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

Quantificação das vitaminas do complexo B (B_1 , B_2) e vitâmeros das
vitaminas B_3 e B_6 em amostras de pólen apícola desidratado
provenientes da Região Sul do Brasil

Bianca Rodrigues de Souza

Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Assoc. Ligia Bicudo de Almeida
Muradian

São Paulo
2014

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

Quantificação das vitaminas do complexo B (B_1 , B_2) e vitâmeros das
vitaminas B_3 e B_6 em amostras de pólen apícola desidratado
provenientes da Região Sul do Brasil

Bianca Rodrigues de Souza

Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Assoc. Ligia Bicudo de Almeida
Muradian

São Paulo
2014

Bianca Rodrigues de Souza

Quantificação das vitaminas do complexo B (B_1 , B_2) e vitâmeros das
vitaminas B_3 e B_6 em amostras de pólen apícola desidratado
provenientes da Região Sul do Brasil

Comissão julgadora
da
Dissertação para a obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Ligia Bicudo de Almeida Muradian
Orientador/Presidente

1º examinador

2º examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2014.

Dedico este trabalho à minha família:
marido, pais, avós e irmãos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me atender em todos os momentos em que lhe pedi que tocasse meu coração para que a coragem, a serenidade e a força para seguir vencendo cada desafio que a vida me impôs, aflorassem em meu ser. Sei que sem ele nada teria sido possível.

À Professora Ligia Bicudo de Almeida Muradian que ao me aceitar como orientada, acreditou no meu potencial para desenvolver esta pesquisa. Muito obrigada pela sua fé.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo por manter em sua instituição o Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos e pela oportunidade a mim concedida ao aprovarem o meu ingresso no curso de mestrado.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo importantíssimo apoio financeiro concedido a mim na forma de uma bolsa de mestrado.

À Dr. Ortrud Monika Barth Schatzmayr e a Alex da Silva Freitas pela parceria com o nosso grupo de pesquisa e pela realização das análises polínicas, cujos resultados enriqueceram o conteúdo desta dissertação.

Aos técnicos de laboratório, mas principalmente à Elias de Araújo por todo o apoio, ensinamentos e amizade.

Ao companheiro de pesquisa, Guto Gasparotto Sattler, pelas amostras compartilhadas.

À todos os companheiros de laboratório pelos conselhos, conversas, apoio, cervejas, pizzas, momentos tristes e felizes pelos quais passamos ao longo de nossa convivência na Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Adoro vocês e espero que esses momentos permaneçam vivos, como belas lembranças da minha pessoa.

Aos professores participantes da banca de qualificação Prof. Assoc. Jorge Mancini, Profa. Dra. Solange Carpes e Profa. Assoc. Susana Saad. Todas as suas correções, sugestões e observações forma muito bem vidas.

Ao meu amado marido Felipe Silva Neves e as minhas amigas Fernanda Santana e Fernanda Shinagawa pelo apoio nos momentos de finalização dessa pesquisa. O apoio de vocês três foi imprescindível para que eu tivesse serenidade para finalizar essa dissertação.

Aos meus pais, meus avós e irmãos. Sem eles eu não seria a pessoa que sou, pois o convívio com eles foi a base de meu caráter e educação.

Aos apicultores por exercerem uma atividade tão bela e por terem fornecido as amostras possibilitando a realização dessa pesquisa.

Às abelhas por produzirem o pólen apícola, objeto de curiosidade para tantos pesquisadores em várias partes do mundo.

RESUMO

SOUZA, B. R. **Quantificação das vitaminas do complexo B (B₁, B₂) e vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆ em amostras de pólen apícola desidratado provenientes da região Sul do Brasil.** 2014. 124f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Entende-se por pólen apícola o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuado pelas abelhas operárias, mediante néctar e substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia. A literatura descreve que esse alimento contém proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e minerais. De acordo com estudo prévio, amostras de pólen apícola *in natura* e desidratado, da cidade de Pariquera-Açu (São Paulo), apresentaram teores significativos de vitamina B₁ (tiamina) e B₂ (riboflavina), além da presença dos vitâmeros da vitamina B₃ (ácido nicotínico e nicotinamida) e B₆ (piridoxal, piridoxol e piridoxamina) em sua composição o que foi associado à flora local explorada pelas abelhas. A região Sul do Brasil possui clima, relevo e vegetação diferenciados de outras regiões, necessitando-se assim da verificação do potencial vitamínico deste produto local. Destaca-se, ainda, o fato de que nesta região encontra-se um dos dois maiores produtores nacionais de pólen apícola (estado de Santa Catarina). O presente trabalho teve como objetivo principal quantificar os teores das vitaminas do complexo B: vitaminas B₁ e B₂, assim como os vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆. Foram coletados 28 lotes de pólen apícola desidratado de diferentes localidades da região Sul durante o período de agosto de 2011 a dezembro de 2012 que posteriormente foram armazenados, a –18 °C até o momento das análises. As vitaminas do complexo B foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na matriz pólen apícola desidratado e os resultados foram expressos em base seca. Entre as amostras analisadas foram verificados teores de vitamina B₁ variando entre 0,46 e 1,83 mg / 100 g de pólen apícola; vitamina B₂ de 0,40 à 1,86 mg / 100 g e quanto à vitamina B₆ apenas os vitâmeros piridoxal e piridoxamina puderam ser quantificados em todos os lotes analisados. O piridoxal teve variação entre as amostras de 0,42 à 6,70 mg / 100 g e a piridoxamina de 0,26 à 0,95 mg / 100g. Em relação à vitamina B₃, o vitâmero ácido nicotínico apresentou-se nos diferentes lotes variando de 0,68 à 3,93 mg / 100 g e a nicotinamida de 0,27 à 5,54 mg / 100 g de produto. Tomando-se como porção sugerida para consumo diário 25 g de pólen apícola, verificou-se que num total de 28 amostras, 15 foram consideradas fontes e 2 como ricas em tiamina; 19 lotes foram fontes e 3 ricos em riboflavina, e; 2 lotes foram fontes e 26 ricos em piridoxina segundo à Ingestão Diária Recomendada (IDR) para adultos como disponibilizado na Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº. 269, de 22 de setembro de 2005.

Palavras-chave: Pólen apícola. Vitaminas. Tiamina. Riboflavina. Niacina. Piridoxina.

ABSTRACT

SOUZA, B. R. **Quantification of B complex vitamins (B₁, B₂) and vitamers of vitamins B₃ and B₆ in dehydrated bee pollen samples from Southern Brazil.** 2014. 124f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Bee pollen is understood to be the result of agglutination of pollen from flowers, made by worker bees, and nectar through salivary substances, which is collected at the hive entrance. The literature describes that this product contains proteins, carbohydrates, lipids, vitamins, minerals. Previous study with fresh and dehydrated bee pollen, from the city of Pariquera-Açu (São Paulo) showed significant levels of vitamin B₁ (thiamine), B₂ (riboflavin), presence of B₃ (nicotinic acid and nicotinamide) and B₆ (pyridoxal, pyridoxamine, pyridoxol) vitamins vitamers in its composition which was associated with the local flora explored by bees. Southern Brazil has a differentiated climate, topography and vegetation from other regions, thus requiring verification of vitamin potential of this local product. Also stands out the fact that this region is one of the two largest national producers of bee pollen (Santa Catarina state). This study aimed to quantify the levels of B complex vitamins: vitamins B₁, B₂, as well as the vitamers of vitamins B₃ and B₆. Thus, it was collected 28 batches of dehydrated bee pollen from different locations in the South during the period from August 2011 to December 2012. Samples were obtained and subsequently stored at -18 ° C until the analysis time. B vitamins were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) in bee pollen dehydrated matrix and results were expressed on a dry basis. Among the samples it levels of vitamin B₁ varied from 0.46 to 1.83 mg / 100 g; vitamin B₂ from 0.40 to 1.86 mg / 100 g; and for vitamin B₆, only the pyridoxal and pyridoxamine vitamers could be quantified in all analyzed batches. The pyridoxal had variation between samples from 0.42 to 6,70 mg / 100 g and pyridoxamine from 0.26 to 0.95 mg / 100g. Taking 25 g of bee pollen as suggested for daily intake portion, it was found in a total of 28 samples that 15 were considered sources and 2 rich in thiamine; 19 lots were sources and 3 rich in riboflavin, and; 2 lots were sources and 26 rich in pyridoxine in relation to the Reference Daily Intake (RDI) for adults as provided in Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 269, de setembro de 2005.

Keywords: Bee pollen. Vitamins. Thiamine. Riboflavin. Niacin. Pyridoxine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1 Características morfológicas externas de operária de <i>Apis mellifera</i>	24
Figura 2 Abelha colhe pólen de uma flor em Utrecht, na Holanda.....	25
Figura 3 Abelha <i>Apis mellifera scutellata</i> com a corbícula carregada com pólen apícola.....	25
Figura 4 Etapas de desenvolvimento da abelha <i>Apis mellifera</i>	27
Figura 5 Diferenciação física entre as castas presentes em uma colônia de abelhas.....	27
Figura 6 Realeira preenchida com geleia real e larva de abelha rainha.....	30
Figura 7 Classe de tamanho dos grãos de pólen.....	32
Figura 8 Desenho esquemático do grão de pólen.....	32
Figura 9 Desenho esquemático de uma flor.....	33
Figura 10 Abelhas carregando pólen apícola em suas corbículas atravessam a grade de retenção, instalada na entrada da colmeia, deixando cair no coletor as bolotas.....	35
Figura 11 Colmeia Langstroth em vista frontal ao lado esquerdo da imagem e ao lado direito desmontada para visualização de suas partes: tampa (A), melgueira (B), ninho (C), fundo (D), quadro de ninhos e quadros de melgueiras (E).....	39
Figura 12 À esquerda há um coletor de pólen apícola externo instalado no alvado da colmeia e à direita a imagem de um coletor interno.....	40
Figura 13 Diagrama de processo do pólen apícola ao ser entregue para beneficiamento em uma casa de pólen.....	42
Figura 14 Colherada de pólen apícola puro.....	46
Figura 15 Estrutura química da tiamina.....	52
Figura 16 Transformação da tiamina em sua forma ativa, pirofosfato de tiamina (TTP).....	54
Figura 17 Estrutura química da riboflavina, FMN e FAD.....	56
Figura 18 Estrutura química do ácido nicotínico e da nicotinamida.....	57

Figura 19	Estrutura química dos vitâmeros da piridoxina.....	59
Figura 20	Amostras de pólen apícola <i>in natura</i> prestes a serem desidratadas...	64
Figura 21	Diagrama do processo analítico de extração das vitaminas B ₁ , B ₂ e vitâmeros das vitaminas B ₃ e B ₆	67
Figura 22	Cromatograma obtido após a passagem de vitamina B ₁ , convertida em tiocromo , por detector de fluorescência.....	79
Figura 23	Cromatograma obtido após a passagem de vitamina B ₂ por detector de fluorescência.....	79
Figura 24	Cromatograma obtido após a passagem dos vitâmeros da vitamina B ₃ , ácido nicotínico e nicotinamida, por detector de fluorescência.....	80
Figura 25	Cromatograma obtido após a passagem dos vitâmeros da vitamina B ₆ , piridoxamina (A), piridoxal (B) e piridoxol (C) por detector de fluorescência.....	80
Figura 26	Imagens de tipos polínicos, visualizados em microscópio, no pólen apícola durante a realização de análise. (A) Asteraceae, (E) Eucalipytus, (B) Brassica, (Ba) Baccharis e (P) Poaceae.....	100

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Características gerais dos grupos atuantes na produção apícola brasileira.....	20
Tabela 2 Espécies de abelhas do gênero <i>Apis</i> que ocorrem nos continentes asiático, europeu e africano.....	22
Tabela 3 Atividades desenvolvidas pelas abelhas operárias durante o seu ciclo de vida.....	28
Tabela 4 Composição físico-química de amostras de pólen apícola brasileiro, avaliadas por diferentes autores.....	36
Tabela 5 Número de colmeias utilizadas na produção de pólen apícola nos estados brasileiros que se dispuseram a colaborar com a pesquisa..	38
Tabela 6 Situação da regulamentação de controle de qualidade dos produtos apícolas em alguns países.....	43
Tabela 7 Composição química e requisitos sensoriais para o pólen apícola de acordo com legislação brasileira.....	44
Tabela 8 Vitaminas do complexo B e seus respectivos vitâmeros.....	50
Tabela 9 Identificação das amostras e descrição da origem, data e estação do ano em que a coleta do pólen apícola foi realizada..	62
Tabela 10 Descrição das condições cromatográficas adotadas para a análise de cada vitamina do complexo B avaliada neste estudo	72
Tabela 11 Quantidade de vitamina B ₁ em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.....	81
Tabela 12 Quantidade de vitamina B ₂ em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.....	83
Tabela 13 Quantidade de vitamina B ₃ obtida em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.....	85

Tabela 14	Quantidade de vitamina B ₆ obtida em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.....	87
Tabela 15	Análise centesimal das amostras de pólen apícola desidratado e comparação dos resultados obtidos com a legislação específica do Brasil (BRASIL, 2001) e Argentina (ARGENTINA, 1990), representadas na tabela pelas letras A e B , respectivamente.....	92
Tabela 16	Tabela de informação nutricional elaborada a partir de dados de composição físico-química de amostras pólen apícola desidratado produzidas na região Sul do Brasil.....	97
Tabela 17	Valores de Acidez livre e pH verificados em amostras de pólen apícola da região Sul do Brasil.....	98
Tabela 18	Frequência de aparecimento e percentual da frequência por estado da região Sul do Brasil de tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado.....	99
Tabela 19	Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado do Paraná, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.....	101
Tabela 20	Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado de Santa Catarina, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.....	102
Tabela 21	Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado do Rio Grande do Sul, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.....	103
Tabela 22	Origem presumida pelos apicultores do pólen apícola produzido por eles. Além de classificação das amostras em monoflorais e poliflorais segundo as informações dos produtores e por meio da confirmação pelos resultados da análise polínica.....	105
Tabela 23	Coeficientes de correlação estabelecidos entre os tipos polínicos e os parâmetros físico-químicos determinados nas amostras de pólen apícola desidratado de apiários da região Sul do Brasil.....	107

