNEJO, 1994). Os grãos de pólen podem ser de diversas cores, variando entre o branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, dependendo da sua origem botânica e da composição química dos pigmentos encontrados na exina. Alguns compostos são hidrossolúveis, representados pelos flavonóides e outros lipossolúveis como carotenoides e xantofilas (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; ALMEIDA-MURADIAN *et al.,* 2005; OLIVEIRA, 2009).

A composição do pólen apícola varia entre espécies de plantas; também sofre a influência da idade, da condição nutricional da planta e das condições ambientais durante o desenvolvimento do pólen (HERBERT JR. e SHIMANUKI, 1978; OLIVEIRA, 2006; MELO, 2009). É sabido que o pólen pode ter de 8 a 40% de proteína bruta. O teor de umidade varia de 4 a 35%, podendo conter ainda de 1 - 18% de carboidratos e 0,7 - 7% de minerais. Análises químicas do pólen mostraram que ele contém lipídeos (de 1 a 15%), aminoácidos livres, além de vitaminas, enzimas, coenzimas e pigmentos (OLIVEIRA, 2006; MELO, 2009).

Cada pólen tem suas características específicas ligadas às espécies florais e cultivares visitadas pelas abelhas. O pólen pode ser monofloral, quando há uma única origem botânica mantendo as propriedades organolépticas e bioquímicas da planta original. Quando a oferta de plantas poliníferas na área em volta do apiário não é suficiente, as abelhas visitam outras flores ou misturam pellets (bolotas) de pólen de várias flores. Esse pólen passa a ser chamado de heterofloral ou polifloral e possui propriedades bioquímicas variadas (BARRETO *et al*., 2006).

Devido ao alto nível de umidade encontrado na composição do pólen apícola o processo de desidratação é essencial, já que a umidade presente causa uma rápida fermentação e deterioração. O conteúdo de vitaminas do pólen e de outros alimentos pode sofrer alterações com o processamento e estocagem (ARRUDA, 2009; MELO, 2010; ARRUDA, 2013).

O processo de secagem do pólen *in natura* é realizado nos apiários e/ou entrepostos para posterior embalagem e venda, o processo de desidratação é comumente realizado em estufa de circulação de ar em sistema aberto, cuja temperatura deve variar entre 40º e 42º C. Almeida-Muradian *et al*., 2005, analisando amostras de pólen desidratado da região Sul do Brasil, observaram a

ausência de β-caroteno (pró-vitamina A) e vitamina C. Suspeita-se que pela sensibilidade destas vitaminas, estas foram degradadas pela alta temperatura utilizada no processo de secagem das amostras de pólen apícola.

Através da pesquisa realizada por Melo e Almeida-Muradian (2010), determinou-se um padrão adequado para estocagem de pólen. Concluiu-se que a estocagem em freezer foi o método mais eficiente para conservação de vitaminas antioxidantes presentes no pólen apícola, e que o estoque à temperatura ambiente não interfere quando da presença ou não de luz. Em outro estudo de Melo e Almeida-Muradian (2011), foi determinado o melhor método para secagem e análise de umidade do pólen apícola, onde se concluiu que a utilização de radiação infravermelha e o processo de liofilização são os métodos indicados para a determinação de umidade em pólen apícola.

O valor nutricional do pólen apícola deve ser de particular interesse para aqueles que têm uma dieta desbalanceada ou deficiente e para a comunidade científica, diante dos potenciais benefícios deste produto para a sociedade (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; KRELL, 1996; CAMPOS *et. al.*, 2010). A recomendação diária para consumo de pólen é de 5 a 25g (CAMPOS, CUNHA e MARKHAM, 1997; BASTOS *et al.,* 2003) e seu valor calórico é cerca de 235 a 274kcal/100g em amostras brasileiras (BARRETO *et al.,* 2006).

Os benefícios associados ao consumo de pólen apícola constatados por estudos científicos se relacionam com a prevenção de problemas da próstata (BUCK, REES e EBELING, 1989; KRELL, 1996; SHOSKES, 2002; SHOSKES e MANICKAM, 2003), na dessensibilização frente às alergias, ganho de peso em animais com alimentação suplementada com pólen apícola, efeito bacteriostático e bactericida e proteção contra efeitos adversos dos raios X nos tratamentos com uso de radiação (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; KRELL, 1996; EATON e LAW, 2000; CAMPOS et. al., 2010). Além disso, existem estudos comprovando a atividade benéfica do pólen apícola com relação à aterosclerose (WOJCICKI *et al.*, 1986) e neoplasias (ZHANG *et al.,* 1995).

Geralmente em nossa dieta consumimos antioxidantes reconhecidos como nutrientes essenciais e antioxidantes não nutritivos. Dentre os antioxidantes nutritivos temos a vitamina E, a vitamina C ou ácido ascórbico, vitamina A e seu precursor β-caroteno (RINCÓN, 2003).

De acordo com Nagai *et al*. (2002) e Campos *et al*. (2003), o pólen apícola apresenta atividade antioxidante ou anti-radicais livres, devido também aos compostos fenólicos, onde os derivados do ácido cinâmico são os mais efetivos. Esta atividade atribui ao pólen apícola propriedades preventivas e regenerativas para o organismo e maior qualidade de vida aos usuários frequentes desse produto (CAMPOS, CUNHA E MARKHAM, 1996).

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo, sendo que o excesso destes apresenta efeitos prejudiciais ao organismo, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS e DAVID, 2006).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta. De acordo com Halliwell (2000), “Antioxidante” é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo.

Em 2005 Almeida-Muradian et al. analisaram amostras (n=10) da região sul do Brasil sendo o primeiro levantamento sobre vitaminas desta região, no estudo não foi encontrado vitaminas antioxidantes pois as amostras sofreram elevado grau de processamento. Assim não ficou estabelecida a presença das vitaminas antioxidantes no pólen apícola desta região, sendo necessário um aprofundamento científico para a avaliação do potencial nutricional (composição centesimal e de vitaminas antioxidantes) levando em conta as características da região Sul do Brasil, da origem botânica e dos processos de produção, obtendo-se novas informações que sejam úteis tanto para a comunidade científica quanto aos consumidores e produtores.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este trabalho foi organizado em capítulos para melhor compreensão e avaliação dos resultados obtidos, assim como facilitar a futura publicação de artigos científicos que serão enviados para revistas indexadas da área. Os capítulos foram organizados da seguinte maneira:

Capítulo 1: Considerações gerais sobre o pólen apícola;
Capítulo 2: Vitaminas antioxidantes;
Capítulo 3: Composição química e comparação com os parâmetros de qualidade do pólen apícola produzido em apiários georrefenciados da região Sul do Brasil;
Capítulo 4: Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α-, β-caroteno) do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil
Capítulo 5: Estudo da origem botânica e sua relação com a composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

Os resultados do presente trabalho que envolve a quantificação de vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico), Pró-vitamina A (α-, β-caroteno) e composição centesimal do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil são inéditos e serão úteis para produtores e consumidores assim como para fornecer dados para a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP). A análise de parâmetros de qualidade do pólen apícola proveniente da região Sul do Brasil reflete a adequação do processo de desidratação estabelecido pela legislação brasileira referente a produtos apícolas. Através da identificação da origem botânica das amostras pode-se conhecer de forma concisa a flora com potencial de produção apícola das localidades estudadas gerando conhecimento para apicultores. O georreferenciamento da produção de produtos apícolas em especial do pólen apícola é de suma importância para o controle de qualidade e identificação da origem do produto agregando valor ao mesmo e seguindo uma tendência mundial.

REFERÊNCIAS

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

ALVES, M.L.T.M.F. Coletores de pólen. In: **Produção de pólen**. Pindamonhangaba: Instituto de Zootecnia do Centro de Apicultura Tropical, 1997. p.24-30.

ARRUDA, V.A.S., PEREIRA, A.A.S., FREITAS, A.S., BARTH, O.M., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

ARRUDA, V.A.S. **Estabilidade de vitaminas do complexo B em pólen apícola**. São Paulo, 2009. 105p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.

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

BARRETO, L.M.R.C., RABELO, P.C., BELEZIA, C.O. Perfil protéico do pólen coletado por Apis mellifera (híbrida africanizada) no período outono-inverno no Apiário Escola do Centro de Estudos Apícolas da Universidade de Taubaté. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, Florianópolis, 2000. **Anais**. Florianópolis: Sonopress.

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O. DIB, A.P.S. **Produção de pólen no Brasil**. 1 ed. Cabral Editora Universitária, 2006.

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O. **Pólen apícola: Perfil de produção no Brasil**. Universidade de Taubaté: São Paulo, 2004. Disponível em:

http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/polen/14_polen_apicola_brasil.pdf, Acesso em: 10/07/2012.

BASIM, E.; BASIM, H.; OZCAN; M. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. **Journal of Food Engineering**, v.77, p. 992–996, 2006.

BASTOS, D.H.M.; ROCHA, C.I.; CUNHA, I.B.S.; CARVALHO, P.O.; TORRES, E.A.S. Composição e qualidade de pólen apícola comercializado em algumas cidades nos estados de São Paulo e Minas Gerais – Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, p.239-244, 2003.

BUCK, A.C.; REES, R.W.M.; EBELING, L. Treatment of chronic prostatitis and prostatodyia with pollen extract. **British Journal of Urology**, v.64, p.496-499, 1989.

CAMPOS, M.G.; CUNHA, A.; MARKHAM, K.R. Bee pollen: composition, properties and application. In: MIZRAHI, A.; LENSKY, Y. Bee products: properties, applications and apitherapy. New York: Plenum Press, 1997. p.93-100. (Proceedings of an International Conference on Bee Products: properties, applications, and apitherapy, held may 26-30, 1996, in Tel Aviv, Israel).

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

CORNEJO, L.G. Pólen: tecnologia de su produccion, procesado, y comercializacion. Buenos Aires: IPTEA, 114p. 1994. Development in honey bees: part I. **Bee World,** v.86, n. 1, p.1-10.

EATON, C.V.; LAW, R. Marketing apitherapy products and the challenge of government regulation. **Bee World,** v.81, n.3, p.109-115, 2000.

FUNARI, S.R.C.; CARMO, M.C.T.; SOUZA, J.L.B; DIERCKX, S.M.A.G.; BOLDONI, A.; BIAGIO, O. Avaliação da coleta de pólen por colônias de abelhas africanizadas Apis mellifera. In: CONGRESSO IBEROLATINO AMERICANO DE APICULTURA, 4, Cordoba: Argentina, 1994. **Anais**. p.163-165.

HALLIWELL, B.; CLEMENT, M. V.; LONG, L. H. Hydrogen peroxide in the human body, **FEBSLetters,** v.486, n.1, p.10-13, 2000.

HERBERT JR, E.W.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. **Apidology**, v.9, n.1, p.33-40, 1978.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. FAO **Agricultural Services Bulletin**, v.124, p.87-113, 1996.

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**, v.36, n.3, p.949-953, 2006.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n. 1, p.194-197 2011.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. **Química Nova**, v.33, n.3, p.514-518, 2010.

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

MORETI, A.C.C.C. Coleta e utilização do pólen pelas abelhas. In: CURSO DE PRODUÇÃO DE PÓLEN. Pindamonhangaba: IZ/CAT, 1995, p.32.

MUNIATEGUI, 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**, v.29, n.3, p.147-150,1990.

NAGAI, T.; INOUE, R.; INOUE, H.; SUZUKI, N. Scavenging capacities of pollen extracts from Cistus ladaniferus on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals and DPPH radicals. **Nutrition Research**, v.22, p.519-526, 2002.

NETO, F.L.P.; NETO, R.M.A. Apicultura Nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades,12. Banco do Nordeste do Brasil, Fortaleza, 2006.

OLIVEIRA, K.C.L.; MORIYA, M., AZEDO, R.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B, Relationship between botanical origin and antioxidants vitamins of bee-collected. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1099-1102, 2009.

PRESOTO, A.E.F.; RIOS, M.D.G.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. HPLC determination of alpha-tocoferol, beta-carotene and proximate analysis of Brazilian parsley leaves. **Bolletino dei Chimici Igienisti**, v.51, n.7, p.111-114, 2000.

REIS, V.D.A.; MARCHINI, L.C. Análises físico-químicas de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas (Apis Mellifera L.) em Piracicaba, São Paulo. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Florianópolis, 2000. **Anais**, Cd. Rom.

RINCÓN, A.M. Efecto de los procesos tecnológicos sobre la calidad nutritiva de frutas y vegetales. In: GUERRA MODERNELL, M. **Efecto del procesamiento sobre la calidad nutricional de los alimentos**. Caracas, Venezuela: CYTED, 2003. cap.5, p.105-128.

SALOMÉ, J.A.; SALOMÉ, L.G. **Manual prático de produção de pólen apícola**. Florianópolis: Secretaria de Estado do Desenvolvimento Rural e da Apicultura (EPAGRI). 1998. 54p.

SAMPAIO, E.A.B. **Caracterização do pólen apícola processado comercial e armazenado na colmeia- pão de abelhas, de algumas localidades do Paraná**. Curitiba, 1991. 118p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Paraná.

SCHAUSE, L.P. Coleta, preparo e comercialização do pólen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 10, Goiás, 1994. **Anais**. Pousada do Rio Quente, p.91-5.

SCHMIDT, J.O.; BUCHMANN, S.L. Other products of hive. In: GRAHAM, J.M.; AMGROSE, J.T.; LANGSTROTH, L.L. **The hive and the honey bee: a new book on beekeeping which continues the tradition of "Langstroth on the hive and the honeybee".** Hamilton: Dadant, 1992. p.928-977.

SHOSKES, D.A. Phytotherapy in chronic prostatitis. **Urology**, v.60, p.35-37, 2002.

SHOSKES, D.A.; MANICKAM, K. Herbal and complementary medicine in chronic prostatitis. **World Journal of Urology**, v.21, p.109-113, 2003.

SNODGRASS, R. E.; The anatomy of the honey bee. In: **The hive and the honey bee**, Hamilton: Dadant e Sons, 1975. p.75–124.

VILLANUEVA, M.T.O.; MARQUINA, A.D.; SERRANO, R.B.; ABELLÁN, G.B. The importance of bee-collected pollen in the diet: a study of its composition. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.53, n.3, p.217-224, 2002.

WOJCICKI, J.; SAMOCHOWIEC, L.; BARTLOMOWICZ, B.; HINEK, A.; JAWORSKA, M.; GAWRONSKA-SZKARZ, B. Effect of atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**, v.62, p.39-45, 1986.

ZHANG, X.; HABIB, F.K.; ROSS, M.; BURGER, U.; LEWENSTEIN, A.; ROSE, K.; JATON, J. Isolation and characterization of a cyclic hydroxamic acid from a pollen extract, which inhibits cancerous cell growth in vitro. **Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, v.38, p.735-738, 1995.

Capítulo 1:

Considerações gerais sobre o pólen apícola

1. INTRODUÇÃO

Os produtos da colmeia (pólen, própolis, geléia real e mel) são utilizados pela humanidade desde a antiguidade CRANE (1999), dentre eles o de maior consumo é o mel, porém nos últimos anos o pólen coletado pelas abelhas (pólen apícola) de diferentes flores, tem sido objeto de diversos estudos que buscam a verificação de suas características nutritivas e nutraceuticas e que objetivam evidenciar a importância deste que atualmente é reconhecido como alimento além das sua função essencial de perpetuação da espécie, como um alimento natural e que possa ser introduzido e estimulado o seu consumo na alimentação humana.

A produção brasileira de pólen apícola iniciou-se de forma moderada a partir da década de 80, BARRETO, FUNARI e ORSI (2004), e com a procura da população por produtos naturais ocorreu um aumento significativo no consumo de pólen apícola modificando a postura de apicultores que antes detinham seus esforços apenas na produção de mel. Apesar de a produção apícola de polén ter aumentado nas ultimas décadas os estudos sobre o a composição físico-química, efeito do consumo na saúde e doença, biodisponibilidade, bioacessibilidade e segurança alimentar ainda são escassos.

O pólen proporciona ao apicultor rentabilidade muitas vezes maior do que com o mel. No entanto, para que isto aconteça é necessário à dedicação do apicultor tanto na manutenção dos enxames como no processamento da produção (FONSECA e KERR, 2006). O mercado brasileiro ainda é deficiente na oferta de pólen, dada a falta de divulgação de informações sobre o sistema de produção e de reconhecimento de demandas que justifiquem tal iniciativa.

Em um país com grandes dimensões como o Brasil, uma diversificada flora polínica faz-se presente e, certamente, inúmeras espécies botânicas ainda não foram observadas pelo produtor apícola ou descritas na literatura científica. Entretanto, esta ampla variedade vegetal torna o Brasil capaz de produzir o pólen apícola ao longo do ano, podendo ser uma fonte de renda extra para a apicultura nacional, trazendo um produto de qualidade e segurança (BARRETO, FUNARI e ORSI, 2006).

2. PÓLEN DAS FLORES

Os grãos de pólen são estruturas microscópicas localizadas nas anteras dos estames das angiospermas, e que consistem nas células reprodutivas masculinas das plantas, com o propósito de transmitir seus gametas ao aparelho sexual feminino das flores (WITHERELL, 1975; SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; KRELL, 1996).

Cada grão de pólen compreende uma única célula, que se apresenta envolvida por duas camadas protetoras, a exina e a intina, uma mais externa e a outra mais interna, respectivamente. A intina é composta basicamente por celulose e a exina de esporolenina, cuja origem acredita-se ser pela polimerização oxidativa de carotenóides (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; CORNEJO, 1994).

Os grãos de pólen possuem diâmetro entre 6 e 200µm, com formas e cores diversas; normalmente são esféricos e possuem poros na superfície, conforme as espécies de plantas da qual foram originados (ALMEIDA-MURADIAN *et al*., 2005). Eles podem ser de diversas cores, variando entre o branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, dependendo da sua origem botânica e da composição química dos pigmentos encontrados na exina. Alguns compostos são hidrossolúveis, representados pelos flavonóides e outros lipossolúveis como carotenoides e xantofilas (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; ALMEIDA-MURADIAN *et al*., 2005).

A Figura 1 mostra o aparelho reprodutor da flor e sua localização.

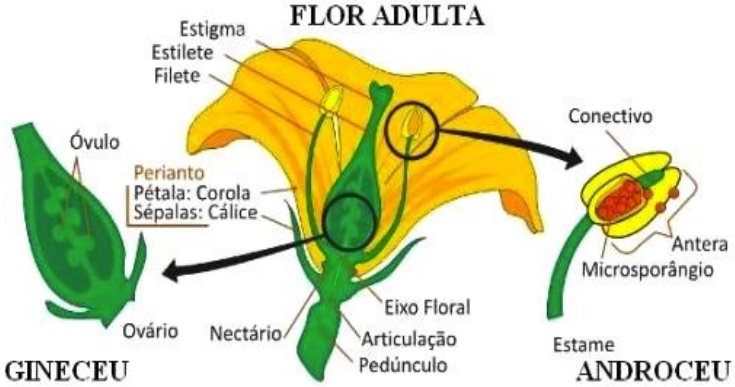

Figura 1. Aparelho reprodutor da flor.

[Fonte: http://www.mundoeducacao.com/biologia/angiospermas.htm, acessado em 10/10/2013]

Plantas com flores (angiospermas) desempenham papéis críticos em muitos ecossistemas naturais e agrícolas, fornecendo alimentos, fibras e abrigo para a fauna e a humanidade da mesma forma (COMMITTEE ON THE STATUS OF POLLINATORS IN NORTH AMERICA NRC, 2007).

2.1 Palinologia

Palinologia é o estudo de pólens e esporos e outros materiais biológicos que podem ser isolados por técnicas palinológicas (HYDE e WILLIAMS, 1944).

A análise polínica permite identificar as principais fontes poliníferas utilizadas pelas abelhas, bem como, os períodos de produção de pólen no campo e possíveis épocas de carência (MORETI *et al*. 2002).

Pioneiro em estudos sobre Melissopalinologia LOUVEAUX *et al*. (1978) consolidou através de relatórios a ocorrência de grãos de pólen em méis, própolis e cargas de abelhas na Europa (França, Alemanha e Suíça). As primeiras investigações no Brasil foram feitas por Santos (1961a; 1961b; 1963; 1964) em grãos de pólen de plantas apícolas e mel coletadas na região de Piracicaba, SP, seguido de estudos de Barth (1969, 1970a; 1970b; 1970c ; 1971a; 1971b; 1973; 1996) em diferentes regiões do país (BARTH, 2004).

A análise palinológica dos produtos apícolas (mel, geléia real, própolis e pólen) deve considerar, além dos grãos de pólen, outros elementos estruturados

como esporos e hifas fúngicas, algas, cabelos de plantas, insetos, argila, sílica, amido e cera, para que os dados sejam completos e se conheça a qualidade do produto, desde sua origem até o seu processamento (BARTH, 2004).

A composição das cargas polínicas de abelhas operárias é como a "impressão digital" de seus hábitos de forrageamento e, analisando a qualidade do conteúdo polínico encontrado nas corbículas e/ou escopas dessas abelhas podemos inferir suas eficiências como polinizadoras de certas espécies de plantas (SCHLINDWEIN, 1995). A identificação de vários tipos de pólen nas pernas e nos ninhos das abelhas é de fundamental importância, pois indica as plantas que estas utilizaram para a coleta de pólen e néctar (ou óleo, no caso das Centridini) e nos permite avaliar a importância de cada uma das plantas visitadas, como fornecedoras de recursos para seus polinizadores (ECKERT, 1942).

Na figura 2 pode-se visualizar as diferentes cores das bolotas de pólen apícola.

Figura 2. Bolotas de pólen apícola.
[Foto: José Augusto G. Sattler]

2.2 As abelhas (*Apis mellifera*) como agentes polinizadores

A polinização é um passo essencial no processo reprodutivo de cerca de 300.000 espécies do mundo de plantas com flores, porque geralmente é necessário para a produção de sementes (AXELROD, 1960; COMMITTEE ON THE STATUS OF POLLINATORS IN NORTH AMERICA NRC, 2007; OLLERTON *et al*., 2011). A

polinização é a transferência de pólen, com o gameta masculino, a partir da antera de uma flor para o estigma outra flor. Após o desembarque em um estigma receptivo, um grão de pólen germina e um tubo polínico se desenvolve, cresce através do estilo de apoio para o ovário. O material genético do grão de pólen viaja através do tubo de pólen para o ovário onde ele se une com um ovo, o gameta feminino, num processo chamado de fertilização. O ovo fertilizado desenvolve-se em uma semente, e este processo é muitas vezes acompanhado pelo desenvolvimento de fruta a partir de tecido circundante (RAGHAVAN, 2000).

O processo de polinização pode resultar da ação de forças abióticas, como o vento e a água, mas 80% das angiospermas dependem dos animais, incluindo morcegos, moscas, borboletas, besouros e outros insetos (COMMITTEE ON THE STATUS OF POLLINATORS IN NORTH AMERICA NRC, 2007). A maioria dos polinizadores são insetos, e a maioria deles são abelhas (*Anthophila*) (GRIMALDI D., ENGEL M., 2005), dos quais existem cerca de 17.000 espécies descritas e cerca de 30.000 espécies em todo o mundo (COMMITTEE ON THE STATUS OF POLLINATORS IN NORTH AMERICA NRC, 2007; MICHENER, 2000).

Segundo Freitas (1998) as abelhas (*Apis mellifera*) são os principais polinizadores de abacate, abóbora, algodão, café, caju, canola, cebola, citrus, colza, feijão, girassol, kiwi, melancia, melão, pepino e soja.

Apesar de ser uma espécie exótica, atualmente no Brasil há mais de dois milhões de colônias de *A. mellifera* utilizadas para produção de mel, cera, própolis, pólen, geléia real, apitoxina e serviços de polinização, principalmente em cultivos de maçã (*Malus domestica*) e melão (*Cucumis melo*) (DE JONG *et al.*, 2006).

Experimentos realizados por Spangler e Moffett (1977) no Arizona, Estados Unidos, mostraram que plantas de tomate confinadas com uma colônia de *Apis mellifera* produziram frutos 22% mais pesados do que plantas cujas flores não receberam a visita das abelhas. A eficiência de polinização por *A. mellifera*, com relação ao peso dos frutos, também foi observada na Bélgica, onde experimentos compararam a produtividade de melão (*C. melo L.*), cultivado em casa de vegetação, com e sem abelhas melíferas (LEMASSON, 1987). Os resultados mostraram que a presença das abelhas aumentou o peso médio dos frutos.

2.3 Importância do pólen das flores para as abelhas

As abelhas não consomem o pólen fresco "*in natura*". Durante a coleta e armazenamento a composição do pólen se altera pela adição de néctar mas também por secreções glandulares (WINSTON, 1987; ROULSTON, 2005). A adição de néctar fresco vai afetar todos os valores obtidos por análise química, como demonstrado no estudo de Louw e Nicolson (1983).

O pólen tem grande importância para a colônia pois dele dependem as abelhas para o seu suprimento de proteínas, lipídios, sais minerais e produtos biológicos especiais utilizados na sua alimentação. Por essa razão, a produção de mel, cera e geleia real de um apiário está diretamente relacionada com a quantidade de pólen necessária para a alimentação das colmeias. As abelhas, na ausência de pólen, recorrem à sua própria fonte de reserva, metabolizando tecidos de seus corpos para prolongar sua existência. Ao receberem material nutritivo, no caso pólen, rapidamente assimilam os principais nutrientes que haviam perdido, reintegrando-se à normalidade (HAYDAK, 1934).

As abelhas necessitam de 10 aminoácidos essenciais: arginina, histidina, lisina, triptofano, fenilalanina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina, os quais são todos obtidos do pólen. Uma dieta deficiente em qualquer um destes aminoácidos pode gerar sintomas específicos de deficiência, uma vez que as abelhas não poderão sintetiza-los (HAYDAK, 1970).

Dessa maneira, é fundamental o comportamento das abelhas sociais na natureza, de coletarem polens de diferentes fontes florais, uma vez que sua mistura minimiza a possibilidade de ocorrerem deficiências (GIROU, 2003).

Experimentos de alimentação demonstram uma necessidade média de 145mg de pólen para que uma abelha operária complete seu ciclo de vida. Assim, 10.000 operárias (que formam uma pequena colônia) consomem 1,5kg de pólen. O valor nutritivo do pólen armazenado artificialmente (através de coletor do pólen) depende das condições de secagem, temperatura e duração do tempo de armazenamento e da planta de origem do pólen. Todos esses fatores indicam que a composição química é a chave que determina a utilidade do pólen na nutrição da abelha (STANLEY e LINSKENS, 1974).

A Figura 3 mostra uma abelha (*Apis mellifera*), retornando para a sua colmeia carregando uma massa bastante compacta de grãos de pólen armazenada nasduas corbículas.

Figura 3. Abelha com carga de pólen nas duas corbículas.
[Fonte:http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Apis_mellifera_flying.jpg, acesso em 5/10/2013]

3. PÓLEN APÍCOLA

3.1 Processo de produção

O processo de produção do pólen apícola envolve diversas etapas desde sua coleta até o envase. A etapa inicial envolve a instalação do apiário que é fator importante para o obtenção de um produto de qualidade, deve-se buscar locais com flora apícola disponível para se obter uma boa quantidade de produção, da mesma forma o tipo de florada pode ser selecionada para obtenção de um produto característico.

As etapas de processamento deverão seguir o regulamento técnico sobre condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos, constantes na portaria n. 368 (1997) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001).

A localização do apiário deve estar distante 3.000 metros de lixões, aterros sanitários, lagoas de decantação de resíduos, engenhos e outros ambientes atrativos para as abelhas e que podem levar risco de contaminação à produção apícola. Deve-se evitar locais muito úmidos e próximos a águas estagnadas, pois isso favorece a ocorrência de doenças e contaminações (SEBRAE, 2009).

Quando a produção ocorre em áreas de agricultura intensiva, onde se faça uso frequente de agrotóxicos, deve existir uma boa interação entre apicultor e agricultor, para que os produtos utilizados e os momentos de aplicações sejam informados, possibilitando o manejo adequado à preservação das abelhas e evitando os riscos de contaminações dos produtos apícolas. Esses cuidados são imprescindíveis para uma produção segura, tanto na apicultura fixa como na migratória (SEBRAE, 2009).

A principal ferramenta de coleta do pólen apícola é o “coletor de pólen” ou “caça-pólen”. Existem diversos tipos de coletores de pólen apícola que variam desde a forma de colocação até o formato, os principais são: Tipo Frontal, Tipo Superior, Plástico Injetado, Tipo Tropical Africanizado-Baiano eIntermediário Interno. Na pesquisa realizada por Barreto et al. (2004), onde foi verificado os equipamentos utilizados pelos apicultores em todo Brasil foi constatado que na região Sul o coletor mais utilizado é o intermediário Interno. Os coletores de pólen são constituídos essencialmente por tampas com perfurações de aproximadamente 4,5 mm de diâmetro para permitir que as abelhas ao atravessarem deixem cair as bolotas de pólen presas em suas patas traseiras (MAGALHÃES, 2005).

De acordo com Alves (2013) não existe um consenso quanto ao melhor tipo de coletor. A produtividade é semelhante em todos, desde que sejam mantidas as características corretas, o manejo da colônia seja adequado e haja disponibilidade de pólen na região.

A coleta do pólen apícola é feita diariamente e ao final da tarde. O pólen, depois de retirado das gavetas coletoras, é transferido para baldes de polietileno com tampas de pressão e colocados em freezer, onde permaneceram até o prazo máximo de 15 dias (MAGALHÃES, 2005). É recomendado que o coletor não permaneça nas colmeias por mais de 2 semanas, com o risco de enfraquecer demais a colônia. A grade de retenção deve ser retirada a cada 2 dias, permanecendo o coletor sem a mesma durante 1 dia para suprir as necessidades

proteicas do enxame (EMBRAPA, 2003).

Após a coleta o pólen apícola é transportado até o entreposto aonde sofre diversas etapas de processamento seguindo o fluxograma abaixo:

O produto final (pólen apícola desidratado envazado) deve obrigatoriamente possuir a rotulagem estipulada pela resolução RDC nº 360, de 23/12/2003 (BRASIL, 2003), da ANVISA/MS, onde aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, padronizando e tornando obrigatória a rotulagem nutricional.

A rotulagem nutricional exige os seguintes dados para o rótulo de todos os alimentos (ALMEIDA-MURADIAN, PENTEADO, 2007; BRASIL, 2003):

- valor energético [em quilocalorias (kcal) e quilojoules (kj)];
- carboidratos [gramas (g)];
- proteínas [gramas (g)];
- gorduras totais [gramas (g)],
- gorduras saturadas [gramas (g)];
- gorduras trans [gramas (g)];
- fibra alimentar [gramas (g)] e
- sódio [miligramas (mg)]

3.2 Composição química

Segundo a Instrução Normativa n.º 03 de 19 de Janeiro de 2001 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2001), define-se pólen apícola como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia.

O pólen apícola é coletado por uma grade de retenção, caindo em um recipiente coletor, conjunto este denominado de coletor de pólen. No final da coleta encontram-se reunidas as bolotas de grãos de coloração variável, indicando as diversas comunidades botânicas visitadas pelas abelhas, formando uma mistura conhecida por “mix” polínico, sendo esse material removido pelo apicultor para o beneficiamento, comercialização e consumo animal e humano (BARRETO, FUNARI, ORSI, 2004).

O pólen apícola fresco coletado pelas abelhas contém cerca de 20-30% de água. Esta alta umidade é um meio de cultura ideal para a proliferação de microrganismos, como bactérias e leveduras. Assim para a prevenção da deterioração e para a preservação da qualidade do pólen apícola deve-se colhe-lo diariamente e imediatamente armazena-lo em congelador (MELO, ALMEIDA-MURADIAN, 2010; CAMPOS *et al*., 2010). Depois de dois dias de armazenamento no congelador, os insetos e pragas estarão mortos (MOOSBECKHOFER e ULZ, 1996). Após o descongelamento o pólen apícola pode ser mantido apenas durante algumas horas, e deverá ser ainda processado o mais rapidamente possível.

O processamento de pólen apícola é executado de diferentes formas nos apiários brasileiros, variando desde a utilização de caixa de madeira adaptada com lâmpada até estufas industriais específicas para esse fim, conforme evidenciado no estudo de Barreto *et al*. (2004). Mesmo com instrumentos rudimentares é possível atingir valores de umidade determinados pela legislação brasileira, porém já se sabe que a forma de processamento pode ser um determinante na composição de nutrientes pois a exposição do pólen a altas temperaturas pode influenciar na composição final de vitaminas pois estas são altamente instáveis (ALMEIDA-MURADIAN *et al*., 2005; MELO, ALMEIDA-MURADIAN, 2010).

De acordo com a Instrução Normativa N° 3 (BRASIL, 2001), o pólen apícola pode ser classificado conforme o teor de umidade para efeito de comercialização. Pólen apícola é o produto coletado na sua forma original e pólen apícola desidratado é o produto que passa pelo processo de desidratação, seguindo os procedimentos adequados de tratamento, com temperatura inferior a 42°C, e com teor de umidade inferior a 4% (ALMEIDA-MURADIAN *et al*., 2007).

O pólen apícola para ser comercializado no Brasil deve ter os seguintes requisitos físico-químicos: umidade máxima in natura de 30% e desidratado de 4%; cinzas máximo de 4%; lipídeos, mínimo de 1,8%; proteínas, mínimo de 8%; açúcares totais de 14,5% a 55,0%; fibra bruta, mínimo de 2% e pH de 4 a 6 (BRASIL, 2001).

A composição do pólen varia entre espécies de plantas; também sofre a influência da idade, da condição nutricional da planta e das condições ambientais durante o desenvolvimento do pólen (HERBERT JR. e SHIMANUKI, 1978; OLIVEIRA, 2009; MELO, ALMEIDA-MURADIAN, 2009).

É sabido que o pólen pode ter de 8 a 40% de proteína bruta. O teor de umidade varia de 4 a 35%, podendo conter ainda de 1 - 18% de carboidratos e 0,7 - 7% de minerais. Análises químicas do pólen mostraram que ele contém lipídeos (de 1 a 15%), aminoácidos livres, além de vitaminas, enzimas, coenzimas e pigmentos (OLIVEIRA, 2009; MELO, ALMEIDA-MURADIAN, 2009; ARRUDA *et. al*, 2013).

A Tabela 1 apresenta a comparação da composição química do pólen apícola desidratado brasileiro, obtidas por diversos pesquisadores.

Tabela 1 – Composição química apresentada por pesquisadores em diferentes amostras de pólen apícola desidratado brasileiro.

Componentes	Referências										
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
Umidade (%)	-	8,78	24,1	7,4	3,96	23,6	27,10	2,34	4,19	5,71	3,47
Proteínas (%)	21	21,20	26,2	21	15,78	21,4	28,27	23,59	20,47	15,0	23,38
Fibra Bruta (%)	NA	NA	1,1	NA	4,60	NA	NA	NA	3,45	NA	NA
Açúcares totais (%)	NA	NA	NA	NA	37,36	28,4	NA	NA	52,10	30,2	NA
Lipídios (%)	3,0	8,80	5,1	7,0	3,82	3,6	2,6	4,97	4,86	3,7	5,39
Cinzas (%)	3,0	2,79	2,6	2,4	2,89	2,9	2,8	3,08	2,94	2,1	2,98

(1) REIS e MARCHINI, 2000 (Piracicaba – SP);
(2) BASTOS *et al*., 2003 (Estados de SP e MG);
(3) FUNARI *et al*., 2003 (Botucatu – SP);
(4) ALMEIDA-MURADIAN *et al*., 2005 (região sul do Brasil);
(5) BARRETO *et al*., 2006 (várias regiões do Brasil);
(6) MARCHINI, REIS e MORETI, 2006 (Piracicaba – SP);
(7) MODRO, 2007 (Viçosa e Paula Cândido - MG);
(8) MELO *et al*., 2008 (Pariquera-Açu – SP);
(9) CARPES, 2008 (região sul do Brasil)
(10) BARRETO et al. 2012 (Vale do Paraíba - SP);
(11) ARRUDA et al. 2013 (Vale do Ribeira - SP);

4. REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; BERA, A.; FELSNER, M.L.; CANO, C.B. Produtos Apícolas. In: ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. **Vigilância sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap.10, p.183-198.

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

ALVEZ, M.L.T.M.F. Produção de pólen apícola. **Pesquisa & Tecnologia**, v.10, n.2, 2013.

ARRUDA, V.A.S., PEREIRA, A.A.S., FREITAS, A.S., BARTH, O.M., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

AXELROD D. The evolution of flowering plants. In: TAX, S. **Evolution after Darwin**. Chicago: **University of Chicago Press**, 1960, p.227–305.

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

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O. DIB, A.P.S. **Produção de pólen no Brasil**. 1 ed. Cabral Editora Universitária, 2006.

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O. **Pólen apícola: Perfil de produção no Brasil**. Universidade de Taubaté, São Paulo, 2004. Disponível em: http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/polen/14_polen_apicola_brasil.pdf, Acesso em: 10/07/2012.

BARRETO, L.M.R.C.; NORDI, J.C.; DIB, A.P.S.; CESAR, 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.; Melissopalinologia no Brasil: uma revisão sobre análises palinológicas de mel, própolis e bolotas de pólen de abelhas. **Scientia Agricola**, v.61, n.3, 2004.

BASTOS, D.H.M.; ROCHA, C.I.; CUNHA, I.B.S.; CARVALHO, P.O.; TORRES, E.A.S. Composição e qualidade de pólen apícola comercializado em algumas

cidades nos estados de São Paulo e Minas Gerais – **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, p.239-244, 2003.

EMBRAPA. **Boas práticas na produção e beneficiamento de pólen apícola desidratado.** 1ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. p.26.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional**. Resolução – RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Diário Oficial da União, de 26 de dezembro de 2003. Disponível em http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=9059

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis**. Diponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal, Acesso em: 23/07/2012.

CARPES, S.T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *apis mellifera* l. da região sul do Brasil**. Curitiba, 2008. Tese de doutorado – Universidade Federal do Paraná.

CAMPOS, M.G.R.; FRIGERIO, C.; LOPES, J.; BOGDANOV S. What is the future of Bee-Pollen?. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, n.4, v.2, p.131-144, 2010.

COMMITTEE ON THE STATUS OF POLLINATORS IN NORTH AMERICA NRC. **Status of pollinators in North America**. National Academies Press. Washington, D.C., 2007.

CORNEJO, L.G. **Pólen: tecnologia de su produccion, procesado, y comercializacion**. Buenos Aires: IPTEA, 114p. 1994.

CRANE, E. **History of other products from bees The world history of beekeeping and honey hunting**. London:Gerald Duckworth & Co Ltd, 1999. p.545-553.

DE JONG, D.; GOLÇALVES, L.S.; AHMAD, F.; AHMAD, F.; GRAMACHO, K.P.; CAMARGO, R.C.R.; PARTAP, U., BELCHIOR FILHO, V. Honey Bee. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M.; DE JONG, D. **Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices**. Ribeirão Preto: Holos, 2006. p.63-73.

ECKERT, J.E. The pollen required by a colony of honeybees. **Journal of Economic Entomology**, n.35, p.309-311, 1942.

FONSECA, V.M.O.; KERR, W.E. Influência da Troca de Rainhas entre Colônias de Abelhas Africanizadas na Produção de Pólen. **Bioscience Journal.** v.22, n.1, p.107-118, 2006. Disponível em: <http://www.biosciencejournal.ufu.br/viewarticle.php?id=311>. Acesso em: 12-mar-2008.

FREITAS, B.M. As abelhas e o aumento da produção agrícola. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, Fortaleza, 1998. **Anais**, p.385-389.

FUNARI, S.R.C.; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M.; FILHO, H.G.; CURI, P.R.; GOMES DIERCKX, S.M.A.; FUNARI, A.R.M.; OLIVEIRA ORSI, R. Composição bromatológica e mineral de pólen coletado por abelhas africanizadas (Apis mellifera L.) em Botucatu, Estado de São Paulo. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.11, n.2, p.88-93, 2003.

GIROU, N. G. Fundamentos de la producción apícola moderna. **Bahía Blanca: Editorial Encestando** S.R.L, 2003.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. **Evolution of the insects**. New York: Cambridge University Press, p.755, 2005.

HAYDAK, M.H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**, v.15, p.143-153, 1970.

HAYDAK, M.K. Changes in total nitrogen content during the life of the imago of to worker honey-bee. **Journal of Agricultural Research**, v.49, n.1, p.21-27, 1934.

HERBERT JR., E.W.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. **Apidology**, v.9, n.1, p.33-40, 1978.

HYDE, H.A.; WILLIAMS, D.A. The right word. **Pollen Science Circular**, n.8, p.6, 1944.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. **FAOAgricultural Services Bulletin**, v.124, p.87-113, 1996.

LEMASSON, M. Intérêt de l'abeille mellifère (Apis mellifera) dans la pollinisation de cultures en serre de cornichon (Cucumis sativus), de melon (Cucumis melo) et de tomato (Lycopersicon esculentum). **Revue de l'Agriculture**, v.40, p.915-924, 1987.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World,** n.59, p.139–153, 1978.

LOUW, G.N., NICOLSON, S.W. Thermal, energetic and nutritional considerations in the foraging and reproduction of the carpenter bee Xylocopa capitata. **Journal of Entomology Society of Southern Africa**, n.46, p.227–240, 1983.

MAGALHÃES, E. O. **Produção de pólen apícola**. Magalhães Ed., Itabuna, BA, CD ROOM, 2005.

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**, v.36, n.3, p.949-953, 2006.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. **Química Nova**, v.33, n.3, p.514-518, 2010.

MELO, I.L.P. Estabilidade das vitaminas antioxidantes em amostras de pólen apícola. São Paulo, 2008. 90p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

MICHENER C. D. **The bees of the world**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. 913p.

MOOSBECKHOFER, R; ULZ, J. **Der erfolgreiche Imker**. Graz-Stuttgart, 1996.

MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P.; MEIRA NETO, J.A.A. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.8, p.1057-1065, 2007.

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

OLIVEIRA, K.C.L.S. Caracterização do pólen apícola e utilização de vitaminas antioxidantes como indicadoras do processo de desidratação. São Paulo, 2006. 106p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, n.120, p.321–326, 2011.

RAGHAVAN, V. **Developmental biology of flowering plants**. New York: Inc. Springer-Verlag GmbH and Co. KG; 2000. 354p.

REIS, V.D.A.; MARCHINI, L.C. Análises físico-químicas de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas (Apis Mellifera L.) em Piracicaba, São Paulo. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, **Anais**, 2000. Florianópolis-SC. Cd. Rom.

ROULSTON, T.H., 2005. Pollen as a reward. In: DAFNI, A.; KEVAN, P.G.; HUSBAND, B.C. **Practical Pollination Biology**. Cambridge: Enviroquest, 2005. p.234–260.

SCHLINDWEIN, C. Melittophilous plants, their pollen and flower visiting bees in southern Brazil. Cactaceae. **Biociências,** n.3, v. 2, p. 35-71, 1995.

SCHMIDT, J.O.; BUCHMANN, S.L. Other products of hive. In: GRAHAM, J.M.; AMGROSE, J.T.; LANGSTROTH, L.L. **The hive and the honey bee: a new book on beekeeping which continues the tradition of "Langstroth on the hive and**

the honeybee”. Hamilton: Dadant, 1992. p.928-977.

SEBRAE Nacional (Brasília, DF) PAS Indústria. **Manual de Segurança e Qualidade para Apicultura**. Brasília: SEBRAE/NA, 2009.

SPANGLER, H.G.; MOFFETT, J.O. Honeybee visits to tomato flowers in polyethylene greenhouses. **American Bee Journal**, v.117, p.580-582, 1977.

STANLEY, R.; LINSKENS, H. **Pollen: biology, biochemistry and management**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1974. 307p.

WINSTON, M. **The Biology of the Honey Bee**. Cambridge: Harvard University Press, 1987.

WITHERELL, P.C. Otros productos de la colmena. In: DADANT, E. **La colmena y la abeja mellifera**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1975. 684p.

Capítulo 2:

Vitaminas antioxidantes

1. INTRODUÇÃO

Dentre os nutrientes necessários para as funções fisiológicas essenciais para a vida estão as vitaminas. Ao contrário de outras classes de nutrientes, as vitaminas não têm funções estruturais, nem o seu catabolismo fornecem energia significativa. As vitaminas possuem elevadas funções especificas e, por essa razão, elas são necessárias em apenas pequenas quantidades na dieta. As formas comuns de vitaminas encontradas na maioria dos alimentos exigem alguma ativação metabólica para atingirem as suas formas funcionais (COMBS, 2012).

As vitaminas compreendem um grupo diverso de compostos orgânicos, os quais são micronutrientes essenciais na nutrição. As funções das vitaminas *in vivo*, sob vários aspectos, são: (1) atuação como coenzimas ou seus precursores (niacina, tiamina, riboflavina, biotina, ácido pantotênico, piridoxina, cobalamina e folato); (2) atuação como componentes do sistema de defesa antioxidante (ácido ascórbico, alguns carotenóides e vitamina E); (3) atuação como fatores envolvidos na regulação genética (vitaminas A, D); e (4) atuação em funções específicas, como a vitamina A na visão, ascorbatos em várias reações de hidroxilação e vitamina K nas reações de carboxilação específicas (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

A deficiência de vitaminas no organismo pode conduzir a diversas patologias que quando não tratadas podem levar a morte. Dentre as deficiências globais mais importantes a falta de ingestão de vitamina A continua sendo um desafio para os profissionais da saúde pois afeta milhões de crianças e gestantes no mundo.

A vitamina E e sua complexa função biológica, a segurança demonstrada, e sua utilidade aparente no combate a uma série de distúrbios de estresse oxidativo têm gerado enorme interesse nesta vitamina entre as comunidades de ciências básicas e clínicas, bem como o público leigo (COMBS, 2012).