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 A apicultura no Brasil.....	19
2.2 A abelha.....	21
2.2.1 <i>Introdução das abelhas Apis mellifera no Brasil.....</i>	<i>22</i>
2.2.2 <i>Morfologia básica das abelhas Apis mellifera.....</i>	<i>23</i>
2.2.3 <i>Organização social e ciclo de vida das abelhas Apis mellifera....</i>	<i>26</i>
2.2.3.1 <i>Nutrição das abelhas Apis mellifera.....</i>	<i>28</i>
2.2.4 <i>Os produtos da colmeia.....</i>	<i>29</i>
2.3 O pólen.....	31
2.3.1 <i>Definições e funções.....</i>	<i>31</i>
2.3.2 <i>A importância do pólen para das abelhas.....</i>	<i>34</i>
2.4 O pólen apícola.....	35
2.4.1 <i>Composição físico-química e valor nutricional.....</i>	<i>35</i>
2.4.2 <i>A produção do pólen apícola.....</i>	<i>37</i>
2.4.2.1 <i>Localização e instalação do apiário.....</i>	<i>38</i>
2.4.2.2 <i>Obtenção e processamento do pólen apícola.....</i>	<i>40</i>
2.4.3 <i>Controle de qualidade do pólen apícola.....</i>	<i>43</i>
2.4.4 <i>Estabilidade do pólen apícola.....</i>	<i>44</i>
2.4.5 <i>Benefícios e riscos envolvidos no consumo de pólen apícola....</i>	<i>46</i>
2.5 Palinologia.....	48
2.6 Vitaminas.....	49
2.6.1 <i>Vitamina B₁ (Tiamina).....</i>	<i>52</i>
2.6.2 <i>Vitamina B₂ (Riboflavina).....</i>	<i>55</i>
2.6.3 <i>Vitamina B₃ (Niacina).....</i>	<i>57</i>
2.6.4 <i>Vitamina B₆ (Piridoxina).....</i>	<i>59</i>
3 OBJETIVOS.....	61
3.1 Objetivo geral.....	61
3.2 Objetivos específicos.....	61
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
4.1 Material.....	62

4.1.1	Amostragem.....	62
4.1.2	Preparo das amostras.....	63
4.1.3	Padrões e reagentes.....	64
4.1.4	Equipamentos.....	65
4.2	Métodos.....	66
4.2.1	Extração e determinação das vitaminas do complexo B (B_1, B_2 e vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6) presentes no pólen apícola.	66
4.2.1.1	<i>Extração simultânea das vitaminas B_1, B_2, vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6.....</i>	66
4.2.1.2	<i>Determinação de vitamina B_1, com reação pré-coluna.....</i>	67
4.2.1.3	<i>Determinação de vitamina B_2.....</i>	69
4.2.1.4	<i>Determinação de vitamina B_3.....</i>	69
4.2.1.5	<i>Determinação de vitamina B_6.....</i>	70
4.2.1.6	<i>Condições cromatográficas para a determinação das vitaminas B_1, B_2, vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6.....</i>	71
4.2.1.7	<i>Preparo e diluição das soluções padrão para obtenção de curvas padrão.....</i>	73
4.2.2	Análises de composição físico-química.....	73
4.2.2.1	<i>Determinação de umidade.....</i>	73
4.2.2.2	<i>Determinação de cinzas.....</i>	74
4.2.2.3	<i>Determinação de proteínas.....</i>	74
4.2.2.4	<i>Determinação de lipídeos.....</i>	74
4.2.2.5	<i>Determinação de açúcares totais.....</i>	74
4.2.2.6	<i>Determinação de açúcares redutores (glicose e frutose).....</i>	74
4.2.2.7	<i>Determinação de fibra bruta.....</i>	75
4.2.2.7	<i>Determinação de acidez.....</i>	75
4.2.2.8	<i>Determinação de pH.....</i>	76
4.2.3	Análise polínica.....	76
4.2.3.1	<i>Preparação de amostras de pólen apícola.....</i>	76
4.2.3.2	<i>Preparação de lâminas de microscópio.....</i>	76
4.2.3.3	<i>Contagem e identificação de grãos de pólen e elementos figurados..</i>	77
4.2.4	Tratamento estatístico.....	77
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.1	Quantificação de vitaminas B_1, B_2 e vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6 no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil.....	79

5.2	Composição físico-química do pólen apícola desidratado.....	89
5.3	Análise polínica.....	99
5.3.1	<i>Classificação das amostras de pólen apícola desidratado e origem presumida pelos apicultores.....</i>	105
5.4	Correlação entre os tipos polínicos e os resultados das análises de composição físico-química do pólen apícola desidratado.....	106
6	CONCLUSÕES.....	109
7	PERSPECTIVAS PARA ESTUDOS FUTUROS.....	110
8	REFERÊNCIAS.....	111

1 INTRODUÇÃO

O pólen é um pó fino cuja coloração varia de acordo com a espécie floral de sua origem. Predominantemente, o encontramos na cor amarela, mas é possível visualizá-lo também nos tons vermelho, castanho, verde e cinza (COUTO e COUTO, 2006; KRELL, 1996; RIBEIRO e SILVA, 2007).

O pólen é coletado pelas abelhas nas flores, sendo formadas bolotas que posteriormente serão armazenadas em alvéolos dentro da colmeia (BARTH, 1989). Ao pólen são adicionados néctar e substâncias salivares, produzidas pelas abelhas, sendo utilizado, posteriormente, como fonte de proteína para a colônia (BRASIL, 2001). As secreções salivares provenientes das abelhas são ricas em enzimas e fazem com que o pólen apícola passe a possuir características físico-químicas diferentes do pólen presente nas flores (PCHELOVODSTVO, 1999).

Conforme Ligen (1989), Pereira *et al.* (1994) e Rocha *et al.* (2002), no Brasil, a produção de pólen apícola iniciou-se, de forma modesta, no final da década de 80. Nos últimos anos o mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos estimulou e promoveu essa modalidade da cadeia produtiva apícola.

A produção de pólen apícola trata-se de uma modalidade recente na cadeia apícola brasileira de modo que apenas a partir da década de 1990 os cientistas passaram a se dedicar a pesquisas sobre a produção desse alimento. Os estudos foram focados na adaptação de técnicas de produção, respeitando a realidade da apicultura de clima tropical, e ao uso de abelhas africanizadas.

As adaptações ocorreram através da escolha adequada de equipamentos, ajuste de medidas de telas retentoras, manejo, reconhecimento da flora polinífera e nectarífera, conhecimento do comportamento de coleta do pólen apícola na flora brasileira, caracterização físico-química, técnicas de processamento e seu preparo e comercialização (ALVES, 1995; BARRETO, 2004; BARRETO *et al.*, 2000; FUNARI *et al.*, 1994; LOPES *et al.*, 2011; MELO e ALMEIDA-MURADIAN, 2010, 2011; MORETI, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2009; SALOMÉ e SALOMÉ, 1998; SAMPAIO e FREITAS, 1993; SCHAUSE, 1994; REIS e MARCHINI 2000).

A composição química e a qualidade do pólen apícola dependem diretamente de diversos fatores. A origem floral, estado nutricional e idade da planta, são fatores intrínsecos enquanto que o clima, composição química do solo e estação

do ano representam os fatores extrínsecos. Ainda temos os fatores tecnológicos que podem afetar as características originais do pólen apícola dependendo das condições de processamento, tipo de embalagem e tempo de armazenamento a que esse produto é submetido (ARRUDA *et al.*, 2013a; CARPES *et al.*, 2009; FAYE, PIACHUELO e MOLIELLI, 2002; KRELL, 1996; MARCHINI, REIS e MORETI, 2006; MELO *et al.*, 2010; MENESES, 2005).

No Brasil, o fator intrínseco relacionado à flora é muito diverso. A região Sul do país abriga em seu território biomas, como o cerrado, a mata atlântica e o pampa. Nesses biomas estão inseridas áreas de vegetação natural distribuídas entre florestas estacionais semidecíduais, florestas estacionais, florestas ombrófilas mistas, florestas ombrófilas densas, savanas, savanas-estépicas, estepes e áreas de formações pioneiras e de tensões ecológicas (IBGE, 2012).

Essa região, além de suas características naturais únicas em relação a outras regiões brasileiras, concentra em Santa Catarina um importante pólo produtivo de pólen apícola desidratado para fins comerciais no mercado nacional e internacional, com produção por colmeia / mês de até 4 kg desse produto. (BARRETO, FUNARI e ORSI, 2006).

O pólen apícola contém proteínas, carboidratos, lipídeos, sais minerais, vitaminas antioxidantes, do complexo B e vitamina D (ARRUDA *et al.*, 2013a, 2013b; CAMPOS, CUNHA e MARKHAM, 1997; MELO e ALMEIDA-MURADIAN, 2010; MUNIATEGUI *et al.*, 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2009), assim como compostos fenólicos, principalmente flavonoides (ALMARAZ-ABARCA *et al.*, 2003, 2007; CARPES *et al.*, 2007, 2008, 2009a, 2009b; LOPES *et al.*, 2011; MENEZES *et al.*, 2010).

O conhecimento da composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil é de fundamental importância para avaliar a disponibilidade de nutrientes e o seu consumo por populações, além de verificar a adequação nutricional da dieta, identificar o estado nutricional, auxiliar no desenvolvimento de pesquisas sobre as relações entre dieta e doenças, no planejamento agropecuário e na indústria de alimentos. Entretanto, pelas suas dimensões continentais, nosso país possui uma infinidade de alimentos que ainda não foram caracterizados (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2011).

Os trabalhos de Arruda *et al.* (2013a) e Melo e Almeida-Muradian (2010) elucidaram qual a forma mais adequada de estocagem desse produto em relação à preservação das suas vitaminas. Arruda *et al.* (2013a) verificaram que os teores das

vitaminas do complexo B (B₁, B₂ e os respectivos vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆) mantiveram-se estáveis em relação ao processo de desidratação e as condições de estocagem, decaindo de acordo com o tempo de armazenamento e não em função do tipo de estocagem adotado. Melo e Almeida-Muradian (2010) citaram que a melhor forma de estocagem foi o congelamento, pois conservou as vitaminas antioxidantes do produto em questão.

Arruda *et al.* (2013b), Melo e Almeida-Muradian (2010) e Oliveira *et al.* (2009) em seus respectivos estudos também conseguiram estabelecer uma correlação entre os teores de vitaminas do complexo B e antioxidantes com a origem botânica e os teores de cada tipo polínico presentes no “mix polínico”.

Apesar das pesquisas realizadas sobre a estabilidade das vitaminas do complexo B e das vitaminas antioxidantes no pólen apícola, apenas uma pequena área localizada no Estado de São Paulo (cidade de Pariqueira-Açú) foi fornecedora das amostras avaliadas, o que torna as informações obtidas não representativas frente a extensão territorial do Brasil já que a composição nutricional desse alimento está diretamente ligada às características da localidade da flora local explorada pelas abelhas (ARRUDA *et al.*, 2013a; MELO e ALMEIDA-MURADIAN, 2010).

As vitaminas compreendem um grupo diverso de compostos orgânicos, os quais são micronutrientes essenciais na dieta humana. As funções das vitaminas *in vivo*, sob vários aspectos, são de atuação como: componentes do sistema de defesa antioxidante (ácido ascórbico ou vitamina C, alguns carotenoides e vitamina E); fatores envolvidos na regulação genética (vitaminas A e D); atuação em funções específicas, como a vitamina A na visão, ascorbatos em várias reações de hidroxilação e vitamina K nas reações de carboxilação específicas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As vitaminas do complexo B: tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, cianocobalamina, biotina e ácido fólico atuam exclusivamente como coenzimas ou seus precursores (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Na literatura faltam dados sobre as características do pólen apícola desidratado produzido na região Sul do Brasil, sendo essencial a execução de trabalhos de caráter exploratório que visem identificar o teor vitamínico, composição centesimal e origem polínica das amostras, buscando-se uma correlação entre todas essas informações. Dado o clima, tipos de relevos e vegetação únicos da região Sul

do Brasil em relação ao resto do país, é impossível inferir a composição das amostras de pólen apícola dessa área, sem analisá-las a fundo.

O presente trabalho teve o objetivo de analisar amostras de pólen apícola, previamente desidratadas, dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul o que resultou num estudo regional inédito e essencial para o estabelecimento do controle de qualidade desse alimento e ampliação de informações úteis para fins de rotulagem nutricional no âmbito relacionado a presença ou não das vitaminas do complexo B analisadas neste trabalho.

Devido a importância do uso de um método sistemático para a caracterização do pólen apícola com relação aos seus constituintes (CAMPOS *et al.*, 2008) foi adotado para a análise das vitaminas do complexo B (B₁, B₂ e os respectivos vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆) a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) estando a metodologia já validada por Arruda *et al.* (2013a) para a matriz pólen apícola.

Além disso, os resultados deste estudo também colaborarão com a Rede Nacional de Pesquisadores da Cadeia Produtiva do Pólen Apícola (RENAPOLEN) e com a *International Honey Commission* (IHC), organizações que pretendem elaborar um padrão de identidade e qualidade para o pólen apícola em escala nacional e internacional, respectivamente. Por fim, uma vez que contempla o Estado de Santa Catarina, um dos maiores pólos produtores e exportadores deste alimento, este trabalho torna-se importante também para a cadeia produtiva do Estado, e consequentemente, do país.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A apicultura no Brasil

A apicultura é uma atividade amplamente disseminada pelo mundo e que tem se transformado significativamente desde sua implantação no Brasil em 1839 (RANGEL, 2006). Nos últimos anos, devido às condições climáticas favoráveis à adaptação das abelhas e ao desenvolvimento das colmeias essa atividade tem se expandido (ALMEIDA e CARVALHO, 2009; FERRAZ *et al.*, 2012).

Por sua dependência em relação aos recursos naturais disponíveis nas proximidades e no local de instalação dos apiários, a apicultura pode apresentar oscilações na produção dos itens obtidos em sua prática dependendo da região onde é realizada (PEREIRA *et al.*, 2006; WIESE, 1986). Mas, em contra partida pode ser aplicada em paralelo a outras atividades prioritárias em comunidades agrícolas (MAGALHÃES e BORGES, 2012) aproveitando-se a mão-de-obra existente para gerar mais renda para as famílias e fixar as mesmas no campo (PEREIRA *et al.*, 2007).

Em observação a este fato, incentivos governamentais vêm sendo utilizados com o objetivo de impulsionar essa atividade. Encarada como uma forma de possibilitar o crescimento econômico e social de famílias rurais de baixa renda (ALMEIDA e CARVALHO, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2013), tecnicamente, a apicultura acata aos valores do tripé da sustentabilidade, sendo de baixo custo para o início e condução de sua prática, trazendo crescimento econômico para os apicultores e sendo ambientalmente segura para a natureza (ALMEIDA e CARVALHO, 2009).

No Brasil, a apicultura é formada principalmente por pequenos produtores, mas também podemos verificar a atuação, nesse mercado, de médios e grandes apicultores. Em termos de quantidade de colmeias por produtor, os médios produtores chegam a explorar até 1500 colmeias, enquanto que os grandes apicultores até 2500 colmeias. Na **Tabela 1** estão discriminadas outras diferenças características de cada classe praticante da apicultura no Brasil (FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL, 2010).

Tabela 1: Características gerais dos grupos atuantes na produção apícola brasileira.

Produtores	Quantidade de colmeias exploradas	Tipo de mão de obra empregada	Realização de atividades em paralelo	Características marcantes de cada classe
Pequenos	Até 150	Familiar.	Mantêm atividades agropecuárias principais ou complementares a apicultura	Trabalham em parceria com outros pequenos apicultores durante o período de coleta, mas não deixam de ser independentes.
Médios	Entre 150 e 1500	Contratação em regime temporário ou permanente, porém sem registro em carteira.	São mais especializados, porém mantêm outras atividades agropecuárias.	Oferecem salários melhores aos seus trabalhadores devido à escassez de mão de obra especializada.
Grandes	Entre 1500 até 2500	Contratação em regime temporário ou permanente, porém sem registro em carteira.	São especializados e geralmente mantêm atividades urbanas em paralelo.	Não trabalham com mais que 2500 colmeias, pois a administração da atividade ficaria mais complexa e onerosa.