Também importante é a vitamina C, e a doença associada a sua deficiência, o escorbuto. Foi reconhecida por muitos séculos, tendo sido descrita no Papiro de Ebers em 1500 a.C. assim como por Hipócrates. O ascorbato é um açúcar redutor, em adição ao seu papel como cofactor específico para uma variedade de reações redox, também funciona como um agente redutor não específico. Algumas dessas reações inespecíficas são fisiologicamente importantes outras levaram a confusão na literatura, porque ele vai aumentar a atividade *in vitro* de um número de enzimas para as quais não é um cofactor (BENDER, 2003).

2. VITAMINA C

A vitamina C foi, durante muito tempo, conhecida como o nutriente essencial que previnia a doença causada pela sua deficiência, o escorbuto. Sua importância cresceu ao longo do tempo, grande parte por causa das descobertas de seu potencial antioxidante (SILVA e COZZOLINO, 2009).

A vitamina C é também conhecida como ácido ascórbico (AA), ácido L-ascórbico, ácido deidroascórbico (DHAA), ascorbato e vitamina antiescorbútica. A maioria das plantas e animais tem habilidade de sintetizar a vitamina C a partir de D-glicose ou D-galactose via ácido glucurônico (SILVA e COZZOLINO, 2009).

Os seres humanos, outros primatas e algumas espécies de morcegos comedores de frutas não podem sintetizar o ascorbato porque o gene que codifica a L-gulonolactona oxidase (GLO), a enzima necessária para o último passo na síntese de ascorbato, não é funcional. Assim, a ingestão dietética torna-se essencial (J. DU *et al*., 2012). Acredita-se que o gene que codifica esta enzima passou por mutações ao longo do tempo e deixou de ser expresso há milhões de anos (ROCHA*et al*., 2013).

A vitamina C é encontrada na natureza sob duas formas: reduzida(ácido ascórbico) ou oxidada (ácido deidroascórbico). Ambas são igualmente ativas, porém a forma oxidada está menos difundida nas substâncias naturais. A transformação do ácido ascórbico em ácido deidroascórbico ocorre de forma natural no organismo e é reversível (ROCHA *et al*., 2013).

A vitamina C doa, em sequência, dois elétrons da dupla-ligação entre os carbonos dois e três e, nesse momento, é oxidada e outra substância é reduzida. Por isso a vitamina C é conhecida como um antioxidante (ROCHA *et al*., 2013).

O ácido L-isoascórbico (também conhecido como ácido eritórbico) e o AA são muito utilizados como ingredientes alimentares devido a suas atividades redutora e antioxidante (p. Ex., na cura de carnes e inibição do escurecimento enzimático em frutas e vegetais), porém, o ácido isoascórbico (D-AA) não tem nenhum valor nutricional (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

O AA contém dois centros opticamente ativos (Figura 4), nas posições C4 e C5. O ácido L-isoascórbico, um isômero óptico na posição C-5, e o D-AA, um isômero óptico na posição C-4, comportando-se de modo parecido ao do AA,

quimicamente, mas esses compostos não têm, de fato, atividade de vitamina C (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

A estrutura do ácido ascórbico pode ser visualizada na figura 4

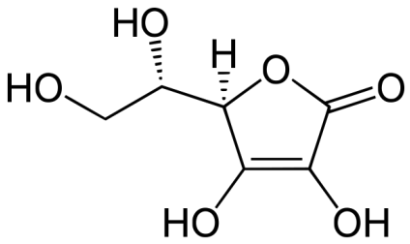

Figura 4. Estrutura química do ácido L-ascórbico.

A vitamina C é uma vitamina que age como cofator em numerosas reações fisiológicas e em reações bioquímicas centrais, incluindo hidroxilação pós-translacional de prolina, lisina, colágeno e outras proteínas do tecido conjuntivo; expressão gênica de colágeno; síntese de norepinefrina e hormônios adrenais; ativação de muitos hormônios peptídicos, e síntese de carnitina (DAVIES *et al.*, 1991; ARRIGONI e TULLIO, 2000; SMIRNOFF, 2000; JOHNSTON *et al.*, 2007). Além destas funções principais, a vitamina C também atua como um antioxidante celular, e facilita a absorção intestinal de ferro e manutenção do ferro no plasma em sua forma reduzida (SMIRNOFF, 2000; BENDER, 2003).

A vitamina C também tem ação na conversão do colesterol em ácidos biliares e no metabolismo iônico de minerais. O papel do ácido ascórbico como redutor biológico pode ser ligado também a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Por ser solúvel em água, acredita-se que a vitamina C faça parte da primeira linha de defesa do organismo, e, por ter facilidade em doar elétrons, possui também ação antioxidante. Sua ação pode ser em espécies reativas de oxigênio, nitrogênio, oxigênio singlete e hipoclorito. Os produtos de oxidação do ascorbato não apresentam toxicidade e são facilmente regenerados pelos redutores glutationa e NADP e/ou NADPH (COZZOLINO, 2009). Devido a isto, a vitamina C ajuda a prevenir a oxidação das moléculas solúveis em água e também, indiretamente, protege as vitaminas A e E da oxidação (TORRES *et al*., 2003).

O ácido ascórbico é susceptível à oxidação, em solução aquosa e, portanto, a temperatura, luz, pH, na presença de oxigénio, os catalisadores de metal (ferro, cobre) e enzimas tais como ascorbato oxidase podem afetar a taxa de degradação de AA, a uma taxa variável, em diferentes alimentos (JOHNSTON *et al.*, 2007).

Devido a alta solubilidade do AA em soluções aquosas, podem ocorrer perdas significativas por lixiviação a partir do corte ou descascamento de frutas e vegetais. A degradação química envolve principalmente, oxidações para DHAA, seguidas de hidrólise para ácido 2,3-dicetogulônico, bem como oxidação, desidratação e polimerização adicionais a formação de outros produtos nutricionalmente inativos (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

Os alimentos podem passar por grandes perdas de AA durante a rotina de armazenamento e processamento, incluindo o congelamento. Por exemplo, a perda de AA em produtos comercialmente embalados e congelados como ervilhas, espinafre, feijão-verde e quiabo segue uma cinética de primeira ordem, na faixa de temperatura de -5 a -20°C, com dependência da temperatura de acordo com a Equação de Arrhenius. Assim a estabilidade do AA depende da composição dos alimentos, além das condições de armazenamento e a taxa de degradação de AA determinada para um tipo de alimento pode não vir a ser utilizada para prever a cinética de degradação de AA em outro sistema alimentar (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

A limitação ou a redução do tempo de exposição do alimento ao ar e à cocção ajudam a reduzir perdas da vitamina, assim como quantidades elevadas de flavonoides (compostos bioativos) presentes nas frutas. A vitamina C é muito estável em alimentos embalados e estocados em baixas temperaturas, não expostos à luz e em que o oxigênio do espaço livre foi retirado. Desta forma alimentos vegetais consumidos *in natura* apresentam maior disponibilidade de vitamina C (ROCHA *et al*., 2013).

Os valores diários recomendados de acordo com a Ingestão Dietética de Referência (IDR) ou Dietary References Intakes (DRI, 2000) para vitamina C é de 90mg para homens e 75mg para mulheres a partir de 19 anos. As necessidades de vitamina C são maiores em períodos de gestação e lactação, perante doenças inflamatórias crônicas e agudas, após cirurgias e em pacientes com queimaduras graves (SILVA e COZZOLINO, 2009). Há pouca evidência de qualquer toxicidade da

alta ingestão dessa vitamina, embora alguns problemas potenciais possam existir. Doses de um grama têm sido consumidas sem efeitos adversos conhecidos, ao passo que dois gramas ou mais podem causar gastrenterite transiente ou diarreia osmótica em alguns indivíduos. A maioria dos efeitos adversos atribuídos à vitamina C, incluindo pedras renais de oxalato e excesso de ferro, não tem sido estabelecida em uma base factual (SILVA e COZZOLINO, 2009).

Embora não haja um órgão específico para o armazenamento de vitamina C no organismo, os sinais de deficiência em indivíduos bem nutridos apenas se desenvolvem após 4 a 6 meses de baixa ingestão (geralmente menores que 10mg/dia), quando as concentrações plasmáticas e dos tecidos diminuem consideravelmente (SILVA e COZZOLINO, 2009).

Os primeiros sintomas de deficiência em vitamina C são esquimoses e petéquias. As esquimoses se tornam mais proeminentes, desenvolvendo hiperqueratose folicular, seguida de hemorragia ocular. Sintomas proeminentes são anormalidades psicológicas, como histeria e depressão. Fadiga e letargia são sintomas tardios.

3. VITAMINA E

A vitamina E foi descoberta em 1922 por Evans e Bishop, como um fator lipossolúvel necessário para prevenir a morte fetal e a reabsorção em roedores. Quando quimicamente identificada, a vitamina foi chamada tocoferol, do grego tokos (parto) e pherein (suportar). O termo vitamina E incluem oito compostos lipossolúveis que se encontram na natureza, quatro deles são os tocoferóis e quatro os tocotrienóis.

A atividade antioxidante da vitamina E é a sua função mais divulgada. Diversos estudos em sistemas biológicos já demonstraram os efeitos nocivos dos radicais livres, frequentemente associados ao desenvolvimento de doenças degenerativas como câncer, doença de Alzheimer, artrite e catarata, já que são compostos altamente reativos e produzidos em diferentes processos no organismo (SILVA e COZZOLINO, 2009).

A vitamina E é o termo genérico utilizado para descrever pelo menos oito

compostos de ocorrência natural que exibem a atividade biológica de α-tocoferol. O grupo compreende α, β-, γ- e δ-tocoferol e α, β-, γ-, e δ-tocotrienol. Todos estes compostos ocorrem como uma variedade de isómeros. RRR-α-tocoferol tem a maior atividade biológica de acordo com a reabsorção fetal de ratas (WEISER E VECCHI, 1982) e é responsável por aproximadamente 90% da atividade da vitamina E encontrada em tecidos (COHN, 1997).

Em células animais, o α-tocoferol é um componente de todas as membranas biológicas. No que concerne à atividade antioxidante da vitamina E, esta tem sido exaustivamente comprovada em ensaios *in vitro* e *in vivo*, solidificando sua importância como mantenedora da integridade de membranas e outros componentes biológicos. No entanto, as diversas funções moduladas pela vitamina E que não são necessariamente resultado de seu papel antioxidante estão ainda em discussão (BIANCHINI e PENTEADO, 2003).

Os tocoferóis são antioxidantes de ocorrência natural em lipídios que inibem especificamente a oxidação de lipídios poliinsaturados (DESAI e MACHLIN, 1985).

Os tocoferóis, que normalmente são os principais compostos com atividade de vitamina E em alimentos, são derivados do composto original tocol, apresentando um ou mais grupos metil nas posições 5 e 7 ou 8 da estrutura do anel (anel cromano). As formas α, β, γ e δ de tocoferol e tocotrienol diferem conforme o número e a posição dos grupos metil e, portanto diferem significativamente quanto à atividade de vitamina E. (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

Em sistemas novos de representação de atividade de vitamina E, o α-tocoferol (Figura 5) é visto como a única forma que exibe atividade especifica de vitamina E, ao mesmo tempo que ele e todos os outros tocoferóis e tocotrienóis apresentam função antioxidante geral. Esse fato continua a ser um ponto de controvérsia entre alguns pesquisadores. (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010). As estruturas químicas dos tocoferóis(α, β-, γ- e δ-tocoferol) e tocotrienóis (α, β-, γ- e δ-tocotrienol) podem ser visualizadas na Figura 5.

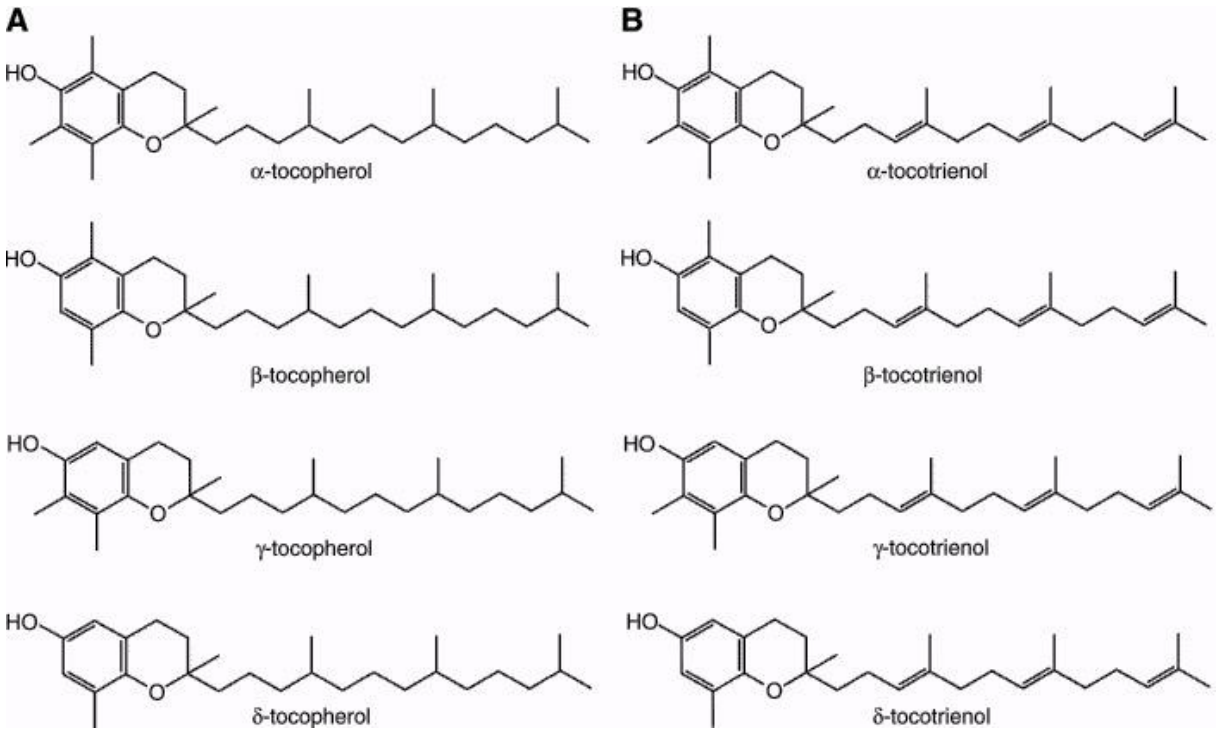

Figura 5. Estrutura química dos tocoferóis (grupo A) (α, β-, γ-e δ-tocoferol) e tocotrienóis (grupo B) (α, β-, γ- e δ-tocotrienol).

Os tocoferóis são constituintes naturais de membranas biológicas e desta maneira contribuem para a estabilidade das mesmas através de seu potencial antioxidante. (MACHLIN, 1991; GREGORY, 1996).

Segundo Carrasquedo et. al. (1999), há evidências do papel dos radicais livres no desenvolvimento de doenças coronarianas. Os autores observaram que vítimas de infarto agudo do miocárdio, com altas concentrações de vitamina E no plasma, apresentavam menos danos no músculo cardíaco.

Em 2000 Azzi *et al.* descreveram as seguintes funções não antioxidantes do α-tocoferol: inibição da proteína quinase C; regulação de certos genes das células do músculo liso; inibição in vitro da proliferação de células do músculo liso de ratos e humanos impedindo que as paredes dos vasos sanguíneos fiquem grossas. Esta ultima também foi observada para os demais homólogos, exceto para β-tocoferol.

Um interessante uso não nutricional do α-tocoferol nos alimentos é a sua aplicação no processo de cura do toucinho para a redução de formação de nitrosaminas. Acredita-se que o α-tocoferol serve como fenólico lipossolúvel para

desativar radicais livres de nitrogênio (NO•, NO_2•) em um processo de nitrosação mediada por radicais (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

Os compostos vitamínicos E apresentam estabilidade razoável na ausência de oxigênio e lipídios oxidantes. Em contrapartida, a taxa de degradação da vitamina E aumenta na presença de oxigênio molecular, podendo ser particularmente rápida quando radicais livres também estão presentes. Os produtos de degradação da vitamina E também apresentam pouca ou nenhuma atividade vitamínica. Por sua capacidade de agir como antioxidantes fenólicos, os compostos vitamínicos E não esterificados contribuem para a estabilidade oxidativa dos lipídios nos alimentos. (DAMODARAM e SRINIVASAN, 2010).

A luz, o oxigênio e o calor são fatores que causam a perda de vitamina E durante o processamento e o armazenamento por sua função como antioxidante (TORRES *et al*., 2003).

A recomendação para ingestão de vitamina E (DRIs), elaborada para a população dos Estados Unidos e Canadá, foi baseada em estudos de indução da deficiência em humanos e na correlação entre hidrólise do eritrócito induzida pelo peróxido de hidrogênio e a concentração de α-tocoferol no plasma (COZZOLINO, 2009). De acordo com a DRI (2000) a ingestão diária recomendada para vitamina E é de 15mg/dia para homens e mulheres acima de 14 anos.

As DRIs, entretanto, não levam em consideração fatores individuais que podem aumentar a necessidade de vitamina E, incluindo dieta, estilo de vida, doenças e exposição aos poluentes (BIANCHINI e PENTEADO, 2003).

Quantidades elevadas de ácidos graxos poliinsaturados na dieta podem aumentar as necessidades de vitamina E, pois quanto maior o número de ligações insaturadas, maior a possibilidade de peroxidação de ácidos graxos decorrentes da ação de radicais livres sobre eles. Considera-se que seja necessário de 0,4 a 0,5mg vitamina E/g ácido graxo poliinsaturado na dieta. Entretanto, esse não é um problema na prática, desde que os alimentos fontes de ácidos graxos poliinsaturados sejam também naturalmente ricos em tocoferóis e tocotrienóis (COZZOLINO, 2009).

A vitamina E tem muito pouca toxicidade. A Organização Mundial da Saúde estabeleceu uma ingestão diária aceitável entre 0,15 e 2,0mg α-tocoferol/kg de peso

corporal, e ingestão habitual de suplementos de até 720mg/dia (comparados com uma média de ingestão diária de 8 a 12mg/dia) (COZZOLINO, 2009).

A deficiência de vitamina E não é comum. Casos de deficiência foram observadas em animais experimentais, resultando em falha reprodutiva (esterilidade em ratos machos e reabsorção dos embriões no útero de fêmeas grávidas), danos hepáticos e renais e anormalidades neurológicas (COZZOLINO, 2009).

Em humanos, a deficiência ocorre principalmente em crianças prematuras de baixo peso e em pacientes com anormalidades na absorção de gorduras. Em estudos de depleção, muitos meses são necessários antes que apareça qualquer queda significativa na concentração do tocoferol circulante nos indivíduos, indicando que as reservas nos tecidos são relativamente grandes. A deficiência também pode ocorrer por causa de anormalidades genéticas na α-TTP (proteína transportadora de α-tocoferol), que causa a síndrome de deficiência grave, cujos sintomas são principalmente neurológicos e incluem a perda dos reflexos do tendão, ataxia cerebelar, disartria e retardo mental (COZZOLINO, 2009).

4.CAROTENOIDES E VITAMINA A

Os carotenóides são um grupo de pigmentos naturais muito difundidos na natureza, conferindo cores que vão do amarelo ao vermelho, podendo ser empregados como corantes naturais ou idênticos aos naturais em alimentos, bebidas, cosméticos, ou como medicamento.

Em frutas e legumes, a cor é devido principalmente a três famílias de pigmento: clorofilas, carotenóides e antocianinas, que são responsáveis pelas colorações verde, vermelho e amarelo e azul-violeta, respectivamente. A primeira função destes pigmentos que podem ser observados em plantas é a atração de animais atuando como vetores para a disseminação de sementes e frutos, garantindo assim o sucesso reprodutivo e perpetuação da espécie (BARTLEY e SCOLNIK, 1995). Certamente, a aquisição destas cores marcantes foi selecionado para ao longo da evolução e ajudou a estabelecer outras características dentre as quais as propriedades bioativas. Os seres humanos não são indiferentes a este

fenómeno de atração (MINGUEZ-MOSQUERA, PÉREZ-GÁLVEZ e HORNERO-MÉNDEZ, 2005).

Os carotenóides são pigmentos sintetizados por microrganismos fotossintéticos e plantas, porém não são sintetizados pelo homem, tendo então que ser obtidos pela dieta (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

Estes pigmentos têm despertado o interesse de estudiosos de diversas áreas há mais de um século devido ao fato de que, quando presente nos alimentos, além de contribuírem com a cor, alguns pigmentos carotenóides exercem atividade pró-vitamínica A, desempenhando, portanto um importante papel nutricional; principalmente em países onde a deficiência de vitamina A é considerada um problema de saúde pública (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

Apesar de mais de 700 carotenóides terem sido descritos na natureza, nem todas suas fontes naturais estão presentes na nossa dieta normal. Estima-se que só temos acesso a cerca de 40 carotenóides que podem ser absorvidos, metabolizados e utilizados pelo nosso corpo. Esse número é reduzido para 6, se considerarmos o perfil de carotenóides que é normalmente detectado no plasma sanguíneo humano. Este grupo inclui α- e β-caroteno, o licopeno, β-criptoxantina, zeaxantina e luteína, que estão regularmente presentes em vegetais folhosos, tubérculos, frutas, cereais e óleos vegetais (BRITTON e KHACHIK, 2009).

O aumento do consumo de frutas e vegetais leva a um aumento da ingestão de vitaminas hidro e lipossolúveis, fibras e outros fitoquímicos (como carotenóides, glucosinolatos, fenóis e clorofilas), que têm efeitos benéficos para a saúde (LIU, 2004; LOCK, POMERLEAU, CAUSER, ALTMAN e MCKEE, 2005).

A estrutura básica dos carotenóides é simétrica, linear, contendo 40 carbonos distribuídos em 8 unidades isoprênicas (5 carbonos) e ligadas de tal forma que o arranjo das unidades é reversa no centro da molécula. Este esqueleto básico pode ser modificado de várias maneiras como a hidrogenação, ciclização, migração das duplas ligações, isomerização, introdução de oxigênio, entre outras, resultando em diversas estruturas (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

Quimicamente, os carotenóides são divididos em dois grupos: hidrocarbonetos, composto de carotenos (ex: α, β, e γ-caroteno); e, derivados oxigenados, composto de xantofilas ou oxicarotenóides (criptoxantina, luteocromo, 5,6,5’,6’, diepóxi-β-caroteno) (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

Todos os carotenóides podem ser formalmente derivados da estrutura acíclica $C_{40}H_{56}$, tendo uma longa cadeia central de duplas ligações conjugadas, que constituem o sistema cromóforo que confere cores à maioria dos carotenóides (DAVIES, 1976).

Geralmente os carotenóides devem conter pelo menos um anel β-ionona que não esteja hidroxilado para ter atividade pró-vitaminica A (MACHLIN, 1990, YUYAMA *et al*., 2013). Estruturalmente, a vitamina A (retinol) é essencialmente a metade da molécula de β-caroteno. Por conseguinte o β-caroteno é o mais potente carotenóide pró-vitaminico A, é também o mais difundido, além do alfa e gama carotenos e criptoxantina (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; YUYAMA *et al*., 2013).

Nas figuras 6e 7 estão demonstradas respectivamente as estruturas químicas do α- e β-caroteno e do retinol (vitamina A).

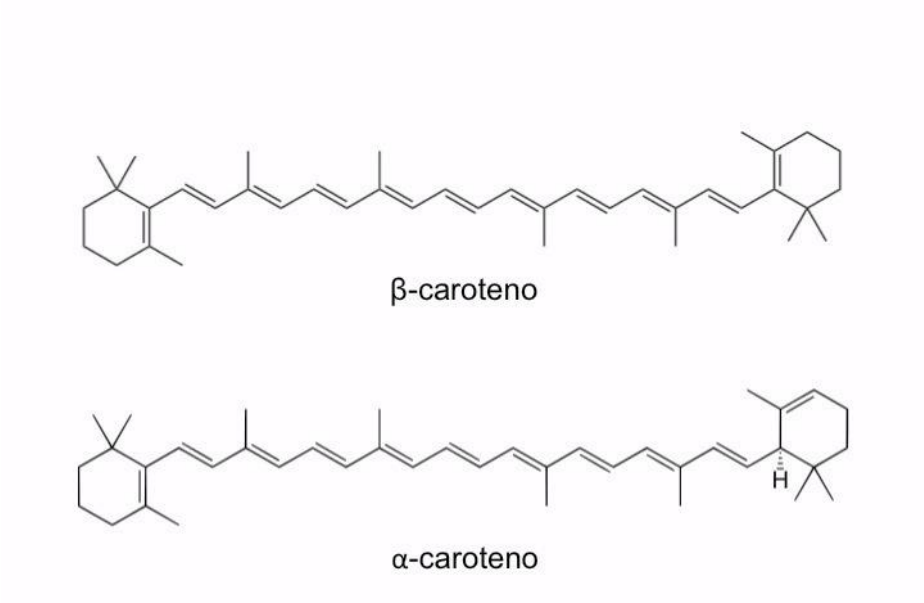

Figura 6. Estruturas químicas do β- e α-caroteno (pró-vitamina A).

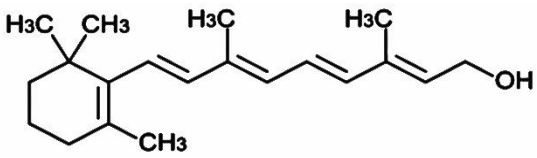

Figura 7. Estrutural química do retinol (Vitamina A).

A função mais conhecida dos carotenóides é a sua capacidade de ser metabolicamente convertido em retinóides. Os carotenóides que tem esta capacidade são chamados pró-vitamínicos A (KRINSKY *et al*., 2001).

Evidências epidemiológicas sugerem que a ingestão de β-caroteno pode inibir certos tipos de câncer e doenças mediadas por radicais livres. A capacidade dos carotenóides como agente quelante do oxigênio singlete molecular é bem conhecida. Assim como a prevenção do câncer, o potencial anti-oxidante dos carotenóides pode ser útil na inibição de doenças provocadas pela ação dos radicais livres entre elas aterosclerose, catarata, degeneração macular, esclerose múltipla, câncer, doenças degenerativas e cardiovasculares (DELGADO-VARGAS, 2000; MALDONADE *et al*., 2007; AKSU e EREN, 2007).

Além disso, há indícios de que os carotenóides em associação com outros componentes de frutas e vegetais apresentam efeito protetor contra algumas doenças crônicas. Por exemplo, o efeito sinergístico entre β-caroteno e vitaminas C e E foi observado na proteção celular, provavelmente decorrente da capacidade do β-caroteno em destruir os radicais livres e reparar os radicais de tocoferol produzidos pela ação do α- tocoferol (DELGADO-VARGAS *et al*., 2000).A vitamina C, por exemplo, o mais poderoso antioxidante solúvel em água no plasma sanguíneo humano, age como um regenerador para a vitamina E em sistemas de lípidos (NIKI *et al*., 1995).

Nas indústrias de alimentos, os carotenóides são utilizados principalmente como corantes, com os objetivos de repor a cor perdida durante o processamento e armazenamento, colorir os alimentos incolores e uniformizar a coloração de alguns produtos alimentícios. Mais recentemente, com o crescente interesse pela saúde, os carotenóides também têm sido adicionados aos alimentos a fim de enriquecer o produto. São também precursores de muitos compostos químicos importantes, responsáveis pelo aroma de alguns alimentos, fragrâncias de algumas flores, coloração específica e fotoproteção (SÁNCHEZ-CONTRERASe MARASCO, 2000; MARASCO e SCHIMDT-DANNERT, 2003).

Muitos fatores afetam a concentração e a composição dos carotenóides na planta. O valor nutritivo dos alimentos na forma em que são consumidos depende em grande parte dos métodos de plantio e colheita, da variedade da planta, do

processo de industrialização, do armazenamento e das técnicas utilizadas para o seu preparo (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

Devido à alta taxa de insaturação e de fatores tais como calor, luz e ácidos ocasionam a isomerização dos carotenoides *trans,* que é a forma mais estável na natureza, para a forma *cis,* promovendo ligeira perda de cor e atividade pró-vitamínica. Os carotenóides são também suscetíveis às oxidações enzimáticas ou não enzimáticas, razão do maior percentual de perda no processamento de alimentos, que dependem da estrutura do carotenóide, disponibilidade de oxigênio, presença de enzimas, metais, pró-oxidantes, antioxidantes, alta temperatura e exposição à luz (JOHNSON e SCHROEDER, 1995; AGOSTINE-COSTA *et al*., 2003).

Os carotenóides são altamente estáveis quando estão na célula da planta, mas uma vez isolados, são sensíveis a luz, calor e ácidos, promovendo a isomerização cis/trans (BALL,1998).

Vitamina A é um termo genérico que se aplica corretamente apenas para os retinóides que tem estrutura cíclica da β-ionona: retinol todo-trans, retinal, éster de retinila e o ácido retinóico. Atualmente, vários estudos têm mostrado que alguns carotenoides apresentam atividade antioxidante, e, portanto, podem ser importantes nutricionalmente, não apenas em razão das funções como precursores de vitamina A (COZZOLINO, 2009; YUYAMA *et al*., 2013).

Poucos estudos diretos têm sido realizados para determinar as necessidades de vitamina A. A RDA para homens adultos foi fixada em 900µg/dia para homens e 700µg/dia para mulheres, com recomendação fisiológica mínima de RAE (atividade equivalente de retinol)de 627µg/dia. Devido ao fato dos sinais da deficiência aparecerem vagarosamente, acredita-se que os estudos de depleção/repleção superestimam as recomendações (DRI, 2000; BIESALSKI e GRIMM, 2007).

A vitamina A contida nos alimentos é expressa em termos de equivalentes de retinol (ER), ou seja, a soma das vitaminas provenientes do retinol pré-formado e dos retinóides. Por causa da baixa absorção dos carotenos e da clivagem incompleta para gerar retinol, é geralmente aceito que 12 µg de β-caroteno sejam equivalentes a 1 µg de retinol ou ER (equivalente de retinol) ou uma atividade equivalente de retinol (RAE), e que 24 µg de outros retinóides sejam equivalentes a

1 µg de retinol. A absorção e a oxidação do caroteno variam de acordo com a ingestão (YUYAMA *et al*., 2013).

A degradação de vitamina A geralmente é paralela à degradação oxidativa de lipídios insaturados. Fatores que promovem a oxidação de lipídios insaturados aumentam a sua degradação, tanto por oxidação direta ou por efeitos indiretos de radicais livres (GREGORY, 1996).

Por volta de 1.500 a.C., os chineses já recomendavam o uso de fígado e mel no tratamento da cegueira noturna. Antes de 1913, quando McCollum e Davis descreveram a vitamina A lipossolúvel e sua importância, muitos tratados relataram efeitos do consumo de fígado sobre várias doenças dos olhos (BIESALSKI e GRIMM, 2007).

Por muito tempo, a pesquisa da vitamina A centrou-se nos mecanismos moleculares do ciclo visual; seus efeitos sobre a diferenciação celular e o crescimento só foram descobertos no começo da década de 1980, despertando o interesse por essa vitamina em pesquisas médicas e de biologia molecular (BIESALSKI e GRIMM, 2007).

A vitamina A tem várias funções, sendo importante para a visão normal, expressão de genes, reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e função imune. A ingestão insuficiente de vitamina A ou de seus precursores, durante um longo período, origina diversas anormalidades, entre as quais, perda de apetite e de peso, alterações epiteliais, diminuição na resistência às infecções e hipovitaminose A, que acarreta uma síndrome ocular - a xeroftalmia-, a qual pode conduzir a um quadro de cegueira irreversível. (PENTEADO, 2003; YUYAMA *et al*., 2013).

A deficiência em vitamina A é um problema de saúde pública e provavelmente a causa mais importante a ser combatida para a prevenção da cegueira em crianças de países em desenvolvimento. Mundialmente, a deficiência em vitamina A está em segundo lugar em relação aos problemas nutricionais, mesmo os países mais desenvolvidos, ficando atrás apenas do ferro (COZZOLINO, 2009)

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que a cada ano, entre 250 e 500 mil crianças em idade pré-escolar percam a visão, parcial ou totalmente, pela falta de vitamina A, e dois terços delas morram dentro de poucos meses após ficarem cegas (YUYAMA *et al*., 2013). No Brasil, onde a

hipovitaminose A é considerada uma das principais deficiências na área de Saúde Pública, a larga distribuição destes pigmentos em frutos e vegetais, aliada ao alto custo dos alimentos de origem animal que contêm vitamina A pré formada, contribuem para que os carotenóides sejam uma importante fonte deste nutriente na dieta humana (SIMPSON, 1983; TEE e LIM, 1991).

Em função dos aspectos biológicos e médicos envolvidos, tem sido feito a seguinte distinção: o termo vitamina A aplica-se a todos os compostos que possuem o efeito dessa vitamina (retinol e éster de retinila). Diferentes desses são os retinóides, que exercem apenas alguns dos efeitos dessa vitamina no corpo (não influenciam a espermatogênese nem o ciclo visual). Essa ultima definição aplica-se ao ácido retinóico sintético, fornecido por via exógena, e a seus derivados. O ácido retinóico não tem os mesmos efeitos do retinol, uma vez que é o produto final de uma via metabólica irreversível e não pode ser metabolizada neste ultimo (BIESALSKI e GRIMM, 2007).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo foi abordado de uma maneira geral as 3 vitaminas antioxidantes (vitaminas C, E e A) pois foram contempladas no presente estudo. A revisão da literatura foi um passo essencial para a compreensão desde a formação até a absorção destas vitaminas, facilitando o entendimento sobre a importância delas para os organismos vivos. As vitaminas não possuem funções estruturais assim como o seu catabolismo não fornece energia. Apesar de as vitaminas compartilharem essas características geraiselas possuem pouca similaridade estrutural ou funcional sendo classificadas de um maneira empírica.

A abordagem para o estudo destas vitaminas deve ser individualizado contemplando as características individuais, para então em um segundo momento compreender possíveis interações tanto na matriz (alimento) como no organismo vivo.

A pesquisa de novas fontes alimentares de vitaminas é de grande relevância, pois mesmo com o aumento da oferta alimentar devido ao incremento da tecnologia de produção o uso exacerbado de reservas naturais pode trazer prejuízos a longo

prazo diminuindo a oferta de alimentos. A produção sustentável de alimentos vem tomando importância pois utiliza-se de ferramentas que não agridem a natureza preservando e objetivando a menor interferência possível nos processos naturais, visando alimentos de qualidade e com segurança.

6. REFERÊNCIAS

AGOSTINE-COSTA, T.S.; ABREU, L.N.; ROSSETTI, A.G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.1, p.56-58, 2003.

AKSU, Z.; EREN, A.T. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal**,v.35, p.107–113, 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides. In: PENTEADO, M.D.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. cap.1, p.1-52.

ARRIGONI, O.; DE TULLIO, M.C. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.781–788, 2000.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, v.39, n.3, p.231-255, 2000.

BALL, G.F.M. **Bioavailability and analysis of vitamins in foods**. New York: Chapman & Hall, 1998. p.163-193.

BARTLEY, G.E.; SCOLNIK, P.A. Plant carotenoids: Pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. **The Plant Cell**, v.7, p.1027–1038, 1995.

BENDER, D.A. **Nutritional Biochemistry of the Vitamins**. Cambridge University Second Edition, 2003.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M.D.V.C. Vitamina E. In: PENTEADO, M.D.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. cap.4, p.121-164.

BIESALSKI, H.K.; GRIMM, P. **Nutrição: texto e atlas**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 400p.

BRITTON, G.; KHACHIK, F. Carotenoids in food. In: G. BRITTON, S.; LIAAEN-JENSEN, H.P. **Carotenoids. Nutrition and health**, v.5, p.45–66, Basel: Birkhäuser Verlag, 2009.

CARRASQUEDO, F.; GLANC, M.; FRAGA, C.G. Tissue damage in acute myocardial infarction: selective protection by vitamin E. **Free Radical Biology and Medicine,** v.26, p.1587-1590, 1999.

COHN, W. Bioavailability of vitamin E. **European Journal ofClinical Nutrition***.* v.51, p.S80–S85, 1997.

COMBS JR, G. **The Vitamins**, 4.ed. Print Book, Academic Press, 2012.

DAMODARAN, S. **Química de alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2010.

DAVIES, B.H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. 2.ed. New York: Academic Press, v.2, p.38-165, 1976.

DAVIES, M.B.; AUSTIN, J.; PARTRIDGE, D.A. **Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry**. Cambridge:Royal Society of Chemistry, 1991.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPES, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and storage. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.40, p.173, 2000.

DESAI, I.D.; MACHLIN, L.J. Vitamin E. In: AUGUSTIN, J.; KLEIN, B.P.; BECKER, S.; VENUGOPAL, P.B. **Methods of vitamin assay**, 4th ed, p. 255–281, New York: Wiley, 1985.

DIETARY Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc (2000). Disponível em: http://books.nap.edu/openbook.php?isbn=0309072794. Acesso em: 09/07/12.

NIKI, E.; NOGUCHI, N.; TSUCHIHASHI, H.; GOTOH, N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, p.1322S‑1326S, 1995.

EVANS, H.M.; BISHOP, K.S. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. **Science.** v.56, p.650, 1922.

GREGORY III, J.F. Vitamins. IN: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3ª ed. Series Food Science and Technology; v.76. 1996. p.531-616.

DU, J.; BUETTNER, G.R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer, **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1826, n.2, 2012.

JOHNSON, E.A.; SCHROEDER W.A. Singlet oxygen and peroxyl radicals regulate carotenoids biosynthesis in Phaffia rhofozyma. **The Journal of Biological Chemistry**, v.270, n.4, p.374, 1995.

JOHNSTON, C.S., STEINBERG, F.M., RUCKER, R.B. Ascorbic acid. In: ZEMPLENI, J.; RUCKER, R.B.; MCCORMICK, D.B., SUTTIE, J.W. **Handbook of Vitamins**. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, pp. 489–520, 2007.

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

LIU, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, n.134, v.12, p.3479S–3485S, 2004.

LOCK, K.; POMERLEAU, J.; CAUSER, L.; ALTMAN, D.R.; MCKEE, M. The global burden of disease attributable to low consumption of fruit and vegetables: Implications for the global strategy on diet. **Bulletin of the World Health Organization**, 83, 100–108, 2005.

MACHLIN, L.J. **Handbook of vitamins**. Marcel Dekker, Inc., p.1-57, 1990.

MALDONADE, I.R.; SCAMPARINI, A.R.P.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; Selection and characterization of carotenoids-producing yeasts from Campinas region, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, p.38, v.65, 2007.

MARASCO, E.; SCHMIDT-DANNERT, C. “Towards the biotechnological production of aroma and flavor compounds in engineered microorganisms.” **Applied Biotechnology, Food Science and Policy**. n.1, v.3, p.145-157, 2003.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M.I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantes” naturales. **CTC Alimentación**, v.26, p.108–113, 2005.

ROCHA, A.V., COMINETTI, C., COZZOLINO, S.M.F. Vitamina C, in: COZZOLINO, S.M.F., COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Barueri, SP: Manole, 2013.

SÁNCHEZ-CONTRERAS, A.; JIMÉNEZ, M.; SANCHEZ, S. Bioconversion of lutein to products with aroma. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.54, p.528, 2000.

SILVA, V.L.; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina C (Ácido Ascórbico). In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3.ed. Barueri: Manole, 2009. cap.13, p.354-373.

SIMPSON, K.L. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. **Proceeding of the Nutrition Society**, v.42, p.7-17, 1983.

SMIRNOFF, N. Ascorbic acid metabolism and functions of a multifaceted molecule. **Current Opinion in Plant Physiology,** v.3, p.229–235, 2000.

TEE, E.S.; LIM, C.L. The analysis of carotenoids and retinoids: a review. **Food Chemistry**, v.41, p.147-93, 1991.

TORRES, A.; GUINAND, J.; GUERRA MODERNELL, M. Propiedades nutricionales y estabilidad de los componentes de los alimentos. In: GUERRA MODERNELL, M. **Efecto del procesamiento sobre la calidad nutricional de los alimentos**. Caracas, Venezuela: CYTED, 2003. cap.1, p.1-18.

WEISER, H.; VECCHI, M. Stereoisomers of α-acetate. II Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research,** v.52, p.351–370, 1982.

YUYAMA, L.; YONEKURA, L.; AGUIAR, J.P.L.; SOUZA, A.S.; ENRICONI A.; FABE, M.A.; LIRA, K.S. Vitamina A, in: COZZOLINO, S.M.F.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2013.

Capítulo 3:

Composição química e comparação com os parâmetros de qualidade do pólen apícola produzido em apiários georrefenciados da região Sul do Brasil

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o interesse pelo consumo do pólen apícola como um suplemento natural tem aumentado muito, principalmente na Europa (Ocidental e Oriental) e nos Estados Unidos, fazendo com que muitos pesquisadores dediquem-se ao seu estudo (EATON e LAW, 2000). Além do Brasil, apenas alguns países como Suíça e Argentina têm reconhecido legalmente o pólen apícola como um complemento alimentar e apresentando seu padrão de identidade e qualidade, assim como os limites de cada parâmetro a ser analisado. Embora comercializado em muitas lojas de alimentos naturais, o pólen não é considerado um complemento alimentar pela "*Food and Drug Administration*" (FDA) dos Estados Unidos e não tem sido comercializado com padrões especiais (KRELL, 1996; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005).

A produção brasileira é estimada em 200 toneladas ao ano segundo dados de 2006 (BARRETO, 2006), sendo os maiores estados produtores Santa Catarina, Paraná e Bahia. Apesar da região Sul do Brasil ser um dos polos produtores e exportadores de pólen apícola desidratado do país, existem poucos dados sobre a sua composição e avaliação da qualidade deste produto voltados para a região, que possui clima tropical a subtropical com floradas típicas e que diferem do resto do país.

Dentre inúmeras ferramentas para o desenvolvimento sustentável da apicultura, o mapeamento das áreas apícolas e a caracterização ambiental e de potencial produtivo destas, são a base para um planejamento de gestão de qualidade da apicultura (BARROS et al., 2008). O georreferenciamento é a utilização de dados espaciais georreferenciados dentro de sistemas computadorizados, através de ferramentas denominadas Sistema de Informação Geográficas (SIG). O SIG é imprescindível para o processo de reconhecimento da indicação geográfica, sendo um conjunto de ferramentas para coletar, armazenar, recuperar, transformar e visualizar dados sobre o mundo real, com um determinado propósito (BURROUGH e MC-DONNELL, 1998).

Uma das ferramentas utilizadas para georreferenciamento é o Sistema de Posicionamento Global (Global Positioning System - GPS) que consiste na aquisição de dados por satélites com posições conhecidas espalhados pela órbita da Terra,

gerando informações que possibilitam o cálculo de pontos desconhecidas na terra, mar e ar (MIRANDA, 2005). A utilização do georreferenciamento permite melhorar a localização dos apiários e aumentar a produção, pois pode evitar a saturação das áreas visitadas pelas abelhas africanizadas.

2. OBJETIVO

Determinar a composição química (umidade, proteínas, lipídios, cinzas, glicose e frutose) do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciadosda região Sul do Brasil e comparar com os parâmetros de qualidade indicados pela legislação brasileira.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Amostragem

Foram obtidas 21 amostras de pólen apícola *in natura* de diferentes origens botânicas no período de agosto de 2011 a março de 2012, em apiários localizados na região Sul do Brasil, estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Previamente foi realizada uma avaliação dos apiários cujos apicultores fossem cadastrados na Confederação Brasileira de Apicultura (CBA) que é o órgão representativo da apicultura brasileira, e após definidas as localidades de instalação do material necessário para a coleta do pólen nas diferentes regiões, foram enviados alguns coletores de pólen apícola para os apiários que não possuíam tal material em número ideal para a coleta de quantidades adequadas.

Na figura 8 e 9, são demostradas uma colmeia de abelhas *Apis mellífera* com coletor de pólen (compartimento de cor verde) (8) e a gaveta com pólen estocado (lateral esquerda da colmeia) (9).

Figura 8. Colmeia com um coletor de pólen apícola tipo Intermediário instalado. [Foto: Aroni Sattler].

Figura 9. Gaveta com pólen apícola *in natura* estocado. [Foto: Aroni Sattler].

As amostras foram coletadas, estocadas e transportadas, pelos apicultores responsáveis, obedecendo os seguintes critérios:

- As amostras deveriam ser coletadas *in natura*, ou seja, diretamente do coletor de pólen em períodos de floração máxima de plantas poliníferas;
- As amostras deveriam ser identificadas de acordo com a origem botânica (presumida pelo apicultor), período de coleta e georreferenciadas através da posição geográfica (GPS) do apiário;

- As amostras deveriam ser transportadas em embalagens plásticas hermeticamente fechadas, sendo que o pólen apícola deveria ser enviado congelado assegurando-se que mantivesse esta condição durante o transporte. Para isso todas as amostras foram enviadas para o Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP em caixas de isopor abastecido com gelo em gel.

- Obrigatoriamente o envio das amostras deveria ser realizado pelo sistema SEDEX dos Correios Brasileiros (entrega em 24h).

3.1.2 Georreferenciamento dos apiários

Os apicultores participantes da pesquisa foram instruídos a marcarem um ponto do apiário de coleta considerado central com a utilização de equipamento GPS. Neste estudo a maioria dos apicultores possuía equipamento para a realização da marcação, nos casos em que o apicultor não possuísse foi realizado deslocamento até o local para marcação dos pontos. A junção dos dados de GPS foi realizada com a utilização do programa *Google Earth*®, onde foi possível definir os locais em um plano.

A Tabela 2 mostra as informações de coleta das amostras de pólen apícola *in natura*, mês de coleta, estado/município e posição geografia do apiário (GPS) e tipo de embalagem.

Tabela 2 – Informações sobre as amostras de pólen apícola *in natura*, apiário de coleta, mês de coleta, estado/município, posição geografia do apiário (GPS) e tipo de embalagem.