Fonte: Fundação Banco do Brasil (2010).

Com base em informações, do IBGE (2010), sobre a produção de mel no Brasil é possível traçar uma lógica para reconhecer em quais localidades essa atividade é mais presente. Dessa forma, a região Sul apresentou-se mais ativa na prática da apicultura alcançando a produção total no ano de 2010, igual à 16.532 toneladas de mel. Comparando-se os resultados alcançados na região Sul com os de outras regiões brasileiras, no mesmo período, os estados da região Nordeste, não ficaram muito para trás, produzindo 13.116 toneladas de mel por ano. Porém, as demais regiões, Sudeste, Centro-Oeste e Norte apresentaram-se bem menos engajadas na atividade apícola, com produções respectivas de 6.156, 1.290 e 750 toneladas de mel por ano que nem mesmo somadas chegam a se aproximar aos valores contabilizados nas regiões Sul ou na região Nordeste do Brasil.

Outro serviço essencial realizado pelas abelhas, além da produção dos chamados produtos da colmeia (mel, pólen apícola, própolis, geleia real, cera e apitoxina) é a polinização. Nos últimos 7 anos foram veiculadas informações sobre experimentos que objetivam o manejo de abelhas em áreas dominadas pela fruticultura, com o foco em melhorar a qualidade e aumentar a quantidade de frutos produzidos e em via de mão dupla melhorar a qualidade e quantidade dos produtos da colmeia. Já

foram realizados testes com cultivares de melão e morango (LUZ, MEIRA e ORRICO, 2012; MALAGODI-BRAGA e KLEINERT, 2007).

É visível que a atividade apícola pode ser uma alternativa rentável e que contribui para a contenção do êxodo rural (FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL, 2010). Porém, também está em início de desenvolvimento no Brasil e necessita de investimentos em tecnologia, mas principalmente, de uma repaginação cultural em relação à demanda interna do consumo dos produtos da colmeia para que este mercado tenha força para continuar crescendo (SEBRAE, 2014).

2.2 A abelha

A abelha pertence à ordem dos himenópteros e à superfamília dos Apoidea (RAMOS e CARVALHO, 2007) dessa forma é subdividida em seis famílias, conhecidas, de abelhas de língua curta, sendo elas: *Colletidae*, *Stenotritidae*, *Halictidae*, *Andrenidae*, *Oxaeidae* e *Melittidae*. Além de outras duas famílias de abelhas de língua comprida: *Megachilidae* e *Apidae* (NATES-PARRA e GONZÁLES, 2000).

Acredita-se que no período geológico conhecido como Cretácio (146 a 76 milhões de anos atrás) ocorreu o surgimento das abelhas a partir das vespas. Essa evolução se deu em decorrência do aparecimento das primeiras plantas produtoras de flores. Esse fato possibilitou a mudança dos hábitos alimentares das vespas que aderiram ao consumo de pólen e néctar, inicialmente, como complemento à dieta de insetos fornecida às suas crias. Posteriormente, foi possível para algumas espécies desses animais, dotadas com maior facilidade para a coleta de produtos vegetais, deixar de predar dando origem às abelhas (FREITAS, 2013; PERUQUETTI, 2014).

Durante esse processo evolutivo, surgiram várias espécies de abelhas. Acredita-se serem conhecidas por volta de 20 mil espécies, porém a quantidade de espécies desconhecidas pode ser superior ao dobro das já descobertas. Somente 2% das espécies de abelhas são sociais, entre elas as do gênero *Apis* (FREITAS, 2013; PEREIRA *et al.*, 2003). As abelhas do gênero *Apis* são eussociais e pertencem à família Apidae, subfamília Apinae, tribo Apini, subtribo Apina (SILVEIRA, MELO e ALMEIDA, 2002).

Na **Tabela 2** são apresentadas as espécies de abelhas inseridas no gênero *Apis* que ocorrem nos continentes asiático, europeu e africano.

Tabela 2: Espécies de abelhas do gênero *Apis* que ocorrem nos continentes asiático, europeu e africano.

Raça	Distribuição
<i>Apis mellifera adami</i>	Creta
<i>Apis mellifera andansonii</i>	Costa Oeste da África
<i>Apis mellifera anatolica</i>	Turquia até Oeste do Irã
<i>Apis mellifera armênica</i>	Armênia
<i>Apis mellifera capensis</i>	Sul da África do Sul
<i>Apis mellifera cecropia</i>	Sul da Grécia
<i>Apis mellifera cypria</i>	Mediterrâneo central e Sudoeste da Europa
<i>Apis mellifera intermissa</i>	Líbia até Marrocos
<i>Apis mellifera jemenetica</i>	Somália, Uganda, Sudão
<i>Apis mellifera lamarckii</i>	Egito, Sudão e Vale do Nilo
<i>Apis mellifera litorea</i>	Costa Leste da África
<i>Apis mellifera macedônica</i>	Norte da Grécia
<i>Apis mellifera major</i>	Marrocos
<i>Apis mellifera meda</i>	Turquia até Oeste do Irã
<i>Apis mellifera nubica</i>	África
<i>Apis mellifera remipes</i>	Região caucasiana
<i>Apis mellifera sahariensis</i>	Argélia
<i>Apis mellifera siciliana</i>	Sicília – Itália
<i>Apis mellifera syriaca</i>	Palestina e Síria
<i>Apis mellifera unicolor</i>	Madagascar
<i>Apis mellifera yementica</i>	Yemen e Oman
<i>Apis mellifera litorea</i>	Costa Leste da África
<i>Apis mellifera monticola</i>	Tanzânia, em altitude entre 1500 e 3100 m

Fonte: Pereira et al. (2003).

2.2.1 Introdução das abelhas *Apis mellifera* no Brasil

Entre as décadas de 40 e 60 do século XVIII, imigrantes europeus introduziram em território brasileiro as subespécies de abelhas *Apis mellifera mellifera* (alemã), *Apis mellifera ligustica* (italiana), *Apis mellifera carnica* (austríaca) e *Apis mellifera caucasica*, porém sem resultados significantes em relação ao aumento da produção de mel. Antes da chegada das abelhas do gênero *Apis*, habitavam no país apenas abelhas nativas e sem ferrão, os meliponíneos (KERR, 2012; PEREIRA e LOPES, 2011).

Em 1956, o Professor Dr. Warwick Estevam Kerr iniciou um programa de seleção de subespécies de abelhas com o objetivo de obter híbridos com características das abelhas africanas e europeias. Dessa forma, trouxe ao país rainhas da abelha africana *Apis mellifera scutellata*. Cerca de um ano depois, 26 enxames com suas respectivas rainhas, escaparam do Horto de Camaquan, no Município de Rio Claro (SP) e cruzaram com as demais subespécies de abelhas melíferas europeias, aqui introduzidas anteriormente. O resultado obtido com esse acidente foi o surgimento de populações polí-híbridas, denominadas africanizadas. (KERR, 1967).

As abelhas africanizadas têm predominância das características das abelhas africanas, tais como a grande capacidade de enxamear, a rusticidade e a alta produtividade de mel. Em contra partida, apresentam-se mais calmas durante o manejo, característica esta herdada das espécies europeias (KERR, 1967). Porém de acordo com Pereira *et al.* (2003) há predominância das características das abelhas europeias no Sul do Brasil, enquanto que na região Norte predominam as características das abelhas africanas.

2.2.2 Morfologia básica das abelhas *Apis mellifera*

Sobre a morfologia da abelha *Apis mellifera* adulta, o seu corpo é constituído por um exoesqueleto de quitina que pode ser dividido basicamente em cabeça, tórax e abdômen, como demonstrado na **Figura 1**.

Na cabeça estão localizados os olhos (simples e compostos), as antenas, o aparelho bucal e, internamente, as glândulas. Em relação aos olhos compostos, na abelha são formados por estruturas menores denominadas omatídeos e a quantidade de omatídeos pode variar de acordo com a casta (rainha, operária ou zangão), estando presente em maior número nos zangões (PEREIRA *et al.*, 2003).

Sobre as glândulas, pode-se afirmar que são as responsáveis pela regulação das atividades das abelhas operárias durante o seu ciclo de vida e estão profundamente ligadas a alimentação da colmeia e nutrição das larvas e da rainha (MAGALHÃES e BORGES, 2012). Existem em três tipos e estão presentes na cabeça da abelha, sendo elas as glândulas hipofaríngeas, salivares e mandibulares (PEREIRA *et al.*, 2003).

As glândulas hipofaríngeas têm como função produzir a geleia real, as glândulas salivares estão envolvidas no processamento dos alimentos (néctar e pólen) coletados pelas abelhas campeiras e as glândulas mandibulares estão relacionadas à produção de geleia real e ao feromônio de alarme (PEREIRA *et al.*, 2003).

Figura 1: Características morfológicas externas de abelha operária *Apis mellifera*.
Fonte: Adaptada de Pereira *et al.* (2003).

No tórax da abelha, estão fixados três pares de pernas e asas, dos quais exceto as asas, todo o restante do conjunto é recoberto por uma grande quantidade de pelos. Como em destaque na **Figura 2**, os pelos são de extrema importância para a coleta de alimento, pois são neles que os grãos de pólen se fixam durante os voos das abelhas (NOGUEIRA-COUTO e COUTO, 2002).

Figura 2: Abelha colhe pólen de uma flor em Utrecht, na Holanda.

Fonte: <http://topicos.estadao.com.br/fotos-sobre-abelha/abelha-colhe-polen-de-uma-flor-emutrecht,8D85EC9F-6168-41B8-A9DE-FB223C5EDA04>

Na **Figura 3**, é possível visualizar a presença de adaptações, chamadas de corbículas, presentes nas pernas posteriores das abelhas operárias. É nas corbículas que ocorre o transporte das cargas de pólen e resinas até a colmeia (PEREIRA *et al.*, 2003) em velocidade média de 24 Km / h de acordo com Nogueira-Couto e Couto (2002).

Figura 3: Abelha *Apis mellifera scutellata* com a corbícula carregada com pólen apícola.

Fonte: <http://dani-teiadavida.blogspot.com.br/2011/11/desvendando-o-mundo-das-abelhas.html>

O tamanho e o peso das cargas de pólen coletados pelas abelhas do gênero *Apis* pode variar muito, mas a média em massa é de 7,5 mg e pode chegar até 15 mg dependendo da planta doadora do pólen, necessidades da colônia e em decorrência da espécie da abelha coletora (MORETTI *et al.*, 2011).

Retomando a morfologia da abelha, em seu abdômen estão distribuídos os órgãos do aparelho digestivo, circulatório, reprodutor, excretor, órgãos de defesa

(ferrão) e glândulas produtoras de cera. Dentre todos esses sistemas, merece destaque o aparelho digestivo, pois é nele que está contida a vesícula melífera ou papo de mel (NOGUEIRA-COUTO e COUTO, 2002).

Esse órgão é importante para a sobrevivência da colmeia, pois possui a função de transportar néctar, mel e água. A vesícula nectarífera possui grande capacidade de expansão e ocupa quase toda a cavidade abdominal quando está cheia e seu conteúdo é regurgitado pela contração da musculatura (NOGUEIRA-COUTO e COUTO, 2002) para dentro dos favos com o objetivo de maturação e armazenamento do que se transformará em mel (BRASIL, 2000).

2.2.3 Organização social e ciclo de vida das abelhas *Apis mellifera*

As abelhas são insetos sociais que vivem em colônias organizadas em castas. Em relação ao seu desenvolvimento físico, os ovos postos pela abelha rainha podem originar novas rainhas ou operárias, num período respectivo de 7 e 20 dias (MAGALHÃES e BORGES, 2012). Todo o processo pode ser entendido por meio da representação constante na **Figura 4**, onde observamos as cinco fases de desenvolvimento da abelha *Apis mellifera*: ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto.

De acordo com a casta a que pertence, a abelha desempenha determinado papel. A rainha, por exemplo, é a responsável pela reprodução, transmitindo aos seus descendentes as suas características. Pode sobreviver entre 3 e 5 anos, porém nas condições climáticas do território brasileiro sua vida útil, como reprodutora, é de aproximadamente 1 ano e em relação às demais castas possui físico diferenciado como demonstrado na **Figura 5**.

Figura 4: Etapas de desenvolvimento da abelha *Apis mellifera*.

Fonte: Pereira *et al.* (2003).

Figura 5: Diferenciação física entre as castas presentes em uma colônia de abelhas.

Fonte: <http://jeffersonwellington.wordpress.com/category/anatomia-da-abelha/>

Os zangões são menores que a rainha e possuem função exclusiva de fecundá-la, morrendo em seguida. Enquanto que as operárias trabalham dentro e fora da colmeia, obedecendo a uma escala de atividades que está associada com a

idade e o desenvolvimento de suas glândulas, como especificado na **Tabela 3**. (MAGALHÃES e BORGES, 2012).

Tabela 3: Atividades desenvolvidas pelas abelhas operárias durante o seu ciclo de vida.

Denominação da abelha operária	Período do ciclo de vida da abelha	Atividades desenvolvidas
Faxineira	Do 1º ao 3º dia	Realizam a limpeza do interior da colmeia, abrindo espaço para o depósito de mel e ovos que gerarão novas abelhas operárias.
Nutriz	Do 4º ao 14º dia	Preparam e cuidam da alimentação da rainha e larvas.
Engenheira	Do 14º ao 21º dia	Neste período se dedicam a produção de cera e construção de favos.
Campeira	Do 21º ao 42º dia	Realizam a coleta de pólen e néctar no campo com o objetivo de alimentar os indivíduos da colmeia.

Fonte: Adaptada do texto de Magalhães e Borges (2012).

2.2.3.1 *Nutrição das abelhas Apis mellifera*

O pólen, o néctar e a água constituem a dieta das abelhas. Fatores como sazonalidade da flora apícola e tipo de manejo exploratório nos apiários podem tornar necessário o oferecimento de alimentação artificial, com o objetivo de evitar perdas de colônias e a diminuição na produção de produtos da colmeia na estação seguinte (ABBAS, HASNAIN e ALI, 1995).

O néctar é um líquido adocicado composto de sacarose, glicose, frutose e água, secretado pelos nectários das flores, coletado pelas abelhas e conduzido até a colmeia. A transformação do néctar em mel tem início com a sua desidratação, processo esse realizado pela abelha até umidade abaixo de 20 %. Após essa etapa o mel é depositado nos favos e operculado até que esteja maduro. O mel é consumido pelas abelhas adultas, sendo a sua fonte de energia (LEGLER, 1999).

A água é essencial para as abelhas, devendo ser de boa qualidade. É usada no metabolismo, diluição de alimentos concentrados e na termorregulação da colmeia. Estima-se que o consumo de água por uma colônia normal de abelhas, na ausência de entrada de néctar é de 5 litros por semana (LEGLER, 1999).