Amostras	Apiário de coleta	Data de coleta	Estado/Município	GPS do apiário	Embalagem
1	A	ago/11	RS - Cruz Alta	S 28° 37' 35. 94" / O 53° 37' 57.66"	Saco plástico transparente
2	B	ago/11	RS - São Gabriel	S 30° 15' 27.72” / O 54° 28' 59.41”	Pote plástico
3	B	set/11	RS - São Gabriel	S 30° 15' 27.72” / O 54° 28' 59.41”	Pote plástico
4	B	set/11	RS - São Gabriel	S 30° 15' 27.72” / O 54° 28' 59.41”	Pote plástico
5	C	out/11	RS - São Gabriel	S 30° 27' 13.09" / O 54° 22' 08.51"	Saco plástico transparente
6	D	out/11	RS - Erechim	S 27° 37' 17.05” / O 52° 15’ 28.91”	Saco plástico transparente
7	E	out/11	RS - Cambará do Sul	S 28° 54' 45.06" / O 50° 04' 58.45”	Pote plástico
8	E	nov/11	RS - Cambará do Sul	S 28° 54' 45.06" / O 50° 04' 58.45”	Pote plástico
9	F	nov/11	PR - União da Vitória	S 26° 10' 50.78” / O 51° 07’ 16.25”	Saco plástico transparente
10	F	nov/11	PR - União da Vitória	S 26° 10' 50.78” / O 51° 07’ 16.25”	Saco plástico transparente
11	G	nov/11	PR - União da Vitória	S 26° 10' 38.80” / O 51° 05’ 46.30”	Saco plástico transparente
12	H	nov/11	PR - União da Vitória	S 26° 10' 36.45” / O 51° 05’ 45.17”	Saco plástico transparente
13	I	dez/11	SC - São José	S 27º 34' 00.35’’ / O 48º 43' 18.27’’	Pote plástico
14	I	dez/11	SC - São José	S 27º 34' 00.35’’ / O 48º 43’ 18.27’’	Pote plástico
15	I	dez/11	SC - São José	S 27º 34’ 00.35’’ / O 48º 43’ 18.27’’	Pote plástico
16	J	dez/11	SC - Urubici	S 27° 57’ 10.00” / O 49° 54’ 54.50”	Saco plástico transparente
17	K	dez/11	RS - Ijuí	S 28° 21’ 41.14” / O 53° 50’ 34.84”	Pote plástico
18	L	dez/11	PR - Lapa	S 25º 48’ 50.27’’ / O 49º 46’ 48.27’’	Saco plástico transparente
19	M	dez/11	PR - Palmeira	S 25º 41’ 12.58" / O 50º 09’ 32.56"	Saco plástico transparente
20	A	dez/11	RS - Cruz Alta	S 28° 37' 35. 94" / O 53° 37' 57.66"	Saco plástico transparente
21	A	mar/12	RS - Cruz Alta	S 28° 37' 35. 94" / O 53° 37' 57.66"	Saco plástico transparente

Na Figura 10, é apresentado o mapa geográfico da região Sul do Brasil e a localização (GPS) dos 13 apiários participantes da pesquisa.

Figura 10. Mapa geográfico da região Sul do Brasil e localização dos apiários (GPS).

Na Figura 11 são apresentadas as 21 amostras de pólen *in natura*.

Figura 11. Amostrasde pólen apícola *in natura*.
[Foto: José Augusto G. Sattler]

3.2 Métodos

3.2.1 Processamento (desidratação) das amostras

O processo de desidratação do pólen apícola é um dos métodos comumente utilizados para a conservação do produto. Para o processo de desidratação das amostras foi utilizado uma estufa secadora de alimentos da marca Fabbe-Primar, a uma temperatura de 42ºC conforme recomendação da legislação brasileira (BRASIL, 2001) e utilizou-se um período de 20 horas de processamento baseado em estudos preliminares.

Na Figura 12 pode-se observar a estufa utilizada para secagem das amostras *in natura* de pólen apícola.

Figura 12. Estufa utilizada para secagem das amostras *in natura* de pólen apícola. [Foto: José Augusto G. Sattler]

3.2.2 Determinação de umidade

A metodologia utilizada para determinar a umidade das amostras foi a gravimétrica utilizando-se balança eletrônica de precisão Micronal (B160), adaptada com secador infravermelho Mettler Toledo (LP16), conforme indicado por Melo e Almeida-Muradian (2011) e Arruda *et. al* (2013).

As amostras foram primeiramente trituradas em moinho analítico da marcaIka-Werckev (M20) e cerca de um grama destas foi submetido à temperatura de 85ºC na balança de infravermelho, sendo as análises realizadas em triplicata.

3.2.3 Determinação da composição centesimal

Foram realizadas as seguintes determinações, conforme metodologias descritas por Almeida-Muradian et al. (2012): nitrogênio total - proteínas, através do método Micro-Kjeldahl (utilizando-se o fator 6,25 para transformação do nitrogênio total em proteínas); extrato etéreo - lipídeos, utilizando extrator intermitente de Soxhlet e éter etílico como solvente; e, resíduo mineral fixo - cinzas, por gravimetria em mufla a 550°C até peso constante (com prévia incineração das amostras). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.2.4 Determinação de açúcares (glicose e frutose)

A extração e determinação dos açúcares glicose e frutose foi realizada conforme descrito por Almeida-Muradian *et al.* (2012), em banho-maria com tempo e temperatura controlados e clarificação com soluções Carrez I e Carrez II sendo a quantificação efetuada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Procedimento: As amostras foram previamente pesadas (2 gramas), previamente trituradas, em Erlenmeyer de 125 mL e adicionados 30 mL de água a 40ºC e após mantidas em banho-maria sob fervura (60ºC) por 15 minutos, com agitação constante. Ainda no banho-maria sob fervura (60ºC), sob agitação constante, adicionar 2 mL de cada solução Carrez. Resfriar à temperatura ambiente. Completar os volumes para 50 mL, com água deionizada. Filtrar sobre membrana e injetar no cromatógrafo. A separação ocorre em fase móvel acetonitrila e água (85:15), fluxo de 1 mL/min, volume de injeção: 20 µL, coluna NH_2 de fase normal (5 µm, 25 cm x 4,6 mm com pré-coluna de 10 cm x 4,6 mm), detector de índice de refração (RID) e temperatura da coluna de 40ºC. A quantificação foi realizada por padronização externa e as análises realizadas em triplicata.

3.2.5 Análise estatística

Os experimentos foram realizados de forma inteiramente casualizada e todos os dados obtidos foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Na constatação de que foram satisfeitas as condições para aplicação dos testes estatísticos paramétricos de comparação de médias, foi realizado o teste de existência de associação entre as variáveis: estado e composição centesimal (cinzas, lipídeos, proteínas, umidade*in natura* e desidratado, glicose e frutose) sendo utilizada a correlação de Pearson e adotando-se o coeficiente de correlação (r) como parâmetro para avaliar a natureza (diretamente ou inversamente proporcionais) e a intensidade dessa correlações (0 a 1, sendo 1 indicativo de correlação máxima).

Nos conjuntos de dados em que não foram observadas distribuição normal e, principalmentea homogeneidade das variâncias, testes estatísticos não-paramétricos foram adotados. Para os testes de correlação, foi adotada a correlação de

Spearman. Os resultados foram expressos como média dos resultados ± desvio padrão. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS 10.0 e adotando-se nível de significância de 5% ($p<0,05$).

Para a verificação de diferenças entre os parâmetros de composição (cinzas, lipídeos, proteínas, umidade*in* natura e desidratado, glicose e frutose) foi utilizada a análise de Variância Bidimensional (Two-way ANOVA) seguida dos testes LSD (Least Significant Difference) para verificar tendência e de Bonferroni para verificar veracidade dos dados.

3.2.6 Tratamento dos resíduos químicos

Os resíduos químicos gerados foram encaminhados para serem descartados, junto ao programa de tratamento de resíduos químicos da FCF/USP (Comissão de Descartes Laboratoriais).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conhecimento da composição química do pólen apícola desidratado é importante para tipificar o produto obtido nas diferentes regiões. Os resultados das análises químicas de composição química e de açúcares (glicose e frutose), bem como os dados da Regulamentação Brasileira (BRASIL, 2001), Argentina (KRELL, 1996; CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO, 1990) e Suíça (BOGDANOV *et al.*, 2004) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise da composição química e de açúcares (glicose e frutose) das amostras de pólen apícola desidratado e as especificações da regulamentação Brasileira (BRASIL, 2001), Argentina (CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO, 1990) e Suíça (BOGDANOV, 2004).

Amostras	Análise Química** (%)						
	Umidade *in natura*	Umidade desidratado	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Açúcares	
						Glicose	Frutose
1	18,90±0,15	2,84±0,24	22,99±0,05	4,68±0,44	2,20±0,01	5,34±0,40	5,24±0,49
2	14,83±0,10	**4,27±0,12**	26,62±0,21	7,09±0,65	2,40±0,09	NR	NR
3	10,95±0,11	3,68±0,07	24,46±0,18	6,20±0,44	2,71±0,06	7,95±0,32	5,64±0,25
4	14,50±0,06	3,25±0,22	20,90±0,18	5,13±0,90	2,24±0,04	6,75±0,34	5,11±0,26
5	11,82±0,23	2,76±0,28	23,23±1,36	2,53±0,06	2,66±0,10	7,52±0,32	6,12±0,27
6	29,02±0,16	2,74±0,12	22,36±0,10	2,19±0,18	2,41±0,04	5,85±0,42	4,58±0,48
7	13,80±0,17	**4,44±0,07**	26,76±0,11	2,52±0,58	2,54±0,02	7,97±0,09	6,62±0,02
8	15,02±0,27	3,79±0,16	20,59±0,11	4,56±0,32	2,16±0,06	8,50±0,23	7,00±0,25
9	12,68±0,09	2,73±0,24	17,13±1,04	4,47±0,61	1,79±0,05	8,29±0,46	6,27±0,47
10	16,65±0,09	2,66±0,11	15,19±1,30	6,17±0,29	1,05±0,28	8,48±0,65	6,59±0,50
11	24,96±0,08	2,42±0,27	15,76±0,10	2,86±0,19	1,96±0,04	6,59±0,10	5,77±0,25
12	16,44±0,30	3,72±0,10	22,43±1,48	4,04±0,97	2,31±0,39	8,12±0,34	5,46±0,25
13	19,47±0,18	3,37±0,22	15,44±0,48	3,54±0,20	1,93±0,41	6,48±0,79	5,10±0,27
14	24,11±0,14	1,55±0,12	13,29±0,27	**1,11±0,38**	1,57±0,12	5,27±0,14	4,18±0,15
15	15,52±0,19	1,00±0,01	12,25±0,31	**0,91±0,05**	1,31±0,12	4,32±0,16	3,44±0,14
16	12,96±0,11	**5,10±0,17**	20,24±0,21	1,89±0,40	2,15±0,12	8,86±0,28	6,86±0,25
17	21,65±0,14	**4,19±0,24**	21,57±0,21	1,97±0,06	1,56±0,10	6,76±0,86	5,60±0,53
18	17,43±0,17	3,69±0,13	19,51±1,69	3,80±0,47	1,60±0,17	5,71±0,16	4,75±0,20
19	9,69±0,22	**4,73±0,08**	13,28±0,01	**0,37±0,01**	1,59±0,53	4,96±0,49	3,94±0,59
20	13,42±0,10	2,54±0,11	24,95±1,07	**1,59±0,10**	2,42±0,12	5,96±0,62	4,60±0,62
21	13,67±0,19	**5,33±0,32**	16,76±0,76	4,56±0,28	1,89±0,07	5,64±0,23	4,88±0,23
Valor Médio (%)	16,55±0,15	3,37±0,16	19,80±0,53	3,44±0,36	2,02±0,14	6,77±0,37	5,39±0,32
Regulamentação Brasileira (%)	Máximo de 30	Máximo de 4	Mínimo de 8	Mínimo de 1,8	Máximo de 4	-	-
Regulamentação Argentina (%)	-	Máximo de 8	Entre 15 e 28	-	Máximo de 4	-	-
Regulamentação Suíça (%)	-	Máximo de 6	Entre 10 e 40	Entre 1 e 10	Entre 2 e 6	-	-

* Resultados expressos em base seca através da média ± desvio padrão de análises em triplicata.

** Amostras em negrito apresentam valores fora do estabelecido pela legislação brasileira. NR = Não realizado.

Os resultados apresentados para umidade mostraram grande variação entre as amostras, com o valor mínimo de 9,69% e o máximo de 29,02% para o pólen *in natura*, e valor mínimo de 1,00% e máximo de 5,33% para o pólen apícola desidratado. A grande variação encontrada de umidade no pólen apícola *in natura* pode ser explicada conforme Marchini, Reis e Moreti (2006) devido a alta higroscopicidade do pólen apícola, que é afetado por condições ambientais. Porém, todas as 21 amostras apresentaram valores que estão de acordo com a legislação brasileira, que estabelece um máximo de 30%. Já entre as amostras desidratadas, seis lotes (2, 7, 16, 17, 19, 21) apresentaram umidade acima de 4% conforme estabelecido pela legislação brasileira. Esses mesmos valores, no entanto, estão adequados as legislações Argentina e Suíça.

Barreto *et al*. (2006) analisaram amostras de pólen apícola desidratado provenientes de diferentes regiões brasileiras e encontraram teores de umidade maiores que aqueles aqui apresentados, variando de 2,09 a 6,75%. Entretanto, o método utilizado para a realização desta análise foi a secagem em estufa a 105 graus Celsius, conforme recomendado pelo manual de normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz; enquanto neste trabalho, utilizou-se a técnica de determinação de umidade por Infravermelho. O valor médio de umidade das 21 amostras desidratadas (3,37%) do presente trabalho também foi menor do que o encontrado por Carpes (2008) de 4,19%, que avaliou amostras desidratadas (n=36) de pólen apícola coletadas na região sul do Brasil; e por Morgano et al. (2011) de 5,82%, que avaliaram amostras (n=154) de pólen desidratado de diferentes regiões geográficas do Brasil. Estes autores também utilizaram técnicas para a determinação de umidade diferentes das apresentadas neste trabalho: a secagem em estufa a vácuo a 60 graus Celsius e a titulação por Karl Fischer, respectivamente.

A variação de umidade encontrada pela utilização de diferentes técnicas pode ser melhor compreendida através do estudo de Melo e Almeida-Muradian (2011), onde foram verificados seis métodos: secagem convencional a 100°C, secagem à vácuo a 70°C, dessecador com ácido sulfúrico, secagem com luz infravermelha a 85°C, liofilização e Karl Fisher. Foi constatado que os métodos que utilizam calor apresentaram valores mais elevados de umidade, com exceção do método por luz infravermelha que utiliza uma exposição ao calor por curto tempo. Os autores concluíram que os melhores métodos para determinação de umidade em amostras

de pólen apícola foram a liofilização e luz Infravermelha, uma vez que apresentaram os valores mais baixos de umidade e não diferiram estatisticamente entre si.

No presente trabalho buscou-se a desidratação das amostras utilizando o indicado pela legislação brasileira (BRASIL, 2001), que estipula a secagem a temperatura de 42ºC até atingir percentual de 4%; sendo padronizado 20 horas de desidratação para todas as amostras utilizadas neste trabalho. Entende-se que esta temperatura e tempo deveriam ser suficientes para que qualquer amostra de pólen apícola desidratado ficasse abaixo de 4% de umidade. Porém, com os resultados obtidos utilizando-se o método gravimétrico com radiação infravermelha acoplada a balança eletrônica de precisão Micronal (B160), pode-se constatar que para algumas amostras esta temperatura e tempo podem não ser adequados para atingir 4% de umidade máxima. Este achado vai de encontro ao relato de Morgano et al. (2011), mostrando que é difícil para os apicultores manter o conteúdo de água do pólen apícola desidratado abaixo de 4%, como recomenda a legislação brasileira. As legislações Argentina e Suíça preconizam valores máximo de umidade do pólen apícola desidratado de 8 e 6%, respectivamente. As legislações brasileira e suíça não esclarecem qual o método deve ser utilizado para a determinação da umidade, enquanto que a legislação argentina preconiza a utilização da metodologia gravimétrica de secagem a vácuo a 65ºC.

Campos *et al.* (2008) publicaram uma revisão propondo critérios de qualidade para o pólen apícola baseado em experiências de diferentes países, incluindo trabalhos do nosso grupo, na esperança de que no futuro ele possa ser utilizado como padrão internacional para o pólen apícola. Neste artigo os autores propõe que o pólen apícola seja submetido a processo de secagem e que o conteúdo final de água não ultrapasse 6%. Entretanto eles relatam a necessidade de validação dos métodos utilizando estudos interlaboratoriais afim de estabelecer metodologias seguras para utilização internacional.

Outros trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa mostraram resultados com pequenas variações na umidade de amostras de pólen apícola desidratadas, utilizando a mesma técnica de radiação infravermelha.Oliveira em 2006, ao analisar amostras de pólen apícola desidratado (n=10) coletadas no Estado de São Paulo nos meses de abril e outubro de 2005 encontrou valores de umidade que variaram entre 2,5 e 3,5%, todas amostras estavam dentro dos limites

estabelecidos pela legislação. Já em 2008, em pesquisa realizada por Melo, encontrou valores de umidade de amostras de pólen apícola desidratado (n=6) do Estado de São Paulo (cidade de Pariquera-Açu) que variaram de 3,62 a 5,74%; a maioria dos valores (n=4) estava um pouco acima do valor máximo de 4%. Arruda em 2013analisou amostras (n=7) também do Estado de São Paulo (cidade de Pariquera-Açu) e encontrou valores de umidade de pólen apícola de 3,16 a 3,99% (desidratado), ou seja todas amostras estavam dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira.

Os resultados aqui apresentados e discutidos mostram que não só as variações regionais e ambientais, mais também as técnicas utilizadas, tanto para a desidratação das amostras de pólen apícola como para a determinação da umidade, podem influenciar os valores de umidade levando a muitos resultados divergentes.A determinação de umidade é uma das medidas mais importantes para a análise de alimentos, pois está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição podendo afetar os seguintes itens: estocagem, embalagem e processamento (CECCHI, 2003; GARCIA-AMOEDO e ALMEIDA-MURADIAN, 2002). Sendo a umidade do pólen apícola um parâmetro de qualidade para este produto, existe a necessidade de se padronizar os métodos de desidratação das amostras de pólen apícola, bem como a determinação posterior de sua umidade, para que estes métodos possam estar estabelecidos não só na legislação brasileira como internacionalmente.

Com relação aos teores de proteínas, Roulston *et al*. (2005) relatam que os valores deste nutriente no pólen apícola podem variar de 12% a 61%,dependendo da origem botânica. Nos 21 lotes estudados, os valores de proteína variaram de 12,25 a 26,76%, estando todos de acordo com as legislações brasileira e suíça. Porém, algumas amostras encontraram-se abaixo do limite mínimo de 15% estipulado pela legislação argentina. O valor médio de 23,64% de proteína encontrado no presente trabalho está de acordo com estudos obtidos por Funari *et al*. (2003) que encontraram valor médio de proteínas de 26,2% em amostras de pólen apícola desidratado de São Paulo; Bastos *et al.* (2003), que encontraram 21,2% de proteínas em amostras de pólen apícola dos Estados de São Paulo e Minas Gerais; Almeida-Muradian et al. (2005), que encontraram valor médio de

21,0% em amostras do sul do Brasil; Marchini, Reis e Moreti (2006), com valor médio de 21,4% em amostras de São Paulo.

Os valores de lipídios encontrados no presente trabalho variaram de 0,37 a 7,09%, sendo quequatro amostras (14, 15, 19 e 20) apresentaram valores abaixo do limite mínimo de 1,8% preconizado pela legislação brasileira, enquanto que as amostras 15 e 19 ficaram abaixo do valor mínimo recomendado pela legislação suíça. Segundo a literatura internacional (Farag *et al*., 1978; Roulston e Cane, 2000), os valores médios de lipídios podem atingir uma ampla variação de 0,8 a 31,7%, e isso se deve principalmente a origem botânica e genética da planta. No presente trabalho a média de lipídios (3,4%) encontrada está de acordo com a média observadas por outros autores como Marchini, Reis e Moreti (2006), que encontraram valor médio de lipídios de 3,6% em lotes de São Paulo, e Barreto *et al*. (2006), que obtiveram valor médio de 3,8% em lotes provenientes de varias regiões do Brasil. Entretanto, valores menores foram encontrados por Funari *et al*. (2003), Bastos *et al*. (2003), Melo *et al.*(2009), Arruda *et al.*(2013); em amostras também de São Paulo que tiveram as seguintes médias: 5,1%; 8,8%; 4,9% e 5,4%, respectivamente. Enquanto Almeida-Muradian *et al.* (2005) e Carpes (2009) encontraram valores médios de 7,0% e 4,9%, respectivamente, em amostras da região sul do Brasil.

Com relação ao de cinzas as amostras variaram de 1,0 a 2,7% com valor médio de 2,0%, assim todas as amostras encontraram-se dentro da recomendação da legislação brasileira. Resultados semelhantes foram observados por Bastos *et al*. (2003), Barreto *et al*. (2006) e Marchini, Reis e Moreti (2006) que encontraram valores médios de 2,8%, 2,9%, 2,9%, respectivamente. Levando em consideração a legislação suíça, dez amostras do presente trabalho não atingiram o valor mínimo de 2% de cinzas. A presença de sujidades minerais, devido a processo de limpeza ineficiente podem aumentar os teores de cinzas, (Baldi Coronel *et al.*, 2004), que torna esta análise um importante marcador de qualidade para análise de pólen apícola (Orzáez Villanueva *et al*., 2002).

Conforme relatado por Martins *et al*. (2011), o grupo dos carboidratos representa o principal componente das amostras de pólen apícola; sendo frutose, glicose e sacarose os principais açúcares livres encontrados. Os resultados para açúcares do presente trabalho confirmam a presença de açúcares redutores no

pólen apícola, com níveis de glicose e frutose variando entre 4,32-8,86% e 3,44-7,00%, respectivamente. Embora estes resultados encontrem-se abaixo daqueles apresentados pelos autores acima utilizando amostras de diferentes regiões do Brasil, com níveis de glicose e frutose variando de 6,99-21,85% e 12,59-23,62%, respectivamente.

A Tabela 4 mostra os percentuais médios encontrados para a composição química e de açúcares (glicose e frutose), de acordo com o estado onde as amostras foram coletadas.

Tabela 4 – Percentuais médios (%) de composição química e de açúcares (glicose e frutose) das amostras de pólen apícola desidratado por estado.

Estado	Umidade *in natura*	Umidade desidratado	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Açúcares	
						Glicose	Frutose
RS (n=11)	16,39± 0,15	3,45± 0,18	**23,44± 0,39***	3,85± 0,36	2,33± 0,06	6,82± 0,38	5,54± 0,34
SC (n=4)	18,02± 0,16	2,76± 0,13	15,31± 0,32	1,86± 0,26	1,74± 0,19	6,23± 0,34	4,90± 0,20
PR (n=6)	16,31± 0,16	3,33± 0,16	17,22± 0,94	3,62± 0,42	1,72± 0,24	7,03± 0,37	5,46± 0,38
R.BR (%)	Máximo de 30	Máximo de 4	Mínimo de 8	Mínimo de 1,8	Máximo de 4	-	-
R.AR (%)	-	Máximo de 8	Entre 15 e 28	-	Máximo de 4	-	-
R.SU (%)	-	Máximo de 6	Entre 10 e 40	Entre 1 e 10	Entre 2 e 6	-	-

R.BR - Regulamentação brasileira. R.AR - Regulamentação argentina.