O pólen é importante, pois é a matéria prima para a produção de geleia real e do pão de abelha (PEREIRA *et al.*, 2003; WINSTON, 1987).

A geleia real produzida pelas abelhas nutrizas é, então, administrada às larvas e à rainha. Na ausência desse alimento, há redução da postura da rainha e diminuição da sobrevivência das crias, devido ao importante papel que possui em suprir a necessidade proteica, principalmente, dos estágios mais jovens de desenvolvimento das três castas existentes na colmeia (LEGLER, 2003; PEREIRA *et al.*, 2003; OLIVEIRA e CUNHA, 2005; SALOMÉ, 2009).

As larvas de todas as castas são alimentadas com geleia real até os três dias de vida (SOUZA, 2007). Após esse período, as futuras operárias e os zangões passam a receber um alimento menos nutritivo composto pela secreção clara, produzida pelas glândulas hipofaríngeas e também presente na geleia real, e uma mistura amarelada que contém pólen, mel e água (CAMPOS, *et al.*, 1987; PEREIRA *et al.*, 2003; SALOMÉ, 2009).

As larvas destinadas a serem rainhas permanecem recebendo geleia real em abundância, pois a futura rainha depende de um alimento mais nutritivo para desempenhar suas funções de reprodutora na colmeia (SOUZA, 2007).

As necessidades alimentares das abelhas *Apis* adultas diferem entre as castas, com a idade e época do ano (PEREIRA, 2005). Mas sabe-se que a rainha é alimentada com geleia real durante toda a sua vida e as operárias com até 18 dias de vida precisam de pólen (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

As abelhas estocam um pouco de pólen nos seus ninhos na forma de pão de abelha. Esse alimento é constituído por pólen e mel, algumas enzimas, dentre elas a invertase, secreções glandulares das abelhas e microorganismos (*Pseudomonas*, *Lactobacillus*, e *Saccharomyces* sp (WINSTON, 1987).

2.2.4 Os produtos da colmeia

A criação racional de abelhas representa uma importante atividade comercial na qual o homem tem acesso a uma gama considerável de itens derivados da colmeia, tais como a apitoxina, a geleia real, a própolis, a cera, o mel e o pólen apícola (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

A apitoxina é o veneno produzido pelas glândulas abdominais presentes na abelha e é composta por água e substâncias ativas como a apamina, melitina, fosfolipase, hialuronidase e aminoácidos (BRASIL, 2001). A apitoxina fica armazenada no interior da bolsa de veneno e é removido de forma sistêmica, pelos apicultores, para que possa ser vendida. O seu uso se dá em tratamentos de doenças reumáticas (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

A geleia real é o produto secretado pelo sistema glandular cefálica, representado pelas glândulas hipofaringeanas e mandibulares, das abelhas operárias. Esse derivado da colmeia é composto por água, proteínas, lipídios, açúcares, vitaminas, hormônios e sais minerais. Seu aspecto é cremoso e com coloração que varia do branco ao marfim, como demonstrado na **Figura 6** (BRASIL, 2001). O seu valor econômico principal é como ingrediente utilizado pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

Figura 6: Realeira preenchida com geleia real e larva de abelha rainha.

Fonte: <http://www.ricardoartsblog.com/2011/02/curiosidades-geleia-real-e-propolis.html>

A própolis é composta por substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, adicionadas de secreções salivares, cera e pólen apícola. As substâncias resinosas provêm de brotos, flores e exsudados de plantas, visitados pelas abelhas durante a coleta de alimentos. Em relação ao seu aspecto, a própolis tem a sua coloração definida de acordo com a sua origem botânica, podendo, por exemplo, ser amarela, verde ou marrom (BRASIL, 2001). Existe ainda a própolis vermelha que comparada aos outros tipos, sendo todos de origem brasileira, possui composição química distinta (CABRAL *et al.*, 2009).

As abelhas, utilizam a própolis para manter a sanidade da colônia e fechar frestas e a entrada do ninho, protegendo-as do frio durante o inverno. Comercialmente, a própolis é um ingrediente explorado pelas indústrias de produtos de beleza e de remédios, pois possui efeitos cicatrizante e antibiótico (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

A cera é produzida e usada, pelas abelhas, na construção dos favos e no fechamento dos alvéolos (operculação), possuindo baixo ponto de fusão (entre 61 e 65 °C). Sensorialmente, esse produto é de consistência plástica, cor amarelada e odor semelhante ao do mel (BRASIL, 2001). São consumidores da cera de abelha, as indústrias de produtos de beleza, medicamentos, velas e têxtil (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

O mel é um alimento produzido, pelas abelhas, a partir do néctar das flores ou de secreções que podem ser procedentes de partes vivas de plantas ou insetos sugadores das mesmas. Esse material é então recolhido para dentro da colmeia, transformado, combinado com substâncias específicas próprias, armazenado e deixado para madurar nos favos. Quimicamente, é constituído principalmente por açúcares, predominado a glicose e a frutose, mas também estão presentes, nessa mistura complexa, outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen (BRASIL, 2000). O mel é consumido pelas abelhas como supressor de sua necessidade de ingestão de carboidratos e as suas características sensoriais variam de acordo com a sua origem floral (EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007).

O pólen apícola, assim como o mel, é utilizado como alimento tanto pelas abelhas, que o produzem, como pelos humanos. A sua caracterização foi descrita detalhadamente ao longo item **2.4**, deste estudo.

2.3 O pólen

2.3.1 Definições e funções

O pólen é um pó fino cuja coloração varia de acordo com a espécie floral de sua origem. Predominantemente, o encontramos na cor amarela, mas é possível visualizá-lo também nos tons vermelho, castanho, verde e cinza (COUTO e COUTO, 2006; KRELL, 1996; RIBEIRO e SILVA, 2007).

Em relação ao tamanho, os grãos variam entre 10 e 140 μm (COUTO e COUTO, 2006). Barth (1989) e Junior *et al.* (2006) apresentaram em seus trabalhos uma escala de classificação na qual os grãos de pólen menores que 10 μm foram denominados muito pequenos, os pequenos teriam medidas entre 10 à 25 μm , os médios de 25 à 50 μm , os grandes de 50 à 100 μm e, por fim, os gigantes seriam os grãos maiores que 200 μm . Na **Figura 7** está exemplificada a escala dessa classificação, bem como, espécies de plantas que se encaixam em cada patamar.

Figura 7: Classe de tamanho dos grãos de pólen.

Fonte: Junior *et al.* (2006).

Cada grão de pólen compreende uma única célula envolvida por duas camadas protetoras: a intina e a exina, como demonstrado na **Figura 8**. A exina está presente mais no exterior e é composta basicamente por celulose enquanto que a intina, localiza-se no interior do grão de pólen, sendo constituída por esporolenina, cuja origem acredita-se ser pela polimerização oxidativa de carotenoides (CORNEJO, 1994; SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; BOGDANOV, 2011).

Figura 8: Desenho esquemático do grão de pólen.

Fonte: http://www.biologados.com.br/botanica/taxonomia_vegetal/flor_angiosperma_androceu_estam_e_conectivo_antera_filete.htm

O pólen é o gametófito das plantas angiospermas e gimnospermas que se forma nas anteras dos estames das flores (BARTH, 1989; JUNIOR *et al.*, 2006; KRELL, 1996; NOGUEIRA-NETO, 1997). Na **Figura 9** é possível visualizar a sua localização no estame.

Figura 9: Desenho esquemático de uma flor.
Fonte: Adaptada de <http://es.wikipedia.org/wiki/Flor>.

Os grãos de pólen têm como função biológica essencial transportar o gameta masculino até o estigma, órgão reprodutor feminino das flores, concluindo o processo de polinização. Esse transporte pode ocorrer por meio do vento, através de animais ou pela água. De acordo com a forma de polinização, a planta que origina o pólen é denominada, respectivamente, como anemófila, entomófila ou hidrófila. As abelhas são as maiores responsáveis pela polinização na natureza (KRELL, 1996; NOGUEIRA-NETO, 1997; JUNIOR *et al.*, 2006).

De acordo com Crane (1987), o cultivo comercial de diversas frutas, tais como a maçã, o abacate, a lichia, o melão e o maracujá são totalmente dependentes das abelhas para que ocorra a polinização que originará novos frutos. De modo que a aplicação em paralelo da apicultura, em uma determinada área onde a agricultura é praticada, desde que em pequena escala, só trará benefícios para as produções de frutos e de derivados da colmeia.

2.3.2 A importância do pólen para as abelhas

Na colmeia o pólen não é estocado em grande quantidade como o mel, deste modo, o estoque deve ser repostado de acordo com a necessidade da colmeia, por isso, as abelhas podem procurar seu alimento proteico em distâncias bem maiores do que procuram o alimento energético (WINSTON, 1987). A necessidade de pólen é regulada pela quantidade de cria aberta (DRELLER e TARPY, 2000).

As abelhas são atraídas por meio de fragrâncias produzidas em tecidos secretores específicos localizados na superfície das flores. Cada espécie floral possui as suas peculiaridades o que permite que as abelhas saibam diferenciá-las escolhendo as que exalam odores semelhantes ao seu próprio (ROUBIK, 1992).

O pólen é a principal fonte de proteínas para larvas e abelhas adultas da colmeia, possuindo influência direta no desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas (HAYDAK, 1970; ZERBO *et al.*, 2001). Por meio do seu consumo, as abelhas obtêm os aminoácidos essenciais arginina, histidina, lisina, triptofano, felinina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina, além de carboidratos, lipídios, vitaminas, sais minerais e água (HAYDAK, 1970).

Essas substâncias estão presentes nos grãos de pólen porque são reservas nutricionais que seriam utilizadas quando a polinização fosse concluída e ocorresse a germinação das plantas (HAYDAK, 1934; NOGUEIRA-NETO, 1997). Para que não ocorra a germinação dos grãos de pólen dentro da colmeia, eles são submetidos ao contato com o ácido 10-HDA (10 – hidrox-trans-2-decenóico), oriundo da secreção da glândula mandibular das abelhas (SLLAES e GRACIOLI, 2002).

Estudos sobre as necessidades nutricionais das abelhas revelaram que um indivíduo da colmeia necessita em média de 145 mg de pólen durante o seu ciclo de vida e que o valor nutricional do pólen armazenado na colmeia é influenciado por fatores ambientais e por sua origem floral. Quando comparadas diferentes espécies de plantas verificou-se variação na sua composição centesimal (ROUBIK, 1992; STANLEY e LINSKENS, 1974).

2.4 O pólen apícola

De acordo com a Instrução Normativa nº 03 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, entende-se por pólen apícola “o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuado pelas abelhas operárias, mediante néctar e substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia” (BRASIL, 2001).

Comercialmente este produto é vendido na sua forma desidratada, onde o limite máximo para umidade foi estabelecido em 4%. Quando recolhido na colmeia, o pólen apícola pode ter umidade máxima igual a 30% (BRASIL, 2001).

A coleta é realizada por meio de uma grade de retenção instalada na entrada da colmeia que ocasiona a queda das bolotas de pólen apícola, contidas nas corbículas das abelhas, quando a atravessam (LUZ e BARTH, 2001).

Figura 10: Abelhas carregando pólen apícola em suas corbículas e atravessam a grade de retenção, instalada na entrada da colmeia, deixando cair no coletor as bolotas desse produto.

Fonte: <http://www.mistertube.com.br/2012/11/polen-um-poderoso-suplemento-alimentar.html>

2.4.1 Composição físico-química e valor nutricional do pólen apícola

A composição físico-química e a qualidade do pólen apícola *in natura* dependem diretamente da origem floral, estado nutricional e idade da planta, além do clima, composição química do solo e estação do ano. Quando desidratado, as condições de processamento, tipo de embalagem e tempo de armazenamento

também podem influenciar nessas características (ARRUDA *et al.*, 2013a; CARPES *et al.*, 2009; FAYE, PIACHUELO e MOLIELLI, 2002; KRELL, 1996; MARCHINI, REIS e MORETI, 2006; MELO *et al.*, 2010; MENESES, 2005).

O pólen apícola é composto por proteínas, carboidratos, lipídeos, sais minerais, vitaminas antioxidantes (vitamina C, E e β -caroteno, como pró-vitamina A), do complexo B (B_1 , B_2 , B_3 e B_6) e vitamina D (ARRUDA *et al.*, 2013a, 2013b; CAMPOS, CUNHA e MARKHAM, 1997; MELO *et al.*, 2010; MELO e ALMEIDA-MURADIAN, 2010; MUNIATEGUI *et al.*, 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2009), assim como compostos fenólicos, principalmente flavonóides (ALMARAZ-ABARCA *et al.*, 2003, 2007; CARPES *et al.*, 2007, 2008, 2009a, 2009b; LOPES *et al.*, 2011; MENEZES *et al.*, 2010).

É reconhecido que podem existir diferenças na composição nutricional desse alimento, onde o teor de proteína pode variar de 4,7 a 28,3 %, a umidade de 2,3 a 27,1 %, os açúcares totais de 28,4 a 66,3 %, os lipídeos de 2,6 a 7,0 %, assim como foi observado por meio da compilação de dados analíticos gerados por diferentes pesquisadores brasileiros e descritos de forma mais ampla na **Tabela 4** (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005; ARRUDA *et al.*, 2013b; CARPES *et al.*, 2009b; MARCHINI, REIS e MORETI, 2006; MARTINS *et al.*, 2011; MELO *et al.*, 2010; MODRO *et al.*, 2007; SILVEIRA, 2012).

Tabela 4: Composição físico-química de amostras de pólen apícola brasileiro, avaliadas por diferentes autores.

Parâmetro analisado	Autores							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Umidade (%)	-	-	27,1	4,2	2,3	5,4	NA	3,5
Cinzas (%)	2,4	2,9		2,9	3,1	2,6	NA	3,0
Proteínas (%)	21,0	21,4	28,3	20,5	23,6	19,1	4,7	23,4
Lipídeos (%)	7,0	3,6	2,6	4,9	5,0	7,1	3,7	5,4
Fibra bruta (%)	NA	NA	NA	3,4	NA	NA	29,7	NA
Açúcares totais (%)	NA	28,4	66,3	52,1	NA	NA	NA	NA
pH	NA	5,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Acidez (mEq/Kg)	NA	20,7	NA	NA	NA	301,5	NA	NA

A = ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005 (região Sul do Brasil);

B = MARCHINI, REIS e MORETI, 2006 (Piracicaba – SP);

C = MODRO *et al.*, 2007 (Viçosa – MG);

D = CARPES *et al.*, 2009b (região Sul do Brasil);

E = MELO *et al.*, 2010 (Pariquera-Açu – SP);

F = MARTINS *et al.*, 2011 (várias regiões do Brasil);

G = SILVEIRA, 2012 (Piracicaba – SP);

H = ARRUDA *et al.*, 2013b (Pariquera-Açu – SP).

NA = Não analisado.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

Em relação ao teor de minerais, foram determinados, no pólen apícola das regiões Sudeste e Sul do Brasil, os teores de boro (B), cálcio (Ca), cobre (Cu), enxofre (S), ferro (Fe), fósforo (P), magnésio (Mg), manganês (Mn), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn). O pólen apícola de região Sul do Brasil apresentou predominância na presença dos minerais: fósforo, potássio, cálcio e magnésio (CARPES *et al.*, 2009; FUNARI *et al.*, 2003).

2.4.2 A produção de pólen apícola no Brasil

No Brasil, a produção de pólen apícola iniciou-se de forma modesta no final da década de 80 e segundo Buiainan e Batalha (2007), a apicultura tem potencial de desenvolvimento em todas as regiões brasileiras, apesar das dificuldades relacionadas às deficiências em técnica, formalização, organização de cooperativas e redes de comercialização. Almeida e Carvalho (2009) ainda reforçam que essa atividade está em fase de expansão, podendo ser uma fonte de renda em propriedades rurais através da produção de gêneros derivados da colmeia, além de favorecer a polinização da flora regional e ser uma prática que atende ao tripé da sustentabilidade (ecológica, social e econômica).

O período de produção e a quantidade recolhida por colmeia / mês de pólen apícola é diversificada nas diferentes regiões do Brasil, existindo apiários que se mantêm produtivos durante todos os meses do ano (BARRETO; FUNARI e ORSI, 2006).

Devido a condições climáticas, principalmente, na região Sul do Brasil esse fato não ocorre. Dessa forma, a produção costuma ter início no mês de agosto, seguindo até o mês de abril do ano seguinte. Comparando-se a quantidade de pólen apícola retirado de cada colmeia por mês nos estados do Rio Grande do Sul e Bahia, podemos verificar que há variação, resultante de fatores extrínsecos. As quantidades de pólen apícola produzido, respectivamente em cada estado, mantiveram-se na faixa de 900 g e 48 Kg por colmeia/mês demonstrando a enorme variação entre as produções regionais brasileiras (BARRETO; FUNARI e ORSI, 2006).

Barreto, Funari e Orsi (2006) também apresentaram dados sobre a quantidade de colmeias exploradas para a produção de pólen apícola em nove estados brasileiros. Ao todo foram contabilizadas 1.737 colmeias, cuja distribuição

geográfica está descrita na **Tabela 5**. Os estados com mais colmeias exploradas para este fim estavam localizadas na Bahia, em Santa Catarina e no Paraná.

A obtenção do pólen apícola *in natura* necessita de alguns cuidados, principalmente, na escolha do local de instalação dos enxames e na remoção do produto que fica retido no caça pólen (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; MAGALHÃES e BORGES, 2012; OLIVEIRA, 2006).

Tabela 5: Número de colmeias utilizadas na produção de pólen apícola nos estados brasileiros que se dispuseram a colaborar com a pesquisa.

Estado	Número de colmeias
Bahia	600
Santa Catarina	480
Paraná	300
São Paulo	90
Sergipe	80
Rio Grande do Sul	70
Minas Gerais	60
Distrito Federal	42
Tocantins	15
Total	1737

Fonte: Barreto, Funari e Orsi (2006).

2.4.2.1 Localização e instalações dos apiários

É importante que a área escolhida para instalação do apiário seja de pouca circulação de animais e pessoas, com baixa umidade do ar, exposta ao sol e esteja localizada abaixo ou no mesmo nível do local onde as abelhas realizarão as coletas de alimentos. Além disso, a presença de fontes de água corrente, plantas poliníferas e nectaríferas são essenciais, possibilitando melhor manejo, nutrição das colmeias e planejamento das coletas de pólen apícola pelo apicultor (BARTH, 2005; CAMARGO *et al.*, 2003; MAGALHÃES e BORGES, 2012; VILLANUEVA, 2002).

Quanto à instalação das colmeias, devem ser mantidas colônias homogêneas em relação à população e à saúde e as caixas devem ser dispostas individualmente em cavaletes distribuídos de forma a possibilitar a circulação de pessoal preparado para remover o pólen apícola dos coletores (CAMARGO *et al.*, 2003).

Outro fator determinante na produtividade da colônia é o estado de saúde e produtividade da abelha rainha. Ela deve ser jovem, sadia e de alta postura e a colmeia deve estar em adequada condição sanitária e nutricional para evitar enfermidades e consequente queda de produtividade (CORNEJO, 1994).

Em relação à colmeia, existem diversos modelos de caixas que podem ser adotados pelo apicultor, porém num conjunto delas que formem um apiário, devem ser padronizadas. A Confederação Brasileira de Apicultura indica o uso da colmeia idealizada por Lorenzo Lorraine Langstroth, representada na **Figura 11**, pois foi criada a partir de estudos que identificaram as necessidades espaciais das abelhas (MAGALHÃES e BORGES, 2012). Para a sua confecção é seguida a norma de padronização NBR ABNT 15.713 (ABNT e SEBRAE, 2012).

Figura 11: Colmeia Langstroth em vista frontal ao lado esquerdo da imagem e ao lado direito desmontada para visualização de suas partes: tampa (A), melgueira (B), ninho (C), fundo (D), quadro de ninhos e quadros de melgueiras (E).

Fonte: Magalhães e Borges (2012).

O ideal, no início da atividade apícola, é manejar um número menor de colmeias, ou seja, entre 5 à no máximo 10 colônias, para verificar se há adaptação das abelhas as condições ambientais do apiário (MAGALHÃES e BORGES, 2012).

2.4.2.2 Obtenção e processamento do pólen apícola

A coleta do pólen apícola é possível devido ao acúmulo excessivo desse alimento na colmeia, assim, o apicultor pode apropriar-se de uma parte desse material sem causar danos à nutrição das larvas, zangões e abelhas (JEAN-PROST, 1995). Os coletores de pólen devem ser instalados nos períodos de abundância da florada no campo (CAMARGO *et al.*, 2003)

As colmeias nas quais são realizadas as coletas de pólen apícola devem receber alimentação proteica artificial o que garante que os níveis de pólen apícola estocados na colmeia se mantenham e que a nutrição das abelhas não seja prejudicada (SILVA *et al.*, 2010).

Outra forma de manejo é a alternância de períodos em que os caças pólen são instalados. Nesse caso, as abelhas não recebem alimentação artificial e a grade de retenção deve ser removida a cada 2 dias, permanecendo ausente por 1 dia. Esse procedimento pode ser contínuo por apenas 2 semanas, pois o enxame corre o risco de enfraquecer (CAMARGO *et al.*, 2003).

A **Figura 12** apresenta dois tipos de caça pólen empregados na apicultura. Um deles é o externo que pode ser instalado no alvado (entrada e saída das abelhas) ou entre o ninho e a melgueira e o outro é o coletor interno que pode ser instalado entre o ninho e a melgueira ou sobre o conjunto (CAMARGO *et al.*, 2003; MAGALHÃES, 2005).

Figura 12: Coletor de pólen apícola externo instalado no alvado da colmeia (à esquerda) e imagem de um coletor interno (à direita).

Fonte: Adaptado de Magalhães (2005) e <http://cursosdepolen.blogspot.com.br/2011/03coletores-de-polen.html>.

A bandeja do caça pólen deve ser recoberta por uma tela de arame (malha de 3,5 mm²) para que o seu interior fique isolado da colmeia e as abelhas sejam impedidas de recoletar as bolotas que caíam ali. Já o fundo desse recipiente deve ser construído com uma tela de medida de 1 mm² para que exista ventilação (MAGALHÃES, 2005).

O processo de obtenção do pólen apícola tem início quando as abelhas retornam de seus voos de coleta e atravessam os orifícios da grade de retenção, instalada na entrada da colmeia. Algumas abelhas campeiras têm dificuldades em passar pelos orifícios, devido ao seu próprio tamanho, assim ao fazer esforço para entrar na colmeia, elas deixam cair as bolotas de pólen apícola que estavam inseridas em suas corbículas. Esses aglomerados ficam retidos em um recipiente que em conjunto à grade de retenção é denominado de coletor de pólen ou caça pólen (BARRETO, FUNARI e ORSI, 2006).

Ao 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. É esse o material que o apicultor recolhe para posterior beneficiamento e comercialização (LUZ e BARTH, 2001; BARRETO, FUNARI e ORSI, 2006).

O pólen apícola deve ser recolhido dos coletores todos os dias. Em dias chuvosos as grades de retenção devem ser removidas, pois o material obtido nessas condições deve ser descartado (CAMARGO, *et al.*, 2003).

A **Figura 13** traz o diagrama de processamento do pólen apícola, abrangendo as fases de pré-limpeza, congelamento, descongelamento, desidratação, aeração, limpeza final e envase.

Na etapa de pré-limpeza, há a remoção de sujidades macroscópicas, como por exemplo, abelhas mortas e folhas. Em seguida ocorre o congelamento do pólen apícola ainda *in natura*, visando manter o controle sobre o crescimento microbiológico e ocasionar a morte de ovos e larvas de traça da cera e ácaros potencialmente presentes. Antes que o processamento tenha continuidade, faz-se necessário o descongelamento do produto para que possa seguir o seu beneficiamento (CAMARGO *et al.*, 2003).

Devido ao elevado teor de umidade do pólen apícola, a secagem é adotada para evitar a rápida fermentação e deterioração desse alimento (ARRUDA *et al.*, 2013a, 2013b; CARPES, *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2011; MELO e ALMEIDA-

MURADIAN, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2009). A umidade deve estar abaixo de 4% ao final do processo de secagem à temperatura máxima de 42 °C (BRASIL, 2001).

Em seguida ocorre a aeração, nessa fase são removidas impurezas mais leves, tais como, asas, patas de abelhas e poeira por meio da injeção de ar seco em um recipiente de aço inoxidável. A descontaminação continua com a etapa de limpeza final, onde são removidas as impurezas que tem a mesma densidade do pólen apícola desidratado, como por exemplo, os grãos da própolis. Após todos esses processos o envase deve ocorrer rapidamente devido a higroscopicidade desse produto (CAMARGO *et al.*, 2003).

Figura 13: Diagrama de processo de beneficiamento pólen apícola.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

O armazenamento do produto acabado deve ser efetuado em local seco, arejado e ao abrigo da luz (CAMARGO *et al.*, 2003). Segundo Melo e Almeida-Muradian (2010) deve ser mantido em congelador para evitar a deterioração de vitaminas antioxidantes.

2.4.3 Controle de qualidade do pólen apícola

O conhecimento da composição nutricional dos grãos de pólen apícola pode ser aplicado ao seu controle de qualidade, principalmente como um guia para a produção comercial desse produto (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005).

Na **Tabela 6** estão listados os países que possuem legislação específica para o controle de qualidade desse alimento (ALMEIDA-MURADIAN, 2012).

Tabela 6: Situação da regulamentação de controle de qualidade dos produtos apícolas em alguns países.

País	Mel	Própolis	Geléia Real	Pólen	Referência
Argentina	Sim	Não	Sim	Sim	ARGENTINA (1990), artigo 785
Armênia	Sim	Sim	Sim	Sim	BADALYAN
Bulgária	Sim	Sim	Sim	Sim	IVANOV
Brasil	Sim	Sim	Sim	Sim	BRASIL, 2001
China	Sim	Sim	Sim	Sim	SONGKUN
Cuba	Sim	Sim	Não	Sim	CUBA – NC 371
Polônia	Sim	Sim	Sim	Sim	SZCZESNA
Rússia	Sim	Sim	Sim	Sim	ELENA
Turquia	Sim	Sim	Sim	Sim	SORKUN
Uruguai	Sim	Não	Sim	Sim	DOMÍGUES; Decreto 105/001

Fonte: Adaptada de Almeida-Muradian (2012).

O Brasil, por meio da Instrução Normativa nº 03 de 19 de janeiro de 2001, regulamenta as características físico-químicas e sensoriais que o pólen apícola desidratado deve possuir ao ser comercializado, além de expressar a necessidade da ausência de esporos de *Paenibacillus larvae* nesse alimento (BRASIL, 2001). Os limites para os parâmetros físico-químicos e quais devem ser as características sensoriais do pólen apícola desidratado, adotados pela legislação brasileira supracitada, foram descritos na **Tabela 7**.

O controle de possíveis contaminantes orgânicos e inorgânicos não foi previsto nesta normativa e em nenhum outro regulamento específico, porém isso não deve ser ignorado. Além disso, a legislação brasileira não informa qual metodologia deve ser aplicada nas análises de avaliação do pólen apícola desidratado (BARRETO, FUNARI e ORSI, 2005; BRASIL, 2001; ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012).

Tabela 7: Composição química e requisitos sensoriais para o pólen apícola de acordo com legislação brasileira.

Requisitos	Resultados
Aroma	Característico, de acordo com origem floral.
Cor	Característica, de acordo com origem floral.
Aspecto	Grãos heterogêneos de forma e tamanhos variados, tendendo a esféricos.
Sabor	Característico, de acordo com origem floral.
Umidade	Fresco: máximo 30% Desidratado: máximo 4 %
Cinzas	Máximo de 4%; m/m, na base seca.
Lipídeos	Mínimo de 1,8%; m/m, na base seca.
Proteínas	Mínimo de 8%; m/m, na base seca.
Açúcares totais	14,5% a 55,0%; m/m, na base seca.
Fibra bruta	Mínimo de 2%; m/m, na base seca.
Acidez livre	Máximo de 300 mEq/kg
pH	4 a 6

Fonte: Adaptada de Brasil (2001).

Devido à necessidade em conhecer a composição do pólen apícola desidratado, são necessários estudos de caracterização regional em escala nacional e internacional que elucidem como os parâmetros adotados atualmente, para o controle de qualidade desse alimento, devem ser alterados e padronizados (CAMPOS *et al.*, 2008). A RENAPOLEN é uma organização que pretende reunir pesquisadores e os dados obtidos por eles para elaborar um padrão de identidade e qualidade para o pólen apícola brasileiro. Internacionalmente, a IHC possui o mesmo objetivo, mas relacionado não somente ao pólen apícola.

Não existem dúvidas sobre as ações benéficas do pólen apícola à saúde humana; porém, há questões básicas pendentes a serem esclarecidas visando assegurar a qualidade do produto para o consumo, a partir do monitoramento da elaboração, processamento e armazenamento do mesmo (BARRETO *et al.*, 2006).

2.4.4 Estabilidade do pólen apícola

Quando *in natura*, o pólen apícola possui níveis elevados de umidade, além de ser rico em nutrientes, tornando-se susceptível a processos fermentativos e

deteriorantes, dessa forma o processo de desidratação se torna essencial para evitar a perda do produto (HERBERT e SHIMANUKI, 1978), pois ocasiona a diminuição da água disponível para crescimento microbiológico.

Em contra partida, o estudo realizado por Oliveira (2006) demonstrou que a desidratação do pólen apícola ocasiona a perda das vitaminas antioxidantes (C, E e β -caroteno, como pró-vitamina A) por serem sensíveis à exposição à elevadas temperaturas. Almeida-Muradian *et al.* (2005) levantaram essa mesma questão, anteriormente, ao analisarem amostras de pólen apícola, previamente desidratadas, originárias da região Sul do Brasil, e não verificarem a presença de β -caroteno e vitamina C em sua composição, o que indicaria a aplicação de processos térmicos à temperaturas abusivas e por prolongados períodos de tempo.