R.SU - Regulamentação Suíça.

* Média em negrito com diferença significativa ($p<0,05$) para o teste de ANOVA, confirmada pelos testes de LSD para ver tendência ($p<0,01$) e Bonferroni para veracidade ($p<0,01$).

De uma forma geral, não existiram diferenças estatisticamente significativas entre as médias da composição centesimal e de açúcares quando separadas por estado; com exceção das proteínas, onde foi possível observar valores médios significativamente maiores para as amostras coletadas no estado do Rio Grande do Sul em comparação as coletadas nos estados do Paraná e Santa Catarina. Embora a média para a porcentagem de lipídio encontrada no estado de Santa Catarina esteja no limite mínimo recomendado pela legislação brasileira e aponte uma

tendência para menores valores quando comparados aos outros dois estados, não foi encontrada diferenças significativas entre elas. De acordo com a tabela apresentada, as médias por estados mostram valores adequados de acordo com a legislação brasileira.

Os resultados apresentados na Tabela 4 não se assemelham com os valores apresentados por Carpes (2009), que também analisaram amostras de pólen apícola da região sul do Brasil. Estes autores encontraram porcentagens um pouco maiores para umidade, lipídios e cinzas, mas também não observaram diferenças para esses parâmetros entre os estados. Enquanto para os valores de proteínas, houve diferença entre os estados, porém a maior média foi relatada para o estado de Santa Catarina (22,6% - n=10). Os estados do Paraná e Rio Grande do Sul apresentam médias semelhantes: 20,3% (n=16) e 18,56% (n=10), respectivamente. Entretanto, mais recentemente, Martins *et al.* (2011) avaliaram 9 amostras do RS, 30 de SC e 10 do PR e apresentaram resultados para proteínas semelhantes aos encontrados no presente trabalho, com média significativamente maior para o estado do RS (21,71%). Os mesmos concluíram que as quantidades substanciais de proteínas do pólen apícola podem justificar o seu uso na alimentação humana, desde que um controle de qualidade efetivo seja assegurado.

5. CONCLUSÕES

A composição química mostrou valores variáveis entre as amostras de pólen apícola da região sul do Brasil, que pode estar relacionada à grande disponibilidade de espécies botânicas presentes na região. Isto mostra a necessidade de caracterizar a flora apícola de cada local de coleta, assim como o perfil polínico das amostras.

A maioria das amostras encontra-se de acordo com os parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira, embora o processo de desidratação indicado por esta legislação pode não ser adequado para que todos os tipos de pólen atinjam valores aceitáveis de umidade. Neste sentido, são necessários novos estudos a fim de padronizar os métodos de desidratação do pólen apícola, além de reavaliar os limites de umidade recomendados.

De uma forma geral, não houve diferença na composição química entre os estados, com exceção do teor de proteínas que foi significativamente maior nas amostras provenientes do Rio Grande do Sul. O fato do pólen apícola desta região apresentar valores elevados de proteínas e baixo teor de lipídios faz deste alimento um ótimo complemento alimentar.

É importante ressaltar que todas as amostras deste trabalho foram georreferenciadas, visando aumentar o conhecimento e caracterização dos locais de coleta e tornando-se um aliado também no controle de qualidade do pólen apícola; pois, com a identificação de não conformidades do produto final pode-se de maneira rápida identificar e contatar o produtor responsável visando a adequação do processo de produção.

Este trabalho contribui com informações importantes que ajudarão na atualização das recomendações e padronizações das legislações brasileira e internacional para a qualidade do pólen apícola.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; ARRUDA, V.S.; BARRETO, L. **Manual de controle de qualidade do pólen apícola**. São Paulo: APACAME, 28p. 2012.

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

ARRUDA, V.A.S.; PEREIRA, A.A.S.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

BALDI CORONEL, B.; GRASSO, D.; PEREIRA, S.C.; FERNÁNDEZ, G. Caracterización bromatológica Del pólen apícola argentino. **Ciencia, Docencia y Tecnología**, n.29, p.145-181, 2004.

BARRETO, L.M.R.C.; FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O. DIB, A.P.S; **Produção de pólen no Brasil**. Cabral Editora Universitária, 1ed. 2006.

BARROS, D.S.; SANTOS, C.S.V.; MELO, V.F.; LOPES, G.N. Mapeamento e Caracterização Ambiental das Áreas Apícolas dos Municípios de Mucajaí e Cantá do Estado de Roraima. **Agro@mbiente On-line**, v.2, n.1, 2008.

BASTOS, D.H.M.; ROCHA, C.I.; CUNHA, I.B.S.; CARVALHO, P.O.; TORRES, E.A.S. Composição e qualidade de pólen apícola comercializado em algumas cidades nos estados de São Paulo e Minas Gerais – Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, p.239-244, 2003.

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

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, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal, Acesso em: 23/07/2012.

BURROUGH, P.A.; MC-DONNELL, R. **Principles of Geographical Information Systems**. Oxford: Oxford University Press, 1998.

CARPES S. T. Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *apis mellifera* l. da região sul do Brasil. Curitiba, 2008. Tese de doutorado – Universidade Federal do Paraná.

CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO de pólen. Artículo 785 – Resolucion 1550 de 12 de dezembro de 1990. Capitulo X, página 15. Disponível em: http://www.apicultura.entupc.com/portal/legislacion/datos/polen.htm. Acesso em 12/07/2012.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 207p., 2003.

EATON, C.V.; LAW, R. Marketing apitherapy products and the challenge of government regulation. **Bee World**, v.81, n.3, p.109-115, 2000.

FARAG, R.S., YOUSEFF, A.M., EWIES, M.A. & HALLABO, S.A.S. Long-chain fatty acids of six pollens collected by honeybees in Egypt. **Journal of Apicultural Research,** n.17, p.100-104, 1978.

FUNARI, S.R.C.; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M.; FILHO, H.G.; CURI, P.R.; GOMES DIERCKX, S.M.A.; FUNARI, A.R.M.; OLIVEIRA ORSI, R. Composição bromatológica e mineral de pólen coletado por abelhas africanizadas (Apis mellifera L.) em Botucatu, Estado de São Paulo. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.11, n.2, p.88-93, 2003.

GARCIA-AMOEDO, L.H., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Comparação de metodologias para a determinação de umidade em geléia real. **Química Nova**, v.25, n.4, p.676-679, 2002.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. **FAOAgricultural Services Bulletin**. Rome, v.124, 87-113p, 1996.

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**, v.36, n.3, p.949-953, 2006.

MARTINS M. C. T. *et. al*. Physicochemical composition of bee pollen from eleven brazilian states. **Journal of Apicultural Science**, Vol. 55 No. 2, 2011.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.1, 2011.

MELO, I.L.P. Estabilidade das vitaminas antioxidantes em amostras de pólen apícola. São Paulo, 2008. 90p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

MIRANDA, J.I. **Fundamentos de Sistemas de Informações Geográficas**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 425p, 2005.

MORGANO, M. A.; MILANI, R.F.; MARTINS, M.C.T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by Karl Fischer titration. **Food Control**, v.22, p.1604-1608, 2011.

OLIVEIRA, K.C.L.S. Caracterização do pólen apícola e utilização de vitaminas antioxidantes como indicadoras do processo de desidratação. São Paulo, 2006. 106p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

ORZÁEZ-VILLANUEVA, M.T.; DÍAZ MARQUINA, A.; BRAVO-SERRANO, R. , BLAZQUEZ-ABELLÁN, G. - The importance of bee collected pollen in the diet: a study of its composition. **International Journal of Food Science and Nutrition**, n.53, p.217-224, 2002.

MARTINS, M.C.T.; MORGANO, M.A.; VICENTE, E.; BAGGIO, S.R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Physicochemical composition of bee pollen from eleven brazilian states. **Journal of Apicultural Science**, v.55, n.2, 2011.

ROULSTON, T.H. Pollen as a reward. In: DAFNI, A.; KEVAN, P.G.; HUSBAND, B.C. **Practical Pollination Biology**. Cambridge:Enviroquest, 2005. p.234–260.

MORGANO, M.A.; MILANI, R.F.; MARTINS, M.C.T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by Karl Fischer titration. **Food Control**, v.22, p.1604-1608, 2011.

ROULSTON, T.H.; CANE, J.H.; BUCHMANN, S.L. What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen pistil interactions, or phylogeny? **Ecology Monography**, v.70, p.617–643, 2000.

Capítulo 4:

Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), C (ácido ascórbico) e pró-vitamina A (α-, β-caroteno) do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

1. INTRODUÇÃO

As vitaminas formam um grupo coesivo de compostos orgânicos que são requeridos na dieta em pequenas quantidades (microgramas ou miligramas por dia) para a manutenção da saúde e integridade metabólica (BENDER, 2003). Nos últimos anos, com o aumento da ingestão de produtos naturais fonte de substancias bioativas, a procura pelo pólen apícola tem aumentado uma vez que estudos recentes têm demonstrado que ele é um alimento potencialmente importante pela sua composição de macro e micronutrientes (CARPES, 2008; ARRUDA et. al, 2013).

Alguns trabalhos já mostraram a presença da vitamina C e pró-vitamina A em amostras de pólen apícola da Polônia (SZCZESNA *et al.*, 1991) e da vitamina C em amostras de pólen apícola com a predominância do táxon *eucalyptus* da Austrália (MANNING, 2001). No Brasil, Melo et al. (2009) e Oliveira et al. (2009) detectaram as vitaminas antioxidantes (C, E e β-caroteno) nas amostras de pólen apícola *in natura* e desidratadas coletadas em diferentes regiões do estado de São Paulo. Entretanto, Almeida-Muradian et al. (2005) relatou ausência das vitaminas C e β-caroteno (pró-vitamina A) em amostras de pólen apícola desidratadas provenientes da região Sul do Brasil, concluindo que esta ausência pode ser explicada pelo processo térmico de desidratação o qual as amostras foram submetidas. Além das funções básicas no organismo humano, as vitaminas antioxidantes são capazes de estabilizar os radicais livres, que estão envolvidos em muitas doenças degenerativas características do envelhecimento (MELO et al., 2009).

A região sul do Brasil é um dos polos de produção do pólen apícola brasileiro tendo dois dos maiores estados produtores: Santa Catarina e Paraná (BARRETO, 2004). A identificação e quantificação das vitaminas presentes no pólen apícola desta região, que possui uma grande diversidade botânica e clima tropical a subtropical diferente do resto do país, são de grande interesse e trarão informações úteis tanto para produtores como para os consumidores. Pela primeira vez em estudos brasileiros foram realizadas análises dos tocoferóis (β-, γ-, δ-tocoferol) e do α-caroteno em amostras de pólen apícola desidratado.

2. OBJETIVO

Quantificar as vitaminas antioxidantes E (α-, β-, γ-, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico) e α- e β-caroteno como (pró-vitamina A) do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram obtidas 20 amostras de pólen apícola *in natura* de diferentes origens botânicas no período de agosto de 2011 a março de 2012, em apiários localizados na região sul do Brasil, estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Todas as amostras foram desidratadas a uma temperatura de 42ºC conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2001) e utilizou-se um período 20 horas de processamento (desidratação) baseado em estudos preliminares. As informações da amostragem e georreferenciamento das amostras estão apresentadas de forma detalhada no Capítulo 3 (item 3.1).

3.2 Métodos

3.2.1 Determinação da vitamina C (ácido ascórbico)

Para a determinação da vitamina C foi utilizado o método titulométrico (AOAC, 1995) que se baseia na redução do 2-6-diclorofenol-indofenol (DCFI) pelo ácido ascórbico. O DCFI em meio básico ou neutro é azul, em meio ácido é rosa e sua forma reduzida é incolor.

Extração: Foram pesados cerca de cinco gramas de amostra em tubos de centrífuga e homogeneizados em turrax com solução de ácido metafosfórico e ácido acético em água (3% ácido metafosfórico e 8% ácido acético). Os tubos foram centrifugados a 14.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante retirado e transferido para balão volumétrico de 50mL. O resíduo foi novamente centrifugado, após ter

sido homogeneizado com nova porção da solução de ácido metafosfórico. Decorrida a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e adicionado ao balão volumétrico contendo o sobrenadante anterior.

Titulação: A solução, contendo a vitamina C, foi então titulada com DCFI. Para otimizar a titulação, foi utilizado um agitador magnético. O ponto final da titulação é caracterizado pela alteração da cor azul até rosa onde ocorre a redução total do DCFI. Para a quantificação de vitamina C, foi realizada a titulação de uma solução padrão com concentração conhecida, paralelamente à titulação da amostra.

3.2.2 Determinação da vitamina E (α-, β-, γ-, δ-tocoferol)

O método utilizado para a determinação da vitamina E em pólen apícola foi a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme descrito por Presoto, Rios e Almeida-Muradian (2000) e Melo e Almeida-Muradian (2010). Foram utilizados aproximadamente cinco gramas de amostra e as análises foram realizadas em triplicata.

Extração: Inicialmente, as amostras foram submetidas à extração exaustiva com acetona fria, utilizando um agitador mecânico (turrax). Em seguida, o material foi submetido à filtração à vácuo em filtro de vidro sinterizado e o filtrado transferido para funil de separação contendo éter de petróleo (P.E. 30ºC - 60ºC). A solução foi lavada cinco vezes com água destilada para completa remoção da acetona. O extrato etéreo foi recolhido, seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e concentrado em evaporador rotatório a vácuo (temperatura aproximada de 35ºC). O resíduo obtido, contendo os tocoferóis, foi totalmente evaporado em atmosfera de nitrogênio, ressuspendido em 10mL de fase móvel, filtrado em membrana de 0,22µm e injetado no cromatógrafo.

Condições cromatográficas: Foi utilizado um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu composto por um sistema de uma bomba (LC-20AT), um injetor automático e um detector de fluorescência (RF-10AXL), programado para 295nm de excitação e 330nm de emissão. Foi utilizada uma coluna de sílica Shim-pack CLC-Sil (M) 25cm com fase móvel previamente filtrada e degaseificada, composta de hexano e álcool isopropílico (99:1) e fluxo de 1,5mL/min. O α-, β-, γ-, δ-tocoferol foram identificados por comparação do tempo de retenção do padrão sintético e a

quantificação realizada através de padronização externa, utilizando curvas com pelo menos cinco níveis de concentração para cada padrão.

Calculo de equivalentes de α-tocoferol: Para o calculo dos principais vitâmeros presentes nas amostras foi utilizada a fórmula descrita por Holland (1991), que baseia-se na atividade biológica relativa dos vitâmeros da vitamina E, a seguir. Equivalentes de α-tocoferol = soma em mg de α-tocoferol + (β-tocoferol x 0,4) + (γ-tocoferol x 0,3) + (δ-tocoferol x 0,01).

3.2.3 Determinação dos carotenóides totais

A extração dos carotenóides foi realizada de acordo com Rodriguez-Amaya (2001) e Melo e Almeida-Muradian (2010). As amostras de pólen apícola (aproximadamente cinco gramas) foram submetidas à extração exaustiva com acetona fria (um total de aproximadamente 180mL por amostra), utilizando um agitador mecânico (turrax). Em seguida, o material foi submetido à filtração à vácuo em filtro de vidro sinterizado e o filtrado transferido para um funil de separação contendo éter de petróleo (P.E. 30ºC - 60ºC). A solução foi lavada, pelo menos cinco vezes, com água destilada para completa remoção da acetona. O extrato etéreo foi recolhido, seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e transferido para balão volumétrico. As leituras das absorbâncias das soluções contendo os carotenóides totais foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro com duplo feixe da marca Shimadzu (UV-1650 PC) ajustado à 450nm e quantificado segundo a fórmula (Davies, 1976) a seguir:

$$\mu g \text{ de carotenóide/g de amostra} = \frac{\text{absorbância máxima x volume da solução x } 10^6}{100 \text{ x } E_{1cm}^{1\%} \text{ x peso da amostra}}$$

Onde:

$E_{1cm}^{1\%}$ = Coeficiente de Absortividade (2592 para β-caroteno).

Em seguida, o extrato etéreo foi evaporado e o resíduo foi submetido à atmosfera de nitrogênio e encaminhado para a análise do α- e β-caroteno por cromatografia.

3.2.4 Analise dos carotenóides (α- e β-caroteno)

Atualmente, a técnica mais empregada para análise de carotenóides é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Segundo Almeida-Muradian e Penteado (2003), a CLAE tem substituído as demais técnicas de análise de carotenóides por apresentar vantagens como rapidez, simplicidade, reprodutibilidade, melhor capacidade de resolução, precisão e sensibilidade.

Condições cromatográficas: Foi utilizado um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu composto por um sistema de uma bomba (LC-20AT), um injetor automático e um detector de UV – visível com arranjos de fotodiodo (SPD-M20A), programado para leitura em 450nm. Para a separação foi utilizada uma coluna C18 Shim-pack VP-ODS (25cm com 5µm) com fase móvel previamente filtrada e degaseificada, composta de metanol, acetato de etila e acetonitrila (70:20:10, respectivamente) e fluxo de 1,2mL/min. O α- e β-caroteno foram identificados por comparação do tempo de retenção dos padrões extraídos naturalmente e do sintético, respectivamente, e a quantificação realizada através de padronização externa, utilizando curvas com pelo menos cinco níveis de concentração para cada padrão.

Teor pro-vitamínico A: O valor pró-vitamínico A foi calculado de acordo com o preconizado pela *Dietary Reference Intakes* (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001) onde, 12µg de β-caroteno e 24µg de α-caroteno equivalem a 1µg de retinol ou equivalente de retinol (RE) ou ainda, 1 atividade de equivalente de retinol (RAE).

3.2.5 Obtenção do padrão analítico de α-caroteno

O processo de obtenção do padrão analítico natural de α-caroteno iniciou-se a partir da extração da cenoura (*Daucus Carota*), utilizando-se 10g conforme Rodriguez-Amaya (2001). A extração dos carotenoides totais foi realizada conforme descrito no item 3.2.3 e a purificação do α-caroteno por Cromatografia em Coluna Aberta (CCA), conforme descrito a seguir.

O resíduo obtido na evaporação (após a extração), contendo o carotenoide de interesse (α-caroteno), foi transferido para uma coluna de vidro 20x2cm, previamente empacotada com a fase estacionária (MgO:Hyflosupercel na proporção

de 1:2). Como fase móvel foi utilizado éter de petróleo puro. Após a separação dos carotenóides em bandas na coluna aberta, a porção contendo o α-caroteno foi cuidadosamente retirada e transferida para cadinhos com placa de vidro sinterizado onde foram lavadas à vácuo com pequenas porções de acetona. Após o extrato foi novamente submetido a partição em funil analítico para obtenção da fase etérea. Antes da evaporação, o extrato etéreo foi transferido para balão volumétrico e realizado o espectro de varredura de 350 a 550 nm, utilizando-se um espectrofotômetro com duplo feixe da marca Shimadzu (UV-1650 PC), para identificação e comparação com a literatura. O α-caroteno apresenta absorção máxima no comprimento de onda de 444 nm, enquanto que o β-caroteno no comprimento de 450 nm.

3.2.6 Análise estatística

Os experimentos foram realizados de forma inteiramente casualizada e todos os dados obtidos foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Na constatação de que foram satisfeitas as condições para aplicação dos testes estatísticos paramétricos de comparação de médias, foi realizado o teste de existência de associação entre as variáveis: estado e composição de vitaminas (ácido ascórbico, α-, β-, γ-, δ-tocoferol e α- e β-caroteno) sendo utilizada a correlação de Pearson e adotando-se o coeficiente de correlação (r) como parâmetro para avaliar a natureza (diretamente ou inversamente proporcionais) e a intensidade dessas correlações (0 a 1, sendo 1 indicativo de correlação máxima).

Nos conjuntos de dados em que não foram observados a distribuição normal e, principalmente a homogeneidade das variâncias, testes estatísticos não-paramétricos foram adotados. Para os testes de correlação, foi adotada a correlação de Spearman. Os resultados foram expressos como média dos resultados ± desvio padrão. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS 10.0 e adotando-se nível de significância de 5% ($p<0,05$).

Para a verificação de diferenças entre as vitaminas e os estados foi utilizada a análise de Variância Bidimensional (Two-way ANOVA) seguida dos testes LSD para verificar tendência e Bonferroni para verificar veracidade dos dados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos teores de vitamina C (ácido ascórbico) estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 – Teores de vitamina Ce % da IDR alcançado em uma porção padrão de 25g/dia nos lotes de pólen apícola desidratado.

Lotes	Vitamina C (µg/g)	% IDR (homens)*	% IDR (mulheres)*
1	158,31±0,58	4,40	5,28
2	NR	-	-
3	129,60±1,37	3,60	4,32
4	171,90±1,23	4,77	5,73
5	430,34±1,68	11,95	14,34
6	253,19±3,44	7,03	8,44
7	347,51±3,64	9,65	11,58
8	434,42±2,98	12,07	14,48
9	350,61±2,40	9,74	11,69
10	190,85±11,59	5,30	6,36
11	94,23±2,71	2,62	3,14
12	456,01±2,72	12,67	**15,20****
13	127,30±21,23	3,54	4,24
14	96,81±11,96	2,69	3,23
15	103,62±6,93	2,88	3,45
16	573,56±16,09	**15,93****	**19,12****
17	217,91±38,26	6,05	7,26
18	145,89±18,39	4,05	4,86
19	60,33±4,01	1,68	2,01
20	796,96±86,57	**22,14****	**26,57****
21	106,82±22,38	2,97	3,56

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. NR = Não realizado.
* IDR = 90 mg/dia para homens e 70 mg/dia para mulheres, sendo considerada amostra fonte quando valores ≥15% da IDR em uma porção padrão de 25 g/dia.
** Amostra considerada fonte de vitamina C.

As concentrações de vitamina C variaram de 60,33 a 796,96 µg/g de amostra. Os teores encontrados no presente trabalho apresentam uma grande faixa de

variação, englobando resultados apresentados por Oliveira et al. (2009), que obtiveram teores que variaram de 273,9 a 560,3 µg/g em lotes (n=10), assim como os apresentados por Melo et al. (2009), onde os valores de vitamina C variaram de 114 a 340 µg/g (n=6), ambos analisando amostras provenientes do Estado de São Paulo. Em estudo realizado por Szczesna *et al.* (1991), foram encontrados valores médios de vitamina C de 179 µg/g (n=2) em amostras polonesas de pólen apícola desidratado; enquanto Manning (2001) relatou valores de vitamina C variando de 21 e 207 µg/g (n=23) em amostras de pólen apícola *in natura* com a predominância do táxon *eucalyptus* provenientes da Austrália.

De acordo com a Portaria nº 31 do Ministério da Saúde, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998), nos termos de rotulagem, um alimento sólido será considerado fonte de determinada vitamina ou mineral se fornecer 15% da ingestão diária recomendada (IDR) na porção especificada do produto. De acordo com a DRI (2000), o consumo de vitamina C deve ser de 90 mg/dia para homens e de 75 mg/dia para mulheres e 15% deste valor consiste em 13,5 e 11,3 mg de vitamina C para homens e mulheres, respectivamente. Portanto, levando-se em consideração a ingestão de uma porção padrão (25 g/dia) de pólen, entre as 20 amostras analisadas duas podem ser consideradas fonte diária de vitamina C para homens e três para mulheres.