Outros estudos sobre a estabilidade do pólen apícola foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos do tipo e tempo de armazenamento sobre os teores de seus nutrientes, já que a legislação vigente especifica não indica um período de viabilidade para o consumo desse alimento.

Barreto *et al.* (2005) verificaram que a variação do período de validade indicado pelos produtores nacionais era de 6 meses a 3 anos. Com o intuito de obter dados mais precisos sobre a vida de prateleira do pólen apícola, Barreto (2004) realizou avaliações sensoriais e de composição centesimal, concluindo que o pólen apícola mantido em temperatura ambiente e à -12 °C tornaram-se impróprios para consumo, respectivamente, após 8 e 12 meses de armazenagem.

A vida de prateleira mais extensa foi observada no pólen apícola mantido sob refrigeração. De acordo com Cornejo (1994), alimentos ricos em proteínas quando armazenados de modo incorreto perdem o valor nutricional com facilidade e que para evitar isso, segundo Campos *et al.* (2003) a melhor condição para a preservação do pólen apícola é mantê-lo em temperaturas frias e ao abrigo da luz.

Seguindo essa linha de raciocínio, Melo e Almeida-Muradian (2010) verificaram em sua pesquisa que a conservação das vitaminas antioxidantes presentes no pólen apícola não é dependente da exposição à luz, pois os níveis das vitaminas C, E e β -caroteno (como pró-vitamina A) mantiveram-se significativamente iguais em relação ao lote protegido da luz.

Em relação às vitaminas do complexo B (vitaminas B₁, B₂ e os respectivos vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆) presentes no pólen apícola, somente o tempo de armazenamento demonstrou-se como limitante para a vida de prateleira deste

produto já que ocorreram perdas significativas desses micronutrientes após um ano da coleta e do processamento (ARRUDA *et al.*, 2013a).

2.4.5 Benefícios e riscos envolvidos no consumo de pólen apícola

O mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, vem estimulando e promovendo a produção de pólen apícola (LIGEN, 1989; PEREIRA *et al.*, 1994; ROCHA *et al.*, 2002) e em 2010, esse produto esteve em evidência na mídia devido a suas propriedades nutricionais (GLOBO REPORTER, 2010).

A sugestão para o consumo diário de pólen apícola é de 25 g (CAMPOS, CUNHA e MARKHAM, 1997; BASTOS *et al.*, 2003) e seu valor calórico fica em torno de 235 a 274 kcal / 100 g em amostras brasileiras (BARRETO *et al.*, 2006).

O pólen apícola pode ser ingerido puro, como na **Figura 14**. Porém, de acordo com a literatura foram realizados estudos, nos quais o pólen apícola foi aplicado como um dos ingredientes de formulações de produtos, tais como, o iogurte com geleia de amora preta e pólen apícola (PEGORARO, 2011) e a bebida láctea sabor bacuri, enriquecida com pólen apícola (SILVIA *et al.*, 2010).

Figura 14: Colherada de pólen apícola puro.

Fonte: <http://docemelmartinsqualitygroup.blogspot.com.br/>

Ao consumo do pólen apícola, são atribuídos benefícios como fortificação do organismo, estimulação e geração de bem estar e vigor físico, além de correção da alimentação deficiente em nutrientes (KRELL, 1996; KROYER e HEGEDUS, 2001).

De acordo com Vicenzi (2004), o consumo do pólen apícola foi associado à melhora do desempenho físico de idosos submetidos à atividade física orientada e

apresentando-se com função ergogênica. Outros estudos relacionaram o consumo deste produto com a prevenção de problemas da próstata (BUCK, REES e EBELING, 1989; KRELL, 1996; SHOSKES, 2002; SHOSKES e MANICKAM, 2003).

Medeiros *et al.* (2008) demonstraram o efeito antialérgico, do extrato fenólico de pólen apícola, sobre ratos. O resultado reforçou a hipótese de que o flavonoide miricetina, presente na composição do pólen apícola destinado ao preparo do extrato, pode ser o princípio ativo responsável pela inibição do processo inflamatório que desencadeia a reação alérgica.

Mas o grande foco na realização de pesquisas sobre a ação terapêutica do pólen apícola está em seu potencial como antioxidante, isso ocorre porque o equilíbrio oxidante-antioxidante no organismo humano tem efeito sobre uma série de patologias. Dessa forma, as ações anti-inflamatória, anticancerígena, antianêmica, antialérgica e antiaterosclerótica que venham a ser atribuídas ao consumo do pólen, estariam ligadas de alguma forma com a presença de substâncias antioxidantes nesse alimento (LOPES *et al.*, 2011).

Pascoal *et al.*, (2014), verificaram efeito bactericida, ação antimutagênica, antioxidante e anti-inflamatória em amostras de pólen apícola de Portugal e da Espanha. Em contra partida há publicações internacionais que alegam a existência de casos em que esse alimento ocasionou reações alérgicas em indivíduos (BURKE *et al.*, 2009).

De acordo com Basista, Filipek e Sodzawiczny (2012) durante a sua pesquisa na literatura que descreve tais casos, somente 10 foram reportados. Dessa forma, consideraram que o número de pessoas consumidoras de pólen apícola, frente à quantidade de casos de reações alérgicas, registrados na literatura, não eram representativos. Os mesmos autores afirmam, ainda, que é baixa a severidade da reação alérgica ocasionada por esse produto, estando a população, de uma forma geral, segura em relação ao consumo desse alimento.

Além disso, analisando um dos relatos, fica claro que são os pólenes anemófilos contidos no pólen apícola os responsáveis pelas reações alérgicas (MARTÍN-MUNÓZ *et al.*, 2010). Os pólenes anemófilos geralmente são transportados pelo vento, durante a época de polinização. Quando em suspensão no ar produzem irritabilidade no trato respiratório humano, devido a ação mecânica e principalmente pela presença de proteínas na exina dos grãos (BARTH, MACIEIRA e CORTE-REAL, 1975).

2.5 Palinologia

Entre os séculos XVIII e XIX, o inglês Francis Bauer, interessado pelo estudo do pólen das plantas, analisou 181 espécimes vegetais diferentes. Em 1837 o anatomista Fritzsche se dedicou à análise, diferenciação, identificação e nomeação das partes que constituem os grãos de pólen (JUNIOR *et al.*, 2006).

Além de sua importância na identificação de famílias e gêneros de plantas, o estudo da morfologia do grão de pólen também passou a ser aplicado na descoberta de alergias devidas as estruturas presentes nos estames das flores. Atualmente, esta área de estudo deixou de ser um apêndice da taxonomia vegetal para se transformar em uma ciência à parte: a Palinologia do grego *palynien* (GASPARINO e CRUZ-BARROS, 2006).

Para possibilitar o reconhecimento da origem floral do pólen apícola foram desenvolvidas técnicas laboratoriais com o objetivo de preparar as amostras para identificação por meio de visualizações comparativas com catálogos taxonômicos de espécies florais visitadas por elas (BARTH, 2004; BARTH *et al.*, 2010; MORETI *et al.*, 2000).

Utilizando-se dessas técnicas, diversos estudos pontuais e regionais foram realizados por pesquisadores de instituições brasileiras com o intuito de realizar o levantamento da origem botânico do pólen recolhido pelas abelhas e por consequência o levantamento da flora apícola local. Já foram realizadas identificações, por meio dessas metodologias, nos três estados da região Sul, nos municípios de Itirapina, Pariquera-Açú, Pindamonhangaba e Piracicaba, todos situados no estado de São Paulo, além da região de Viçosa (MG) e nas cidades de Canavieiras (BA) e Picos (PI) (ARRUDA, 2013b; CARPES, 2008; DÓREA, NOVAIS e SANTOS, 2010; MELO *et al.*, 2010; MENDONÇA *et al.*, 2008; MODRO, 2010; MODRO *et al.*, 2011; MORETI *et al.*, 2011a; OLIVEIRA *et al.*, 2009; SODRÉ *et al.*, 2008).

Explorar os produtos derivados da colmeia por meio da apicultura exige do apicultor técnica e o provimento de recursos poliníferos e nectaríferos no local de instalação do apiário (BARTH, 2005; VILLANUEVA, 2002). Dessa forma, as pesquisas para identificação das plantas que forneçam recursos para as abelhas devem ser realizadas regionalmente, pois as espécies consideradas excelentes produtoras de néctar em uma região podem não ser em outra (FERREIRA, 1981).

As plantas exploradas pelas abelhas para obtenção de néctar e pólen podem ser classificadas como nectaríferas e poliníferas. Para os apicultores, o conhecimento da flora explorada pelas abelhas, possibilita melhorar o manejo de suas colmeias e o planejamento das coletas (BARTH, 2005; VILLANUEVA, 2002).

2.6 Vitaminas

As vitaminas são substâncias orgânicas essenciais ao funcionamento do corpo humano, porém em quantidades mínimas. Existem em grande variedade e de acordo com a sua composição química desempenham diferentes funções na manutenção do organismo e no metabolismo de nutrientes como os carboidratos, as proteínas e as gorduras (MENDONÇA, 2010). Há um total de treze vitaminas reconhecidas pelas suas funções no metabolismo humano, as quais são divididas entre dois grupos de acordo com a sua solubilidade: as vitaminas lipossolúveis e as vitaminas hidrossolúveis (BALL, 2006; COMBS, 2008).

Esta classificação simples tem relação com a biodisponibilidade desses compostos, devido à forma em que serão absorvidos no intestino e pelos tecidos. Além disso, as propriedades de solubilidade também se relacionam com a distribuição das diferentes vitaminas nos vários grupos de alimentos. As vitaminas A, D, E e K, bem como os carotenoides são lipossolúveis enquanto que a vitamina C e os membros do complexo B são vitaminas hidrossolúveis (BALL, 2006; FERREIRA, 1998; TRUSWELL, 2009).

Ainda devemos levar em consideração que as vitaminas podem possuir vitâmeros, como exemplificado na **Tabela 8**, encontrados naturalmente ou sintetizados. Esses vitâmeros possuem estrutura química semelhante em relação a uma determinada vitamina e muitas vezes apresentam variação em relação à atividade biológica atribuída à sua forma (BALL, 2006; MOURÃO *et al.*, 2005).

As necessidades vitamínicas variam entre os gêneros, com a idade e de acordo com a atividade exercida pelos seres humanos. Os vegetais, fungos e microrganismos são capazes de sintetizá-las. Já os animais, salvo algumas exceções, não possuem essa capacidade, motivo pelo qual devem obtê-las a partir da dieta alimentar. Algumas vitaminas são ingeridas na forma de pró-vitaminas (precursores) (ANDRIGUETTO, 2002).

Nos alimentos, as vitaminas e seus vitâmeros são encontrados em pequenos teores e a deficiência de qualquer uma delas acarreta enfermidades características nos humanos (FERREIRA, 1998; TRUSWELL, 2009). O seu excesso, por outro lado, traz consigo o perigo de toxicidade potencial, geralmente relacionado ao consumo de suplementos alimentares. As vitaminas são substâncias lábeis, alterando-se facilmente por mudanças de temperatura, pH e também por armazenamento prolongado (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 8: Algumas vitaminas do complexo B e seus respectivos vitâmeros.

Vitaminas	Vitâmeros
B ₁ , tiamina	Tiamina
	Tiamina fosfato (TMP)
	Tiamina pirofosfato (TDP)
	Tiamina trifosfato (TTP)
	2-(1-hidroxietil)tiamina (HET)
B ₂ , riboflavina	Riboflavina
	Flavina mononucleotídeo (FMN)
	Flavina adenina dinucleotídeo (FAD)
PP, B ₃ , niacina	Ácido nicotínico
	Nicotinamida
	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD)
	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NAADP)
	N-ribosil nicotinamida
B ₆ , piridoxina	N-ribosil ácido nicotínico
	Piridoxina
	Piridoxal
	Piridoxamina
	Piridoxina fosfato (PNP)
	Piridoxal fosfato (PLP)
	Piridoxamina fosfato (PMP)
	5'-O-β-D-glucopiranosil piridoxina

Fonte: Adaptada de Mihhalevski *et al.* (2012).

Especificamente, as vitaminas atuam *in vivo* como: componentes do sistema de defesa antioxidante (ácido ascórbico, alguns carotenoides e vitamina E); fatores envolvidos na regulação genética (vitaminas A e D); atuam em funções específicas, como a vitamina A na visão, os ascorbatos em várias reações de hidroxilação e a vitamina K nas reações de carboxilações específicas. As vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, cianocobalamina, biotina

e ácido fólico) agem como coenzimas ou seus precursores (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Como descrito previamente, as vitaminas do complexo B possuem características funcionais muito semelhantes e acabam por atuar em sinergismo. Dentre as suas funções, a de maior importância está relacionada ao metabolismo dos nutrientes energéticos, pois agem como fatores enzimáticos e coenzimas que convertem carboidratos, proteínas e lipídeos em glicose. Em dietas que exigem alto valor energético a necessidade de vitaminas desse complexo é maior (MENDONÇA, 2010), já que, normalmente, não são armazenadas em quantidades significativas no organismo, o que leva à necessidade de um suprimento diário (BALL, 1998; HOOFMANN, 1997).

A deficiência das vitaminas do complexo B acarreta degradações no sistema nervoso central gerando doenças como Beribéri e Síndrome de Wernicke-Korsakoff, além de dermatites, estomatites, quelose, depressão mental e irritabilidade (FERREIRA, 1998; TRUSWELL, 2009).

Em virtude da importância das vitaminas do complexo B para o funcionamento saudável do organismo humana, a detecção dos níveis dessas substâncias nos alimentos é fundamental para a determinação de uma dieta balanceada aos grupos de indivíduos presentes na sociedade moderna. São diversos os métodos empregados com este fim, tais como a microbiologia, a fluorescência, a colorimetria, a radiometria microbiológica e, por fim, a cromatografia (AGOSTINI e GODOY, 2000; GREENFIELD e SOUTHGATE, 2003).

Apesar de seu alto custo a cromatografia de líquida de alta eficiência (CLAE) apresenta-se vantajosa em vários aspectos frente aos outros métodos analíticos citados, devido à rapidez, alta sensibilidade e exatidão. Além disso, possibilita também a determinação simultânea de várias vitaminas e vitâmeros facilitando o processo analítico (AGOSTINI e GODOY, 2000; ARRUDA *et al.*, 2013a, 2013b; ASLAM *et al.*, 2008; ASLAM, KHAN, KHAN, 2013; BUCHHOLZ, DROTTLET, TERNES, 2012; GREENFIELD e SOUTHGATE, 2003; JAKOBSEN, 2008; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

2.6.1 Vitamina B₁ (Tiamina)

Tiamina é o termo genérico preferido para denominar essa vitamina, também, designada como vitamina B₁ ou aneurina (TRUSWELL, 2009).