Os resultados das concentrações de tocoferóis (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), equivalentes de α-tocoferol e porcentagem da IDR alcançada para homens e mulheres em uma porção padrão de 25g dos lotes de pólen apícola desidratado estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Concentração detocoferóis (α-, β-, γ-, δ-tocoferol), equivalentes de α-tocoferole porcentagem (%) da IDR alcançada em uma porção padrão de 25g/dia nos lotes de pólen apícola desidratado.

Lotes	α-tocoferol (µg/g)	β-tocoferol (µg/g)	γ-tocoferol (µg/g)	δ-tocoferol (µg/g)	Equivalentes de α-tocoferol (mg/100g)	% IDR*
1	7,04±0,17	0,69±0,05	3,13±0,84	0,81±0,03	0,83	1,38
2	NR	NR	NR	NR	-	-
3	16,12±4,01	0,86±0,07	2,45±0,17	1,18±0,12	1,72	2,87
4	22,43±0,45	0,85±0,02	7,87±0,46	1,47±0,12	2,51	4,19
5	49,47±4,57	0,79±0,04	4,05±2,82	NE	5,10	8,50
6	18,68±1,50	1,21±0,03	4,99±0,31	3,07±0,19	2,07	3,45
7	38,37±1,71	0,88±0,04	5,59±0,12	4,67±0,22	4,04	6,74
8	21,24±1,05	0,71±0,00	3,94±0,16	0,93±0,09	2,27	3,79
9	29,98±2,32	0,80±0,07	3,79±3,33	NE	3,14	5,24
10	72,81±0,81	9,65±0,31	11,56±0,33	83,65±1,84	8,10	13,50
11	14,88±2,56	7,36±0,97	NE	NE	1,78	2,97
12	21,44±0,77	9,30±0,88	7,37±0,43	1,47±0,04	2,74	4,56
13	113,89±0,95	2,50±0,03	6,88±0,10	3,44±0,11	11,70	**19,50****
14	NE	NE	NE	NE	-	-
15	NE	NE	NE	NE	-	-
16	95,68±0,06	2,54±0,04	7,01±0,21	3,96±0,20	9,88	**16,47****
17	4,65±0,09	0,78±0,05	2,22±0,15	5,86±1,13	0,57	0,95
18	50,90±4,56	1,42±0,14	8,85±0,78	6,50±0,92	5,42	9,03
19	19,83±2,38	NE	NE	1,26±0,10	1,98	3,31
20	21,23±1,68	0,81±0,05	4,77±0,09	1,75±0,13	2,30	3,83
21	36,09±4,05	1,29±0,09	8,10±0,36	5,37±0,76	3,91	6,51

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. NE = Não encontrado e NR = Não realizado.
* IDR = 15 mg/dia para homens e mulheres, sendo considerado fonte valores ≥15% da IDR.
** Lote considerado fonte de vitamina E.

Os valores de α-tocoferol encontrados no presente trabalho variaram entre 4,65 e 113,89 µg/g de amostra. Estes resultados são mais elevados quando comparados com os encontrados por Oliveira et al. (2009), que obtiveram variação de 13,5 a 42,5 µg/g, e Melo et al. (2009), que apresentaram variação de 16,27 a 38,64 µg/g.

De acordo com a DRI (2000), a recomendação de ingestão diária para a vitamina E é de 15mg/dia para adultos e 15% deste valor consiste na ingestão de 2,25 mg de vitamina E por porção ao dia. Como a porção de consumo diária recomendada para o pólen apícola desidratado é de 25 gramas, de acordo com nossos resultados, ele forneceria de 0,95 a 19,50 mg de vitamina E diariamente; deste modo os lotes 13 e 16 de pólen apícola analisados podem ser considerados fonte desta vitamina fornecendo 16,47 e 19,50% da IDR em uma porção, respectivamente.

As concentrações de carotenóides totais, α- e β-caroteno, o valor pró-vitamínico A (equivalente de retinol) e a porcentagem da IDR alcançada em uma porção padrão de 25 g/dia nos lotes de pólen apícola desidratado estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentrações de carotenoides totais, α- e β-caroteno, valor pró-vitamínico A (equivalente de retinol) e porcentagem (%) da IDR alcançada em uma porção padrão de 25 g/dia nas amostras de pólen apícola desidratado.

Lotes	Carotenoides totais (µg/g)	β-caroteno (µg/g)	α-caroteno (µg/g)	Valor pró-vitamínico A (retinol µg/100g)	% IDR* Homens	% IDR* Mulheres
1	12,75±1,10	NE	NE	-	-	-
2	NR	NR	NR	-	-	-
3	34,04±6,77	1,90±0,17	NE	15,83	0,44	0,57
4	153,36±10,70	13,45±0,74	NE	112,08	3,11	4,00
5	277,13±28,60	NE	NE	-	-	-
6	511,69±46,81	NE	NE	-	-	-
7	150,35±28,33	4,85±0,35	NE	40,42	1,12	1,44
8	170,03±23,83	4,07±0,15	10,01±0,50	75,63	2,10	2,70
9	644,94±16,52	112,71±12,84	324,65±49,66	2291,96	**63,67****	**81,86****
10	60,39±12,61	3,59±0,23	9,86±0,75	71,00	1,97	2,54
11	114,94±2,60	NE	NE	-	-	-
12	259,56±33,88	12,81±1,65	28,42±2,12	225,17	6,25	8,04
13	1232,96±63,54	179,21±9,34	828,43±42,63	4945,21	**137,37****	**176,61****
14	9,75±1,39	NE	NE	-	-	-
15	10,79±2,34	0,47±0,06	NE	3,92	0,11	0,14
16	1057,96±172,37	9,46±0,32	17,44±0,42	151,50	4,21	5,41
17	19,42±1,36	1,50±0,06	NE	12,50	0,35	0,45
18	133,09±3,16	4,63±0,20	4,45±0,31	57,13	1,59	2,04
19	5,29±0,51	1,54±0,06	NE	12,83	0,36	0,46
20	87,56±0,91	0,78±0,04	NE	6,50	0,18	0,23
21	106,17±3,89	3,40±0,09	3,29±0,13	42,04	1,17	1,50

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em Média ± Desvio Padrão; NE = Não encontrado e NR = Não realizado.
* IDR = 900 µg/dia (homens) e 700 µg/dia (mulheres), sendo considerado fonte valores ≥15% da IDR.
** Lotes considerados ricos em pró-vitamina A (≥30% da IDR).

Os valores encontrados de carotenoides totais do pólen apícola variaram entre 5,29 a 1232,96 µg/g, enquanto os doβ-caroteno variaram entre 0,47 e 179,21 µg/g. Os resultados do presente trabalho são maiores do que os teores encontrados por Oliveira (2006) e Melo et al. (2009), que variaram respectivamente de 4,6 a 178,7 µg/g para carotenoides totais e entre 32,3 e 90,48 µg/g para β-caroteno e entre 25,3 e 268,5 µg/g de carotenoides totais e entre 3,14 a 77,88 µg/g de β-caroteno em amostras processadas. No estudo realizado por Muniategui *et al*. (1990), foi encontrado teores de carotenoides totais que variaram de 0,49 a 242,6 µg/g e valor médio de β-caroteno de 10 µg/g em amostras comerciais de pólen apícola da Espanha. Não existem estudos que tenham identificado teores de α-caroteno em amostras de pólen apícola. No presente estudo os valores de α-caroteno variaram entre 3,29 e 828,43 µg/g, confirmando a necessidade da avaliação da sua presença e quantificação para caracterização do potencial vitamínico do pólen apícola.

O valor pró-vitamínico A das amostras processadas variou de 3,92 a 4945,21 µg/100g de equivalentes de retinol (12 µg de β-caroteno e 24 µg de α-caroteno correspondendo a 1 µg de retinol). A ingestão diária recomendada para vitamina A é de 900 µg/dia para homens e de 700 µg/dia para mulheres (DRI, 2000). Logo, em termos de rotulagem, os lotes 9 e 13 podem ser considerados ricos (≥30% da IDR) em vitamina A, através da quantidade de α- e β-caroteno que apresentam. Como a porção diária recomendada de pólen apícola desidratado é de 25 gramas, o lote 9 forneceria então 2291,96 µg/100g de retinol, ou seja, 63,67% da IDR para homens e 81,86% para mulheres; e o lote 13 forneceria 4945,21 µg/100g de retinol, suprindo 137,37% da IDR para homens e 176,61% para mulheres.

A Tabela 8 mostra os valores médios encontrados para as vitaminas C, E, carotenóides e seus vitâmeros, de acordo com o estado onde as amostras foram coletadas.

Tabela 8 – Valores médios (µg/g) dos vitâmeros presentes nas amostras de pólen apícola desidratado de acordo com o estado de procedência.

Vitâmeros (µg/g)	Estados			
	RS	SC	PR	Média Total
Vitamina C				
Ácido ascórbico	304,70 ± 16,21	225,32 ± 14,05	216,32 ± 6,97	262,31 ± 13,01
Vitamina E				
α-tocoferol	23,53 ± 1,93[a]	52,39 ± 1,01[b]	34,97 ± 2,23[a]	32,74 ± 1,68
β-tocoferol	0,89 ± 0,04[a]	1,26 ± 0,02[ab]	4,76 ± 0,40[b]	2,12 ± 0,14
γ-tocoferol	4,71 ± 0,55	3,47 ± 0,08	5,26 ± 0,81	4,63 ± 0,53
δ-tocoferol	2,51 ± 0,28	1,85 ± 0,08	15,48 ± 0,48	6,27 ± 0,30
Carotenóides				
Totais	152,25 ± 15,22[a]	577,87 ± 59,91[b]	203,04 ± 11,55[ab]	252,61 ± 23,06
α-caroteno	1,33 ± 0,06	211,47 ± 10,76	61,23 ± 8,81	61,33 ± 4,83
β-caroteno	3,00 ± 0,16	47,29 ± 2,43	22,55 ± 2,50	17,72 ± 1,32

RS – Rio Grande do Sul, SC – Canta Catarina, PR – Paraná.

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p<0,05$).

De acordo com a Tabela 8, podemos observar diferenças estatisticamente significativas quanto a composição em α- e β-tocoferol, sendo o primeiro maior nas amostras proveniente do estado de Santa Catarina, enquanto o segundo apresentou maior valor para o estado do Paraná. Também foram observadas diferenças para os teores de carotenóides totais, sendo as amostras provenientes de Santa Catarina as que apresentaram valores mais elevados, seguidos do Paraná e por fim do Rio Grande do Sul. Sabe-se que, diferenças de floração, fatores meteorológicos e qualidade do solo podem interferir na porcentagem de vitaminas encontrada no pólen de abelha (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Por isso o conhecimento da região quanto a estes fatores e, principalmente quanto ao perfil polínico, bem como sua relação com a composição das vitaminas, são essenciais para a caracterização do pólen apícola da região Sul.

Os resultados aqui apresentados mostram análises dos tocoferóis (β-, γ-, δ-tocoferol) e do α-caroteno, que foram realizadas pela primeira vez em amostras brasileiras de pólen apícola desidratado. Além disso, contribuem com dados analíticos sobre o valor vitamínico (equivalentes de α-tocoferol e de retinol)

presentes no pólen apícola desidratado, a fim de agregar valor nutricional a este produto e colaborar com a tabela brasileira de composição de alimentos (TBCA-FCF-USP).

5. CONCLUSÕES

Com os resultadosapresentados pode-se concluir que as amostras de pólen apícola desidratado produzidas em apiários georreferenciados da região sul do Brasil apresentaram quantidades variadas das vitaminas antioxidantes (C, E α- e β-caroteno) em sua composição, sendo algumas delas podendo ser consideradas fontes dietéticas destas vitaminas. É importante ressaltar que este trabalho contribui com os primeiros resultados nacional e internacional a cerca da quantificação dos tocoferóis (β-, γ-, δ-tocoferol), bem como de α-caroteno em amostras de pólen apícola.

As informações mostradas neste trabalho sobre a presença das vitaminas antioxidantes no pólen apícola desidratado agregam valor ao produto e podem estimular a exploração por parte dos apicultores de flora apícola voltada para a presença dessas vitaminas, visando a sua comercialização como complemento alimentar. Para isso a identificação do perfil polínico, bem como sua relação com a composição nutricional é essencial para a correlação entre a origem botânica do produto e presença de vitaminas.

Novos estudos são necessários para identificar variações significativas entre espécies e diferentes safras, visando uma padronização do pólen obtido em zonas bem definidas de produção apícola e para isso o georreferenciamento pode ser um aliado para a demarcação e formação de banco de dados sobre espécies botânicas com potencial de produção apícola.

6. REFERÊNCIAS

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides. In: PENTEADO, M.D.V.C. (org.). Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri, SP: Manole, 2003. cap.1, p.1-52.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides. In: PENTEADO, M.D.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. cap.1, p.1-52.

ARRUDA V. A. S., PEREIRA A. A. S., FREITAS A. S., BARTH O. M., ALMEIDA-MURADIAN L. B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

ARRUDA, V.A.S., PEREIRA, A.A.S., FREITAS, A.S., BARTH, O.M., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16th ed. Washington, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16.ed. Washington, 1995.

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

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

BENDER, D.A. **Nutritional Biochemistry of the Vitamins**. Cambridge: University Second Edition, 2003.

BRASIL. Portaria n.31, de 13 de janeiro de 1998. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais, constante do anexo desta Portaria. Disponível em: http://www.abima.com.br/dload/13_12_port_31_98_leg_alim_nac.pdf. Acesso em: 14/07/12.

BRASIL. Portaria n.31, de 13 de janeiro de 1998. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais, constante do anexo desta Portaria. Disponível em: http://www.abima.com.br/dload/13_12_port_31_98_leg_alim_nac.pdf. Acesso em: 14/07/12.

CARPES, S.T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *apis mellifera* l. da região sul do Brasil**. Curitiba, 2008. Tese de doutorado – Universidade Federal do Paraná.

DAVIES, B.H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. 2.ed. London, New York: Academic Press, v.2, p.38-165, 1976.

DAVIES, B.H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W., ed. Chemistry and biochemistry of plant pigments. 2.ed. London, New York: **Academic Press**, v.2, p.38-165, 1976.

DIETARY Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc (2000). Disponível em: http://books.nap.edu/openbook.php?isbn=0309072794. Acesso em: 09/07/12.

DIETARY Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc (2000). Disponível em: http://books.nap.edu/openbook.php?isbn=0309072794. Acesso em: 09/07/12.

HOLLAND B,WELCH AA,UNWIN ID, BUSS DH, PAUL AA, AND SOUTHGATE DAT (1991)McCance and Widdowson’s The Composition of Foods, 5th Edition. London: Royal Society of Chemistry andMinistry of Agriculture, Fisheries and Food.

HOLLAND, B.; WELCH, A.A.; UNWIN, I.D.; BUSS, D.H.; PAUL, A.A,; SOUTHGATE, D.A.T. McCance and Widdowson’s The Composition of Foods, 5.ed. 1991 London: Royal Society of Chemistry andMinistry of Agriculture, Fisheries and Food.

INSTITUTE OF MEDICINE, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes: for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Cromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenium, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, D.C., National Academy Press, 2001, 797p.

LANÇAS, F.M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 2004. 62p.

MANNING, R. **Pollen Analysis of *Eucalypts* in Western Australia: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation**. Kingston: Rural Industries Research and Development Corporation, 2001. 63p.

MELO, I.L.P. **Estabilidade das vitaminas antioxidantes em amostras de pólen apícola**. São Paulo, 2008. 90p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. **Química Nova**, v.33, n.3, p.514-518, 2010.

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

MUNIATEGUI, 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**, v.29, n.3, p.147-150,1990.

OLIVEIRA, K.C.L.; MORIYA, M.; AZEDO, R.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Relationship between botanical origin and antioxidants vitamins of bee-collected. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1099-1102, 2009.

OLIVEIRA, K.C.L.S. **Caracterização do pólen apícola e utilização de vitaminas antioxidantes como indicadoras do processo de desidratação**. São Paulo, 2006. 106p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

PRESOTO, A.E.F.; RIOS, M.D.G.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. HPLC determination of alpha-tocoferol, beta-carotene and proximate analysis of Brazilian parsley leaves. **Bolletino dei Chimici Igienisti**, v.51, n.7, p.111-114, 2000.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

SZCZESNA, T.; RYBAK-CHIMIELEWSKA, H.; BORNUS, L. Effect of storage on variation of contents vitamin C and A in pollen collected bees. **Apiacta**, v.2, 1991.

Capítulo 5:

Estudo da origem botânica e sua relação com a composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil

1. INTRODUÇÃO

O pólen apícola é definido como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia (BRASIL, 2001). Nos últimos anos alguns estudos vêm demonstrando que o pólen apícola é um alimento com alto valor nutricional, tendo comprovada a presença de diversos nutrientes como proteínas, lipídios, minerais, vitaminas antioxidantes (β-caroteno como pró-vitamina A, C e E) e do complexo B (MELO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009; ARRUDA *et al.*, 2013). Estes autores demonstraram que os referidos nutrientes podem ser influenciados, de maneira positiva ou negativa, pela origem polínica das amostras de pólen apícola.

A identificação da origem botânica dos produtos apícolas é fundamental para a caracterização do produto, identificação e padronização de floradas com potencial de produção apícola e vem sendo utilizada por pesquisadores há várias décadas. Os grãos de pólen variam quanto à forma, tamanho, cor, aparência, características morfológicas e por isso, na prática, podem ser utilizados para identificar o gênero das plantas e algumas vezes, as espécies vegetais (BARTH, 1989; ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005). Junto com a análise polínica, o georreferenciamento dos produtos apícolas visa aumentar o conhecimento e a caracterização dos locais de coleta e assegurar uma rápida identificação da procedência do produto.

A região Sul do Brasil é caracterizada por um clima tropical a subtropical com floradas típicas e que diferem do resto do país. O conhecimento da origem botânica do pólen apícola proveniente desta região e sua relação com a composição química do mesmo torna-se importante para caracterizar o produto.

2. OBJETIVO

Caracterizar as amostras de pólen apícola desidratado produzidas em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil com base na análise microscópica (polínica) e correlacioná-la com o conteúdo de vitaminas e com a composição química.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram obtidas 21 amostras de pólen apícola *in natura* de diferentes origens botânicas no período de agosto de 2011 a março de 2012, em apiários localizados na região Sul do Brasil, estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Todas as amostras foram desidratadas a uma temperatura de 42ºC conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2001) e utilizou-se um período 20 horas de processamento (desidratação) baseado em estudos preliminares. As informações da amostragem e o georreferenciamento das amostras estão apresentadas de forma detalhada no Capítulo 3 (item 3.1).

3.2 Métodos

3.2.1 Análise polínica (microscópica)

A análise polínica foi realizada sem a utilização da acetólise, preservando assim todos os elementos figurados encontrados nas amostras e sendo posteriormente realizado o preparo das lâminas, conforme Barth *et al.* (2010).

Preparação de amostras de pólen: Foram pesados dois gramas de pólen apícola seco, bem misturado (cerca de 300 bolotas, dependendo do tamanho) e transferido para um tubo de centrífuga de 15 mL de capacidade sendo adicionados10 mL de etanol a 70% e mantido em repouso por 30 minutos. As amostras foram homogeneizadas com bastão de vidro, submetidas a tratamento

ultrassônico e centrifugadas. Após esta etapa, uma solução de água destilada/glicerina 1:1 foi adicionada ao sedimento para completar 13 mL e deixou-se em repouso por cerca de 30 minutos.

Preparação de lâminas de microscópio: Uma gota da suspensão de grãos de pólen bem homogeneizada foi aplicada sobre uma lâmina de microscopia, coberta com uma lamínula 22 × 22 mm, e selado com esmalte. As lâminas foram mantidas numa posição horizontal por cerca de um mês ou menos, antes de começarem a secar, ficando os grãos de pólen seletivamente pressionados contra as bolhas de ar. Após a montagem das lâminas, os tubos contendo a suspensão de grãos de pólen foram centrifugados descartando-se o excesso de água glicerinada. Parte do resíduo foi armazenado em tubos Eppendorf de 1,5 mL com adição de glicerina. O tubo foi fechado e identificado para preparações posteriores, caso necessário.

Contagem e identificação de grãos de pólen e elementos figurados: pelo menos 500 grãos de pólen foram contados por amostra tendo sido identificados usando uma ampliação de 400x. A identificação foi realizada dentro de 10 dias, antes da secagem ser iniciada. Os tipos polínicos foram identificados por comparação com a literatura (BARTH, 1989; MORETI *et al*., 2002) e laminário de referência para posteriormente ser realizado o cálculo das porcentagens de cada um dos tipos polínicos na amostra.

3.2.2 Composição química e análise de vitaminas

A metodologia utilizada para a análise da composição química e das vitaminas antioxidantes (vitamina C, tocoferóis, α- e β-caroteno) estão descritas nos Capítulos 3 (itens 3.2.3 e 3.2.4) e 4 (itens 3.2.1, 3.2.2 e 3.2.4), respectivamente.

3.2.3 Análise estatística

Os experimentos foram realizados de forma inteiramente casualizada e todos os dados obtidos foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Na constatação de que foram satisfeitas as condições para aplicação dos testes estatísticos paramétricos de comparação de médias, foi realizado o teste de existência de correlação entre as

variáveis: estado e composição centesimal (cinzas, lipídeos, proteínas, umidade in natura e desidratado), sendo utilizada a correlação de Pearson e adotando-se o coeficiente de correlação (r) como parâmetro para avaliar a natureza (diretamente ou inversamente proporcionais) e a intensidade dessas correlações (0 a 1, sendo 1 indicativo de correlação máxima). Para classificar a natureza da correlação utilizou-se a classificação de Cohen (1988), valores entre 0,10 e 0,29 podem ser considerados como correlação fraca; escores entre 0,30 e 0,49 podem ser considerados como média; e valores entre 0,50 e 1,00 podem ser interpretados como forte.

Nos conjuntos de dados em que não foram observadas distribuição normal e, principalmente a homogeneidade das variâncias, testes estatísticos não-paramétricos foram adotados. Para os testes de correlação, foi adotada a correlação de Pearson. Os resultados foram expressos como média dos resultados ± desvio padrão. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS 10.0 e adotando-se nível de significância de 5% ($p<0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Análise polínica das amostras

Os resultados da análise polínica das amostras são apresentados nas Tabelas 9 (amostras de 1 a 14) e 10 (amostras de 15 a 21). Enquanto que na Tabela 11 são apresentadas as frequências de ocorrência dos tipos polínicos sobre o total das amostras de pólen apícola desidratado.

Tabela 9– Porcentagens de tipos polínicos obtidos em amostras (1 a 14) de pólen apícola desidratado.