Em 1885, o Dr. K. Takaki, obteve sucesso em diminuir a incidência do beribéri ao fornecer suprimentos extras de alimentos ricos em proteínas aos militares japoneses. Em 1897, na atual Jacarta (Polinésia), o médico alemão, Dr. Christian Eijkman, observou que galinhas com uma dieta baseada no consumo de arroz polido apresentavam sintomas semelhantes aos causados em humanos pela mesma doença observada nos soldados japoneses. Porém, ao ingerirem farelo de arroz tinham a doença revertida devido, ao que ficou conhecido, como “fator anti-beribéri”. Somente em 1936, R. R. Williams sintetizou a estrutura, previamente elucidada, da tiamina. (BALL, 2006; TRUSWELL, 2009).

A vitamina B₁ é uma pirimidina substituída e ligada por uma ponte de metileno (-CH₂-) a um anel tiazol, como exemplificado na **Figura 15** (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). É uma amina quaternária e dependendo do pH da solução em que esteja, pode se comportar como um cátion monovalente ou bivalente (BALL, 2006).

Figura 15: Estrutura química da tiamina.

Fonte: Banco de dados de questões de biologia (sd).

A fórmula empírica do cloridrato de tiamina é C₁₂H₁₇N₄OSCl.HCl, com nome químico, cloridrato de 3-(4'-amino-2'-metilpirimidina-5'-imetil-5-(2-hidróxi-etil)-4-metiltiazólico. As formas comerciais da vitamina B₁ são o cloridrato de tiamina, o mononitrato de tiamina (BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003; ZEMPLINI *et al.*, 2007), o nitrato de tiamina e o hidrocloreto de tiamina. Este último, possui espectro de absorção variável de acordo com o pH do meio onde está contido, ou seja, no pH igual à 2,9, λ máximo de

absorção é 246 nm, enquanto que no pH 5,5, λ máximo é 234 nm (BALL, 1994; BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003).

A estabilidade da tiamina é boa ao ser submetida ao calor quando em estado sólido ou em solução ácida. Porém, é oxidada facilmente pelo ferricianeto de potássio a tiocromo, principalmente na presença de álcalis, produzindo um composto fortemente fluorescente (ANDRIGUETTO *et al.*, 2002; BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003).

Em relação aos métodos analíticos empregados para a sua detecção em alimentos, de acordo com Greenfield e Southgate (2003), podem ser utilizadas: a fluorimetria, a microbiologia ou a cromatografia. Dentre as opções citadas a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a mais aplicada, abrangendo diferentes matrizes alimentares, tais como pólen apícola, grão de bico, leite em pó, fórmulas infantis, carne de porco, vegetais (repolho, brócolis e folhas verdes), trigo, centeio, aveia e seus derivados e palmeiras (ARRUDA *et al.*, 2013a; ASLAM *et al.*, 2008; ASLAM; KHA; KHAN, 2013; BUCHHOLZ; DROTLETT; TERNES, 2012; JAKOBSEN, 2008; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

Para obtenção de um extrato adequado à detecção de tiamina por CLAE, durante o processo de extração da vitamina B₁ as suas formas fosforiladas devem ser convertidas. Inicialmente, faz-se necessária uma hidrólise ácida que objetiva liberar a tiamina da proteína. Posteriormente, a hidrólise enzimática, aplicando-se comumente a takadiastase, a claradiastase ou a mylase, convertendo-se as formas fosforiladas para tiamina livre (BALL, 1994; BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003).

No processo de separação cromatográfica dessa vitamina, as colunas C₁₈ são as mais empregadas. Porém há a possibilidade de aplicação de colunas C₈, como realizado por Buchholz, Drotlett e Ternes (2012). Em relação às fases móveis, há variação na escolha entre eluições isocráticas ou com gradiente, bem como, quanto aos compostos utilizados em sua composição. Os detectores por fluorescência ou por UV-vis são os mais empregados (ARRUDA *et al.*, 2013a; ASLAM *et al.*, 2008; ASLAM; KHA; KHAN, 2013; BUCHHOLZ; DROTLETT; TERNES, 2012; JAKOBSEN, 2008; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

A tiamina tem vasta distribuição em tecidos vegetais e animais, ocorrendo na natureza como pirofosfato de tiamina apenas nos animais (BALL, 2004; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Ao ser consumida, por meio da dieta, essa vitamina é transformada em sua forma ativa, pirofosfato de tiamina (TTP), como pode ser observado na **Figura 16**. O TTP age como coenzima nas principais etapas de descarboxilação no metabolismo dos carboidratos devido à participação direta na garantia do funcionamento adequado das enzimas: piruvato desidrogenase, transcetolase, e α -cetoglutarato desidrogenase que atuam nas reações de catabolismo dos carboidratos, pelas vias da pentose fosfato, glicólise, ciclo do ácido cítrico e liberação de energia na forma de ATP (adenina trifosfato) (CUNHA *et al.*, 2006).

Figura 16: Transformação da tiamina em sua forma ativa, pirofosfato de tiamina (TTP).
Fonte: Vázques-Contreras (2003).

A deficiência de tiamina em humanos ocasiona o beribéri, caracterizado pela degradação de neurônios, debilidade muscular, perda de reflexos, insuficiência cardíaca, edemas, falta de apetite (BALL, 2006; TRUSWELL, 2009). Essa deficiência foi prevalente nas populações do Extremo Oriente, durante o século XIX, devido ao consumo de arroz polido como dieta básica. Em alcoólatras crônicos, a falta desse micronutriente devido aos maus hábitos alimentares ocasiona a encefalopatia de Wernicke-Korsakoff. Essa enfermidade é caracterizada por confusão mental e deterioração da função nervosa (BALL, 2006).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR), atualmente no Brasil, para adultos em relação à vitamina B₁, com o objetivo de atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas saudáveis, é de 1,2 mg / dia (BRASIL, 2005).

A vitamina B₁ é produzida por bactérias, leveduras e vegetais, sendo fonte desta vitamina. A levedura, o extrato de levedura, o farelo de trigo, a aveia, os cereais integrais, as leguminosas, as nozes, os cortes magros de porco, o coração, os rins e o fígado são fontes da vitamina em questão. A carne bovina, o cordeiro, o frango, os ovos, os legumes e as frutas contêm quantidades intermediárias de tiamina, enquanto que o leite contém uma quantidade relativamente baixa. A moagem de cereais remove a maior parte da vitamina B₁, devido a isso a farinha utilizada no preparo de pães, em certos países, é enriquecida com a adição dessa vitamina (BALL, 2004; TRUSWELL, 2009).

2.6.2 Vitamina B₂ (Riboflavina)

A riboflavina ou vitamina B₂ inicialmente era considerada como composta por uma parte termolábil (B₁) e outra termoestável (B₂). Somente na década de 1930 é que foi descoberto o composto de coloração amarelada (ZEMPLÉN *et al.*, 2007).

A vitamina B₂ é composta por uma molécula de isoaloxazina com cadeia lateral de ribitol, sua denominação química é 7,8-dimetil-10-(1'-D-ribitol) isoaloxazina, a cadeia lateral ribitol é necessária para a atividade plena da vitamina. Possui a fórmula empírica C₁₇H₂ON₄O₆ e mais duas formas ativas: a flavina mononucleotídeo (FMN) e a flavina adenina dinucleotídeo (FAD). Na **Figura17** podemos observar a estrutura química das três formas ativas dessa vitamina (BALL, 2004; BIANCHINI-PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003; COMBS, 2008; TRUSWELL, 2009).

Quanto à sua aparência, a riboflavina em sua forma livre, é um pó cristalino e amarelo-alaranjado. Possui odor característico, é pouco solúvel em água, insolúvel em álcool, clorofórmio e éter. (BALL, 2004; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003; COMBS, 2008; TRUSWELL, 2009; BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003).

Em solução a vitamina B₂ livre possui quatro λ máximos de absorção em UV: 223 nm, 267 nm, 373 nm e 444 nm. Tanto a riboflavina quanto o FAD e o FMN são fluorescentes, possuindo emissão em aproximadamente 530 nm (BALL, 1998; BIANCHINI – PONTUSCHKA e PENTEADO, 2003).

Figura 17: Estrutura química da riboflavina, FMN e FAD.

Fonte: Adaptada de Ball (2006).

Em relação à sua estabilidade, apresenta degradação quando exposta à luz ultravioleta (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; TRUSWELL, 2009).

Quanto aos métodos analíticos aplicados em sua detecção, a riboflavina pode ser determinada por meio da fluorimetria, microbiologia ou pela cromatografia. Aplicando-se técnicas cromatográficas, é preferível que a detecção dessa vitamina ocorra por fluorescência devido às características naturais do analito de interesse e a maior sensibilidade desse equipamento em relação ao detector de UV-vis (ARRUDA *et al.*, 2013; ASLAM *et al.*, 2008; ASLAM, KHAN, KHAN, 2013; BUCHHOLZ, DROTLETT, TERNES, 2012; GREENFIELD e SOUTHGATE, 2003; JAKOBSEN, 2008; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

A riboflavina atua como precursora dos cofatores FMN e FAD que por sua vez funcionam como coenzimas em reações de oxi-redução. Também agem como co-fatores das enzimas: NADH desidrogenase, xantina oxidase, L-aminoácido oxidase, glutatona redutase, L-gulonolactona oxidase e metileno tetraidrofolato redutase, por exemplo (TRUSWELL, 2009; ZEMPLINI *et al.*, 2007).

A sua deficiência, em seres humanos, causa estomatite angular, quelose, atrofia das papilas gustativas da língua, dissebácia nasolabial e anemia em casos extremos. O excesso no consumo da riboflavina ocasiona toxicidade, porém é considerada de baixo

risco, pois o trato gastro-intestinal não consegue absorver mais do que 20 à 25 mg desse composto em uma única dose (TRUSWELL, 2009).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR), atualmente no Brasil, para adultos em relação à vitamina B₂, com o objetivo de atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas saudáveis, é de 1,3 mg / dia (BRASIL, 2005).

As principais fontes de riboflavina são o leite e os seus derivados, bem como os ovos, o fígado, os rins, os extratos de leveduras e os cereais matinais enriquecidos (BALL, 2004).

2.6.3 Vitamina B₃ (vitamina PP ou Niacina)

Niacina é o termo genérico para os compostos afins que possuem atividade sobre a prevenção da pelagra. Nos alimentos podemos encontrar o ácido nicotínico e a sua amida, a nicotinamida. A niacina foi isolada pela primeira vez como um produto do alcalóide natural, nicotina, porém tanto a nicotinamida como o ácido nicotínico têm propriedades distintas em relação à nicotina.

O ácido nicotínico ou 3-ácido carboxílico piridina possui a fórmula empírica C₆H₅O₂N e a nicotinamida ou 3-carboxiamida tem fórmula empírica C₆H₆ON₂, as suas estruturas químicas estão representadas na **Figura 18**. Ambos os vitâmeros tem caráter básico e formam sais de amônio quaternário em soluções ácidas (BALL, 2006).

Figura 18: Estrutura química do ácido nicotínico e da nicotinamida.
Fonte: Ball (2006).

O ácido nicotínico é cristalino, possui forma de agulhas brancas, tem sabor tartárico, é inodoro e higroscópico. É solúvel em água, etanol, glicerol, propileno glicol, ácidos diluídos e soluções alcalinas e insolúvel em acetona e éter etílico. A nicotinamida, apesar de possuir características muito similares às do ácido nicotínico, tem sabor amargo e diferenças na solubilidade. É muito solúvel em água

e etanol, solúvel em acetona e pouco solúvel em éter etílico e clorofórmio. Ambos apresentam espectros de absorção similares na região de ultravioleta e λ máxima à 261 nm (BALL, 1994; SANT'ANA, 2003).

Em relação à estabilidade, os vitâmeros da niacina no estado seco e em soluções neutras, não são afetados pelo oxigênio atmosférico, pela luz ou pelo aquecimento (BALL, 1994; SANT'ANA, 2003).

Os principais métodos que são aplicados na determinação de niacina em alimentos são os microbiológicos, os colorimétricos e os cromatográficos, com ênfase nas análises por CLAE (BALL, 1994; GREENFIELD e SOUTHGATE, 2003; OTAWAY, 1993) por ser considerada uma técnica muito útil em procedimentos que envolvam a análise de compostos lábeis, tais como a niacina (OLLILAINEN *et al.*, 1993).

A nicotinamida faz parte das coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP). De forma básica, a nicotinamida atua na recepção de hidrogênio na cadeia de elétrons durante a fosforilação oxidativa nas mitocôndrias. O anel piridina da nicotinamida é que capta o hidrogênio (TRUSWELL, 2009).

A deficiência de niacina ocasiona a pelagra, doença caracterizada pela inflamação da pele em locais que foram expostos à luz solar. A inflamação em um estágio posterior apresenta pigmentações, rachaduras e descascamento. A doença como um todo apresenta-se em três estágios, também chamados de três "D": dermatite, diarreia e demência. A pelagra é rara em países desenvolvidos, ocorrendo com alta frequência no continente africano (BALL, 2004).

Em doses elevadas, de 100 mg / dia ou mais, o ácido nicotínico provoca rubor cutâneo devido a liberação de histamina no organismo. Já doses acima de 3 g / dia, ou seja, mais de 200 vezes o IDR, o ácido nicotínico inibe a lipólise no tecido adiposo e diminui os níveis plasmáticos de triglicerídeos e de colesterol (TRUSWELL, 2009).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR), atualmente no Brasil, para adultos em relação à vitamina B₃, com o objetivo de atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas saudáveis, é de 16 mg / dia (BRASIL, 2005).

São boas fontes de niacina pré-formada o fígado e os rins bovinos, porém outras carnes, aves, peixes, levedura, extratos de leveduras, amendoins, farelo de trigo, leguminosas, trigo integral e café também fornecem esse composto, mas em menor quantidade. O organismo também é capaz de sintetizar a niacina a partir do

triptofano (60 g de triptofano para obtenção de 1 g de niacina) absorvido no intestino após a digestão de proteínas (OTTAWAY, 1993; BALL, 2004).

2.6.4 Vitamina B₆ (Piridoxina)

São 6 os vitâmeros da piridoxina (vitamina B₆), os quais são derivados do 3-hidróxi-2-metilpiridina e possuem a mesma atividade biológica, diferenciando-se pelo grupo substituinte do carbono 4 como marcado na **Figura 19** (BALL, 2004; SANT'ANA, 2003). Assim, temos a piridoxamina, o piridoxal e o piridoxol que possuem as suas respectivas formas esterificadas piridoxina-5'-fosfato, piridoxal-5'-fosfato e piridoxamina-5'-fosfato (SANT'ANA, 2003).

Figura 19: Estrutura química dos vitâmeros da piridoxina.
Fonte: Adaptada de Ball (2006).

O cloridrato de piridoxol é a única forma química da vitamina B₆ aplicada na fortificação de alimentos. É caracterizado por ser um pó cristalino, branco, inodoro, com sabor salgado e solúvel em água. Tem como fórmula empírica C₈H₁₁O₃N.HCl (BALL, 2004; SANT'ANA, 2003). É solúvel em água, pouco solúvel em etanol, muito pouco solúvel em clorofórmio e éter (SANT'ANA, 2003).