Gênero/Espécie/Nome Popular	Frequência (%) / Amostra-Estado													
	1-RS	**2-RS**	**3-RS**	**4-RS**	**5-RS**	**6-RS**	**7-RS**	**8-RS**	**9-PR**	**10-PR**	**11-PR**	**12-PR**	**13-SC**	**14-SC**
Brassica napus - canola		**PP80.5**	**PP84.6**	**PP48.5**										
Caesalpineaceae - copaíba					**PP56.1**									
Caryca - mamão				PII13.3										
Celtis - esporão de galo														PA22.6
Crotalaria - crotalária										PII13.6				
Dalbergia - rabo-de-bugio						PA16.4								
Eucalyptus - eucalipto	PA41.8	PA19.4	PII9.2	PA16.4	PA32.3	**PP70.6**			PA26.9	PII9.0	PII14.6	PA21.8	PII15.0	PII13.0
Eupatorium - vassourão								PII6.4					PA16.1	PII6.4
Euterpe - palmito doce													PA32.6	PA38.0
Ilex - erva-mate								PA42.0			PII7.4	PII7.1	PII4.5	PA23.9
Lithraea - aroeira-brava						PII10.5								
Machaerium - bico de pato			PII5.2	PA16.6					**PP49.9**		**PP62.1**	**PP65.8**	PII10.2	
Mimosa scabrella - bracatinga							**PP99.2**	PA43.7						
Phoradendron - erva de passarinho									PII5.8					
Piper - jaborandi													PII14.7	
Piptocarpha - vassourão										**PP72.0**				
Psychotria - carne de vaca				PII4.7										
Rosaceae - macieira											PII5.6			
Rubiaceae - veludeiro	**PP56.6**													
Senecio - banana-de-macaco									PII13.4				PII3.9	

PP = pólen predominante (> 45% do total de grãos); PA = pólen acessório (de 16% a 45%); PII = pólen isolado importante (de 3% a 15%); O/ND = Táxons com valores abaixo de 3% foram reunidos em outros e indeterminados.

Tabela 10 – Porcentagens de tipos polínicos obtidos em amostras (15 a 21) de pólen apícola desidratado.

Gênero/Nome Popular	Frequência (%)/Amostra-Estado						
	15-SC	**16-SC**	**17-RS**	**18-PR**	**19-PR**	**20-RS**	**21-RS**
Ambrosia - ambrósia					PA35.5		
Andira - angelim do Campo			**PP98.5**				
Asteraceae - guaco							PII4.8
Borreria - vassourinha de botão							PII5.3
Brassica napus - canola						PII6.0	
Eucalyptus - eucalipto	PA20.9	PA22.2				**PP83.9**	PA21.8
Eugenia - uvalha				PII12.4			
Eupatorium - vassourão				**PP58.1**	**PP61.2**		
Euterpe - palmito doce	PII10.1						PA16.0
Ilex - erva-mate				PII7.4			
Lithraea - arroeira-brava		PA31.8					
Machaerium - bico de pato				PII9.8		PII5.1	PII13.1
Melastomataceae - pixirica	PA25.6						
Montanoa - margarida		PA21.2					
Phrygilanthus - erva-de-passarinho							PII3.5
Poaceae - capim	PA31.4						
Protium - almecegueira							PII4.4
Rubiaceae - veludeiro							PII12.3
Tapirira - copiúva							PII3.8
Vernonia - cambarazinho				PII6.3			
O/ND		17.0					

PP = pólen predominante (> 45% do total de grãos); PA = pólen acessório (de 16% a 45%); PII = pólen isolado importante (de 3% a 15%); O/ND = Táxons com valores abaixo de 3% foram reunidos em outros e indeterminados.

Na Figura 13 estão apresentados alguns tipos polínicos observados nas amostras de pólen.

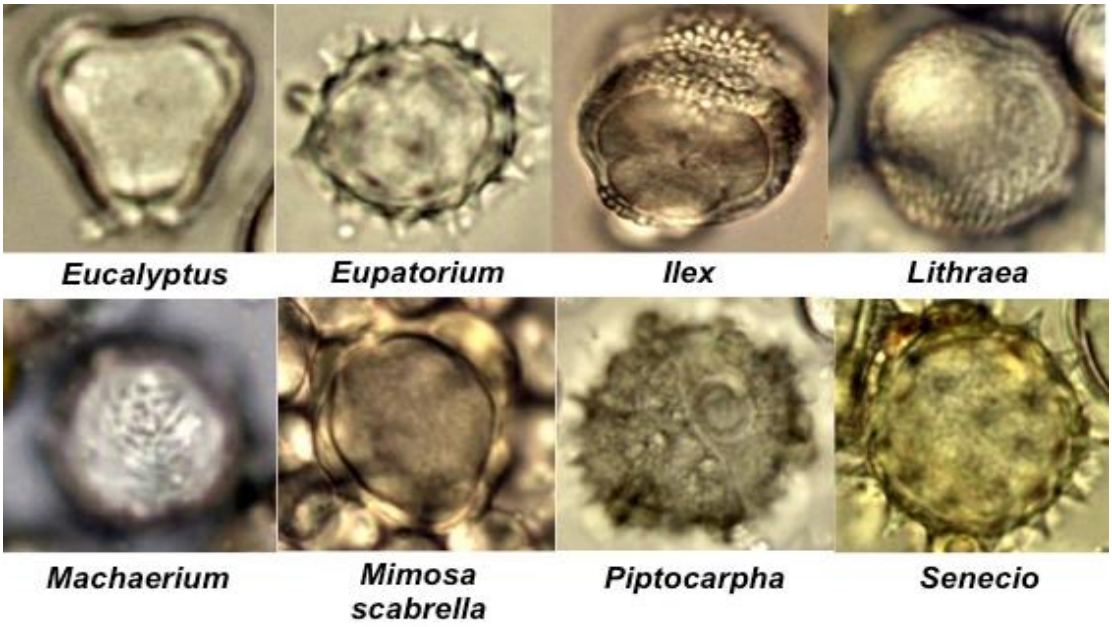

Figura 13. Tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen apícola desidratado.

Na Tabela 11 são apresentadas as frequências de ocorrência dos tipos polínicos no total das amostras de pólen apícola desidratado e por estados.

Tabela 11- Frequências de ocorrência dos tipos polínicos no total das amostras de pólen apícola desidratado e por estado.

Origem polínica	FG	%	RS (n=11)		PR (n=6)		SC (n=4)	
			F	%	F	%	F	%
Ambrosia - ambrósia	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Andira - angelim do campo	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Asteraceae - guaco	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Borreria - vassourinha de botão	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Brassica napus - canola	**4**	19,0	4	**36,4**	0	0	0	0
Caesalpineaceae - copaíba	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Caryca - mamão	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Celtis - esporão de galo	1	4,8	0	0	0	0	1	**25**
Crotalaria - crotalária	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Dalbergia - rabo-de-bugio	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Eucalyptus - eucalipto	**16**	**76,2**	8	**72,7**	4	**66,7**	4	**100**
Eugenia - uvalha	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Eupatorium - vassourão	**5**	23,8	1	9,1	2	**33,3**	2	**50**
Euterpe - palmito doce	**4**	19,0	1	9,1	0	0	3	**75**
Ilex - erva-mate	**6**	28,6	1	9,1	3	50	2	**50**
Lithraea - aroeira-brava	2	9,5	1	9,1	0	0	1	25
Machaerium - bico de pato	**9**	**42,9**	4	**36,4**	4	**66,7**	1	25
Melastomataceae - pixirica	1	4,8	0	0	0	0	1	25
Mimosa scabrella - bracatinga	2	9,5	2	18,2	0	0	0	0
Montanoa - margarida	1	4,8	0	0	0	0	1	25
Phoradendron - erva-de-passarinho	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Phrygilanthus - erva-de-passarinho	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Piper - jaborandi	1	4,8	0	0	0	0	1	25
Piptocarpha - vassourão	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Poaceae - capim	1	4,8	0	0	0	0	1	25
Protium - almecegueira	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Psycotria - carne de vaca	1	4,8	1	9,1	0	0	0	0
Rosaceae - macieira	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
Rubiaceae - veludeiro	2	9,5	2	18,2	0	0,0	0	0
Senecio - banana-de-macaco	2	9,5	0	0	1	16,7	1	25
Tapirira - copiúva	1	4,8	1	9,1	0	0,0	0	0
Vernonia - cambarazinho	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0
O/ND	1	4,8	0	0	1	16,7	0	0

FG - Frequência geral. F - Frequência. O/ND = Táxons com valores abaixo de 3% foram reunidos em outros e indeterminados. RS = Rio Grande do Sul. PR = Paraná. SC = Santa Catarina.

Nas Tabelas 9 e 10 pode-se observar as diferenças entre os perfis polínicos das diferentes amostras analisadas microscopicamente. Para uma amostra ser considerada monofloral, ela deve conter um tipo polínico com valor ≥ 90% do total de grãos contados. No presente trabalho, apenas as amostras 7 e 17 apresentaram um único táxon botânico: *Mimosa* scabrella (bracatinga) com uma frequência de 99,2% e *Andira* (Angelim do campo) com uma frequência de 98,5%.

Levando-se em consideração a ausência de um tipo polínico predominante, seis amostras de pólen apícola podem ser consideradas poliflorais. Entre o total de amostras, 15 delas apresentaram um tipo botânico predominante (Tabelas 9 e 10), sendo que o gênero *Eucalyptus* (eucalipto) apresentou maior frequência (76,2%) de ocorrência. Em seguida, os gêneros que apresentaram maior frequência foram *Machaerium* (bico de pato), com 42,9%, e *Ilex* (erva-mate), com 28,6% (Tabela 11).

No RS o tipo polínico com maior frequência foi o *Eucalyptus* (eucalipto) (72,7%) seguido de *Brassica napus* (canola) (36,4%) e *Machaerium* (bico de pato) (36,4%), já o de maior frequência no estado de PR foi o *Eucalyptus* (eucalipto) (66,7%) e *Machaerium* (bico de pato) (66,7%) seguido de *Eupatorium* (vassourão) (33,3%). Em SC o tipo polínico de maior frequência também foi o de *Eucalyptus* (eucalipto) presente em 100% das amostras seguido por *Euterpe* (palmito doce) com 75% de frequência. Neste sentido, o gênero *Eucalyptus* torna-se um alvo importante para investigações tendo em vista a presença em alta porcentagem nas amostras provenientes dos três estados da região Sul. Assim sua contribuição é significativa para a caracterização e valorização do pólen apícola desta região.

4.2 Origem botânica presumida pelos apicultores

Os apicultores participantes da pesquisa identificaram as amostras em relação a sua origem botânica classificada neste trabalho como origem botânica presumida por meio de nomes vulgares. Assim foi possível fazer uma comparação com a análise polínica realizada em laboratório.

A Tabela 12 mostra as informações da origem botânica presumida pelos apicultores participantes da pesquisa e sua comparação com a análise polínica determinada.

Tabela 12 – Origem botânica presumida pelos apicultores e confirmada em laboratório das amostras de pólen apícola desidratado.

Amostras	Origem botânica presumida	Origem botânica confirmada (gênero-nome popular)**
1	Camboatá	*Rubiaceae* - veludeiro
2	Canola	*Brassica napus* - canola
3	Canola	*Brassica napus* - canola
4	Canola/Nabo	*Brassica napus* - canola
5	Espinilho	*Caesalpineaceae* - copaíba
6	Polifloral	*Eucalyptus* - eucalipto
7	Cambará	*Mimosa scabrella* - bracatinga
8	Cambará	Polifloral
9	Maria-Mole	*Machaerium* - bico de pato
10	Vassourão	*Piptocarpha* - vassourão
11	Polifloral	*Machaerium* - bico de pato
12	Polifloral	*Machaerium* - bico de pato
13	NIA*	Polifloral
14	NIA*	Polifloral
15	NIA*	Polifloral
16	NIA*	Polifloral
17	Timbó	*Andira* - angelim do campo
18	Polifloral	*Eupatorium* - vassourão
19	Polifloral	*Eupatorium* - vassourão
20	Polifloral	*Eucalyptus* - eucalipto
21	Polifloral	Polifloral

* NIA = não informado pelo apicultor.

** Confirmação pela análise polínica onde Pólen Predominante deve ter valor > 45% do total de grãos.

A comparação da origem botânica presumida por parte dos apicultores e a análise polínica mostrou que a maioria das informações estava divergente, onde das 17 amostras com informação de origem botânica presumida, apenas 5 tiveram confirmada a mesma origem botânica pela análise polínica. É importante ressaltar que, nas duas amostras consideradas monoflorais (7 e 17), ou seja, com um tipo polínico com ≥ 90% do total de grãos; a origem botânica presumida (Timbó e Cambará, respectivamente) pelo apicultor responsável não foi confirmada pela análise polínica.

Almeida-Muradian *et al*. (2005) analisaram a taxonomia botânica de 10 amostras de pólen apícola provenientes do Sul do Brasil e, apesar de serem

designadas como amostras de pólen monofloral pelo produtor, todas elas apresentaram mais de um táxon. Os autores concluíram que o fato das bolotas de pólen apresentarem apenas uma cor não indica que sejam necessariamente monoflorais, ainda que elas possuam mais chances de serem de uma fonte monofloral quando comparados com amostras que apresentem cores variadas. De forma contrária, no presente trabalho seis amostras que foram indicadas como de origem polifloral pelos produtores, não se apresentaram monoflorais por terem um percentual < 90% do total de grãos de uma única origem botânica; embora tenham apresentado um táxon predominante.

Os resultados aqui apresentados trarão informações importantes para os produtores e consumidores por caracterizar de forma adequada o produto da região. O conhecimento das possíveis origens botânicas pelos produtores é fundamental para a caracterização do produto, a padronização de floradas com potencial de produção apícola e a valorização comercial.

4.3 Correlação entre os tipos polínicos e os parâmetros químicos analisados

Os resultados da composição química estão descritos no Capítulo 3 (item 4), já os resultados dos valores de vitaminas estão descritos no Capítulo 4 (item 4). Os valores médios previamente apresentados foram utilizados para a realização da análise de correlação apresentada a seguir.

Realizando-se a análise estatística de correlação entre os tipos polínicos encontrados e a os parâmetros químicos estudados, constatou-se:

a) Com relação a composição química, o tipo polínico *Poaceae* (capim) apresentou uma associação média negativa ($r=-0.49$) com o parâmetro de umidade desidratado ($p<0.05$); assim como uma associação negativa média para os parâmetros glicose e frutose ($r=-0.42$ e $r=-0.46$, respectivamente) marginalmente significativa ($p=0.056$) e significativa ($p<0.05$). O tipo polínico *Mimosa scabrella* (bracatinga), apresentou uma associação positiva média ($r=0.48$) com relação ao parâmetro frutose ($p<0.05$). O tipo polínico *Euterpe* (palmito doce) apresentou associação negativa forte ($r=-0.55$) com o parâmetro proteínas ($p=0.01$), associação negativa forte ($r=-0.50$) para

glicose ($p<0.05$) e associação negativa média ($r=-0.47$) para frutose ($p<0.05$). O tipo polínico *Brassica napus* (canola) apresentou associação positiva forte com o parâmetro lipídios ($r=0.60$) ($p<0.01$), associação positiva forte ($r=0.50$) com o parâmetro proteínas ($p<0.05$) e associação positiva forte ($r=0.51$) para cinzas ($p<0.05$) O tipo polínico *Eucalyptus* (eucalipto) apresentou associação positiva média ($r=0.46$) com o parâmetro cinzas ($p<0.05$).

b) Com relação a composição de vitaminas o tipo polínico *Montanoa* (margarida) apresentou uma associação positiva forte ($r=0.54$) com o parâmetro carotenoides totais ($p<0.05$) e uma associação positiva média ($r=0.49$) com α-tocoferol ($p<0.05$). O tipo polínico *Euterpe* (palmito doce) apresentou associação positiva forte ($r=0.92$) para α-caroteno ($p<0.01$), associação positiva forte ($r=0.83$) para β-caroteno ($p<0.01$), associação positiva forte ($r=0.63$) para α-tocoferol ($p<0.01$) e associação negativa forte ($r=-0.51$) para vitamina C ($p<0.05$). O tipo polínico *Machaerium* (bico de pato) apresentou associação positiva forte ($r=0.51$) com o parâmetro β-tocoferol ($p<0.05$) e associação negativa forte ($r=-0.56$) para β-caroteno ($p<0.05$). O tipo polínico *Piptocarpha* (vassourão) apresentou associação positiva forte ($r=0.59$) para β-tocoferol ($p<0.01$), associação positiva forte ($r=0.59$) para γ-tocoferol ($p<0.01$) e associação positiva forte ($r=0.99$) para δ-tocoferol ($p<0.01$). O tipo polínico *Senecio* (banana-de-macaco) apresentou associação positiva média ($r=0.48$) para carotenoides totais ($p<0.05$), associação positiva forte ($r=0.73$) para α-caroteno ($p<0.05$) e associação positiva forte ($r=0.58$) para β-caroteno ($p<0.05$).

Outros trabalhos mostraram associações entre os tipos polínicos e a composição química (centesimal e de vitaminas) em amostras de pólen apícola (MELO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009; ARRUDA *et al.*, 2013). Entretanto, as amostras utilizadas foram coletadas na região Sudeste (Estado de São Paulo) e, portanto, contendo tipos polínicos bem diferentes dos aqui apresentados. O único gênero semelhante a este trabalho e que esteve presente nas amostras de pólen

apícola analisadas por Oliveira et al. (2009) foi o *Eucalyptus.* Os autores relacionaram o aumento em 60% da vitamina C no mês de outubro em relação as amostras coletadas no mês de abril a este tipo polínico, entre outros. Além disso, associaram a presença da vitamina E nas amostras coletadas em outubro ao mesmo tipo polínico. Entretanto, a conclusão do trabalho revela que devido ao reduzido número (n=10) de amostras analisadas, não pode ser concluído com precisão qual a contribuição floral específica no teor de vitaminas, apesar de ser bem conhecido que uma espécie pode contribuir com mais do que uma vitamina. Neste trabalho, não foram observadas associações entre o gênero *Eucalyptus* e as vitaminas antioxidantes, utilizando métodos de análises estatísticas (correlação) para a avaliação.

Nenhum dos tipos polínicos presentes nas amostras de pólen apícola analisadas por Melo et al. (2009) foram observados no presente estudo. Entretanto, uma achado interessante deste trabalho foi que houve ausência de correlações significativas entre os tipos polínicos com relação ao teores de vitamina E (α-tocoferol) e de cinzas; enquanto que neste trabalho, dois tipo polínicos estiveram associados tanto ao conteúdo de cinzas (*Brassica napus* e *Eucalypitus*) como a concentração de α-tocoferol (*Montanoa* e *Euterpe*). Além disso, a análise estatística neste estudo mostrou ainda que apesar do gênero *Euterpe* não estar presente de forma dominante nas amostras, ele correlacionou-se com os parâmetros α- e β-caroteno e α-tocoferol; enquanto o gênero *Piptocarpha* correlacionou-se fortemente com δ-tocoferol e o gênero *Senecio* com α-caroteno.

De maneira geral, pode-se perceber que as diferenças de floração podem interferir na porcentagem de componentes nutricionais (Composição química e de vitaminas) encontrada no pólen apícola. Além disso, mais de um tipo de pólen pode contribuir com diferentes nutrientes. Neste sentido, estudos com polens monoflorais e com diferentes gêneros botânicos são necessários a fim de fornecerem resultados de correlação com maior precisão.

5. CONCLUSÕES

Apesar das amostras apresentarem diferenças entre os perfis polínicos, a maioria apresentaram um tipo polínico predominante e duas delas podem ser consideradas amostras monoflorais. Chama-se atenção para o gênero *Eucalyptus* que esteve presente em 16 amostras.

Foi possível observar uma falta de conhecimento da flora botânica apícola por parte dos apicultores, o que pode levar a erros de agregação de valor ao produto relacionado a origem botânica. Neste sentido, a divulgação dos estudos realizados nesta área, bem como a ampliação dos mesmos se tornam necessários para identificar variações significativas entre espécies e diferentes safras, visando uma padronização do pólen obtido em zonas bem definidas de produção apícola. Neste contexto, o georreferenciamento pode ser um aliado para a demarcação e formação de banco de dados sobre espécies botânicas com potencial de produção apícola.

Os resultados de correlação mostraram que alguns tipos polínicos se correlacionam de maneira positiva e forte com a composição nutricional do pólen apícola, como os gêneros *Brassica*com os teores de lipídios e proteínas, *Euterpe* com o α-tocoferol, α- e β-caroteno, *Piptocarpha* com os tocoferóis (β-, γ- e δ-), *Senecio* com α- e β-caroteno. Estas informações podem estimular a exploração por parte dos apicultores de uma flora apícola voltada para a presença dessas vitaminas, visando a sua comercialização como complemento alimentar.

6. REFERÊNCIAS

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, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diponível em:

http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal, Acesso em: 23/07/2012.

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

ARRUDA, V.A.S., PEREIRA, A.A.S., FREITAS, A.S., BARTH, O.M., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

BARTH, O.M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 1989. 150p.

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**, v.18, n.1, p.105- 111, 2005.

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 da Academia Brasileira de Ciências.** v.82, n.4, p.893-902, 2010.

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

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Hillsdale, NJ, Erlbaum, 1988.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho traz resultados relevantes a cerca da caracterização química (centesimal, açúcares e vitaminas antioxidantes) e botânica do pólen apícola produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil, valorizando assim o produto e trazendo informações e benefícios para apicultores, consumidores e pesquisadores da região e do país.

A composição química mostrou valores variáveis entre as amostras de pólen apícola da região Sul e a maioria encontraram-se de acordo com os parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira. Entretanto, as informações obtidas com os valores de umidade mostram a necessidade de novos estudos a fim de padronizar os métodos de desidratação do pólen apícola, além de reavaliar os limites de umidade recomendados. A qualidade do pólen apícola comercializado é uma preocupação mundial e este trabalho pode contribuir com informações que ajudarão na atualização das recomendações e padronizações das legislações brasileira e internacional para a qualidade do pólen apícola.

Os dados sobre a quantificação das vitaminas antioxidantes (C, tocoferóis, α- e β-caroteno) mostram a presença destas nas amostras provenientes da região Sul do Brasil, em alguns casos podendo ser consideradas fontes dietéticas das mesmas. Ressaltando a contribuição deste trabalho com os primeiros resultados nacional e internacional a cerca da quantificação dos tocoferóis (β-, γ-, δ-tocoferol), bem como de α-caroteno em amostras de pólen apícola.

Com a realização da análise polínica das amostras foi possível observar que alguns tipos polínicos se correlacionam de maneira positiva ou negativa com a composição nutricional do pólen apícola, contribuindo com informações que podem estimular a exploração por parte dos apicultores de uma flora apícola, visando a sua comercialização como complemento alimentar.

Por fim, o trabalho não só realiza como discute sobre o georreferenciamento das amostras de pólen apícola, mostrando a possibilidade de aumentar o conhecimento e a caracterização dos locais de coleta e transformando-o em um aliado também no controle de qualidade e na caracterização química e botânica do mesmo.

Anexos Obrigatórios

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de 30 minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de 30 minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de 30 minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até 60 minutos por examinador.

2.2 Tempo máximo total de arguição: 3 horas para o mestrado e 5 horas para o doutorado.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

4.2 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 26 de maio de 2011.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3091 3621 - Fax (11) 3091 3141 – e-mail: pgfarma@usp.br