O piridoxol em solução de pH igual à 1,8 apresenta-se no UV em 290 nm, e em solução neutra em λ máximo de absorção em 324 nm. A piridoxamina pode ser detectada em 293 nm, em meio ácido, e em 253 nm quando em meio alcalino. Enquanto que o piridoxal tem λ máximo de absorção em 288 nm em meio ácido e 317 nm em meio alcalino. Todos os vitâmeros têm fluorescência, porém em diferentes intensidades. A piridoxamina é a mais fluorescente (SANT'ANA, 2003).

A piridoxina é fotodegradável dependendo do pH do meio em que está contida. O calor pode afetar a vitamina B₆ também, mas os efeitos são menores em pH ácido (SANT'ANA, 2003).

Diferentes técnicas podem ser empregadas na detecção da vitamina B₆, tais como, ensaios microbiológicos, radiometria-microbiológica e cromatografia (GREENFIELD e SOUTHGATE, 2003; SANT'ANA, 2003). A última técnica citada é a mais empregada atualmente na análise de vitaminas do complexo B, pois possibilita a determinação simultânea de diferentes vitâmeros de uma mesma vitamina em uma única corrida cromatográfica (ARRUDA *et al.*, 2013a, 2013b; ASLAM *et al.*, 2008; ASLAM, KHAN, KHAN, 2013; BUCHHOLZ, DROTTLET, TERNES, 2012; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

A piridoxina atua na liberação de glicose, como por exemplo, na glicose-1-fosfato oriunda de depósitos de glicogênio e modulação dos receptores do hormônio esteroide (TRUSWELL, 2009).

A principal forma de coenzima no corpo humano é a piridoxol-5'-fosfato (PLP). Ela atua praticamente em todo o metabolismo dos aminoácidos:

- Transaminação e síntese de aminoácidos não estáveis;
- Desaminação da serina e da treonina;
- Metabolismo dos aminoácidos que contêm enxofre, incluindo homocisteína;
- Descarboxilações;
- Cinureninase (conversão do triptofano em niacina).

Os sinais clínicos da falta da vitamina B₆ são fraqueza geral, sonolência, neuropatia periférica, alterações de personalidade, dermatite, quelose, anemia e comprometimento da imunidade do organismo humano (BALL, 2006; SANT'ANA, 2003).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR), atualmente no Brasil, para adultos em relação à vitamina B₆, com o objetivo de atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas saudáveis, é de 1,3 mg / dia (BRASIL, 2005).

A vitamina B₆ está presente em alimentos não processados, sendo importante fonte dessa vitamina o extrato de levedura, o trigo integral, o fígado e a carne de frango. Pode ser obtida também, porém em menores quantidades a partir do consumo de cereais integrais, castanhas, rins, peixes, batatas, e outros vegetais (BALL, 2004; SANT'ANA, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho objetivou analisar o potencial vitamínico de amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de abelhas *Apis mellifera* e colhidas na região Sul do Brasil (estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), quantificando as vitaminas do complexo B (vitaminas B₁, B₂ e os respectivos vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆) e visando checar a existência de correlação com a sua origem botânica.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificou-se os teores das vitaminas B₁, B₂, vitâmeros da vitamina B₃ (ácido nicotínico e nicotinamida) e vitâmeros da vitamina B₆ (piridoxol, piridoxal, piridoxamina) no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil;
- Determinou-se a composição centesimal no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, realizando-se as análises de umidade, cinzas, açúcares totais e redutores, proteínas, lipídeos e fibras, além da verificação do pH e do teor de acidez livre das amostras;
- Realizou-se análise palinológica no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, determinando-se quais foram os tipos polínicos contribuintes na composição de cada amostra avaliada;
- Correlacionou-se estatisticamente a composição centesimal e vitamínica do pólen apícola desidratado de diferentes localidades da região Sul do Brasil com os tipos polínicos contribuintes na composição de cada amostra avaliada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Amostragem

Foram obtidos 28 lotes de pólen apícola *in natura*, oriundos de colmeias de abelhas *Apis mellífera*, procedentes de diferentes localidades dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, assim como discriminado na **Tabela 9**. As coletas foram realizadas entre os meses de agosto de 2011 e dezembro de 2012.

Tabela 9: Identificação das amostras e descrição da origem, data e estação do ano em que a coleta do pólen apícola foi realizada.

Amostra	Estado	Cidade	Data da coleta	Estação do ano
PR 01	Paraná	União da Vitória	Novembro / 2011	Primavera
PR 02		União da Vitória	Novembro /2011	Primavera
PR 03		União da Vitória	Novembro / 2011	Primavera
PR 04		União da Vitória	Novembro / 2011	Primavera
PR 05		Lapa	Dezembro / 2011	Primavera
PR 06		Palmeira	Dezembro / 2011	Primavera
SC 01	Santa Catarina	São José	Dezembro / 2011	Primavera
SC 02		São José	Dezembro/ 2011	Primavera
SC 03		São José	Dezembro / 2011	Primavera
SC 04		Balneário Gaivota	Dezembro /2011	Primavera
SC 05		Içará	Agosto/2012	Inverno
RS 01	Rio Grande do Sul	Cruz Alta	Agosto / 2011	Inverno
RS 02		São Gabriel	Setembro / 2011	Inverno
RS 03		São Gabriel	Setembro / 2011	Inverno
RS 04		São Gabriel	Outubro / 2011	Primavera
RS 05		Erechim	Outubro / 2011	Primavera
RS 06		Novo Hamburgo	Outubro / 2011	Primavera
RS 07		Novo Hamburgo	Novembro / 2011	Primavera
RS 08		Ijuí	Dezembro / 2011	Primavera
RS 09		Cruz Alta	Dezembro / 2011	Primavera
RS 10		Cruz Alta	Março / 2012	Verão
RS 11		Jacutinga	Março / 2012	Verão
RS 12		Cambará do Sul	Outubro / 2012	Primavera
RS 13		Cambará do Sul	Outubro / 2012	Primavera
RS 14		Cambará do Sul	Outubro / 2012	Primavera
RS 15		Cambará do Sul	Novembro / 2012	Primavera
RS 16		Cambará do Sul	Dezembro / 2012	Primavera
RS 17		Cambará do Sul	Dezembro / 2012	Primavera

Com o objetivo de localizar apiários instalados na região Sul do Brasil, realizou-se consulta à Confederação Brasileira de Apicultura (CBA) que indicou produtores cadastrados em seu banco de dados e procedentes da região desejada.

As amostras foram coletadas utilizando-se caça pólen do tipo externo instalados nas colmeias. A remoção do pólen apícola ocorreu diariamente.

O pólen apícola *in natura*, coletado em cada propriedade, aproximadamente 500 gramas, foi acondicionado em embalagem plástica hermeticamente fechada e encaminhado ao Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP). O transporte ocorreu de duas formas:

- Via correios: neste caso, os apicultores foram instruídos a enviar o pólen apícola *in natura*, congelado (à temperatura de -18°C) em caixas de isopor contendo gelo, e;
- Coleta *in loco*: neste caso, o material foi recolhido junto aos produtores. Para o transporte o material foi congelado (à temperatura de -18°C) e acondicionado em caixas de isopor contendo gelo.

Em ambos casos, os produtores informaram a origem botânica presumida por eles, o período de coleta e a localização dos apiários (cidade e estado) de onde foram obtidas cada um das amostras.

4.1.2 Preparo das amostras

As amostras de pólen apícola *in natura* foram identificadas como descrito na **Tabela 9** e armazenados em congelador à temperatura de -18°C , imediatamente após o recebimento.

Antes da realização das análises as amostras foram desidratadas, como na **Figura 20**, em estufa da marca Fabbe Primar, específica para processamento de alimentos. Cada amostra foi distribuída de forma uniforme e em finas camadas sobre bandeja de alumínio, devidamente codificadas. A desidratação ocorreu à temperatura de 42°C (BRASIL, 2001) durante período padronizado em 20 horas. As amostras, previamente desidratadas, foram encaminhadas para a realização das análises físico-químicas e palinológica.

Figura 20: Amostras de pólen apícola *in natura* prestes a serem desidratadas.
Fonte: Sattler (2014).

Todas as amostras foram trituradas, em moinho analítico (Ika-Wercke®- M20), durante tempo padronizado em três séries de 30 segundos para homogeneização antes da realização de cada ensaio analítico físico-químico.

4.1.3 Padrões e reagentes

Foram utilizados os seguintes padrões e reagentes:

- Acetato de sódio – Grau PA – marca Synth;
- Acetonitrila – Grau HPLC – marca Merck;
- Ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico - Grau PA – Sigma Aldrich;
- Ácido acético glacial – Grau PA - marca Synth;
- Ácido clorídrico 37% - Grau PA - marca Synth;
- Ácido orto-fosfórico 85% - Grau PA - marca Synth;
- Álcool etílico 99,5% - Grau PA – marca Synth;
- Diastase fúngica – Grau Bioquímico - marca Merck;
- Dihidrogenofosfato de potássio – Grau PA - marca Synth;
- Dimetilformamida – Grau HPLC - marca Merck;
- Ferricianeto de potássio – Grau PA - marca Synth;
- Hidrogenofosfato de di-potássio – Grau PA - marca Synth;
- Hidróxido de sódio em lentilha – Grau PA - marca Synth;
- Padrão de niacina – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;

- Padrão de niacinamida – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;
- Padrão de piridoxina na forma de álcool – Cloridrato de piridoxol – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;
- Padrão de piridoxina na forma de aldeído – Cloridrato de piridoxal – marca Merck – pureza > 99,5% - Grau Bioquímico;
- Padrão de piridoxina na forma de amina – Cloridrato de piridoxamina – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;
- Padrão de riboflavina – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;
- Padrão de tiamina – Cloridrato de tiamina – marca Merck – pureza > 99% - Grau Bioquímico;
- Peróxido de hidrogênio 30% - Grau PA – marca Vetec;
- Sulfato de cobre II pentahidratado – Grau PA - marca Synth;
- Tris(hidroximetil)aminometano - Grau PA – Sigma Aldrich.

4.1.4 Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Agitador magnético – marca Quimis;
- Amostrador automático para sistema HPLC (Autosampler SIL-20A) marca Shimadzu;
- Balança analítica – marca Mettler Toledo;
- Balança analítica – marca Micronal (B160) acoplada à um secador infravermelho Mettler Toledo (LP16);
- Banho – Maria – marca Fisatom;
- Banho – Maria para incubação – marca Julabo;
- Bomba isocrática para sistema HPLC marca Shimadzu (LC-20AT);
- Detector de fluorescência para sistema HPLC (RF-10AXL) marca Shimadzu;
- Estufa secadora de alimentos da marca Fabbe Primar;
- Lâmpada de luz negra TLD 18W/08 marca Philips;
- Lâmpada fluorescente luz do dia F40W T12 marca Silvânia;
- Moinho analítico marca Ika-Wercke®- M20;
- pHmetro – marca micronal (B474);

- Sistema CBM-20A (SCL-10Avp) marca Shimadzu;
- Sistema de água ultrapura Milli-Q – marca Millipore;
- Software LC-Solution para sistema HPLC marca Shimadzu.

4.2 Métodos

Todas as análises físico-químicas foram realizadas nas dependências do Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP).

As análises polínicas foram realizadas na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) por meio de parceria firmada com a Dra. Ortrud Monika Barth Schatzmayr, especialista na área.

4.2.1 Extração e determinação das vitaminas do complexo B (B_1 , B_2 e vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6) presentes no pólen apícola

4.2.1.1 Extração simultânea das vitaminas B_1 , B_2 , vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6

Para determinar por meio de técnica cromatográfica as vitaminas B_1 , B_2 , e vitâmeros das vitaminas B_3 e B_6 , realizou-se previamente a extração simultânea das vitaminas e vitâmeros citados anteriormente do pólen apícola desidratado. O procedimento foi realizado de acordo com a metodologia aplicada por Arruda *et al.* (2013a, 2013b) em seu trabalho sobre a estabilidade de vitaminas do complexo B nesta mesma matriz.

O procedimento aplicado baseou-se nos descritos por Moreschi e Almeida-Muradian (2009), Presoto e Almeida-Muradian (2005, 2008).

Cada amostra foi homogeneizada e triturada em moinho analítico, tomando-se, em um erlenmeyer de 125 mL, aproximadamente, 5 g de pólen apícola desidratado. Adicionou-se em seguida 50 mL de ácido clorídrico 0,1 M. A hidrólise ácida ocorreu durante 30 minutos em banho-maria (98°C) de água, necessitando-se de agitação ocasional. Depois que a mistura resfriou a temperatura ambiente, corrigiu-se o pH para 4,6 com solução de acetato de sódio 2,5 M. Estando com o pH

ideal, adicionou-se 0,5 g de enzima diástase sobre a mistura. A desfosforilação, das vitaminas do complexo B, ocorreu durante a hidrólise enzimática pelo período de 2 horas à temperatura de 42 °C. Após, resfriou-se o extrato até temperatura ambiente, diluindo-o, utilizando-se um balão volumétrico de 100 mL, completado com água deionizada. Antes de acomodar o extrato no *vial*, o mesmo foi filtrado em papel de filtro e em membrana de ésteres de celulose (0,45 µm). Após esse procedimento injetou-se o extrato no sistema cromatográfico de acordo com a condição específica para detecção de cada vitamina e seus respectivos vitâmeros. Na **Figura 21**, segue o diagrama de realização do procedimento de extração das vitaminas do complexo B.

Figura 21: Diagrama do processo analítico de extração das vitaminas B₁, B₂ e vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

4.2.1.2 Determinação de vitamina B₁, com reação pré-coluna

O método de análise cromatográfico foi realizado de acordo com Arruda *et al.* (2013a, 2013b) que se baseou no procedimento descrito por Ollilainen *et al.* (2001) e Presoto e Almeida-Muradian (2008).

Reação pré-coluna de transformação da tiamina em composto fluorescente

Para a reação de conversão da tiamina em tiocromo, foram adicionados, aproximadamente, 2 mL de água deionizada e 3 mL da solução de ferricianeto de potássio em meio básico [0,25 % (m / v) em NaOH 15 %] para cada 1 mL de solução padrão diluída ou do extrato das amostras, em balões volumétricos âmbar de 10 mL.

O volume obtido foi homogeneizado em agitador de tubos e colocado em repouso por 2 minutos para que ocorresse a reação de oxidação da tiamina em tiocromo. Após este tempo, foram adicionados 450 µL de ácido orto-fosfórico 85 %. O conteúdo de cada balão volumétrico foi resfriado e o volume final completado com água deionizada.

Estas soluções foram injetadas no sistema cromatográfico imediatamente após o seu preparo.

Preparo da fase móvel para a determinação da vitamina B₁ por detecção com reação pré-coluna

A fase móvel empregada na análise cromatográfica da vitamina B₁ foi obtida por meio da dissolução de 1,74 g de hidrogenofostato de di-potássio em 800 mL de água ultrapura. A solução teve o seu pH ajustado para 7,2 com HCL 1 M utilizando-se um pHmetro para mensurar essa variação. Posteriormente, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL, tendo o volume completado com água ultrapura. O tampão fosfato pH 7,2 foi filtrado através de membrana de ésteres de celulose de 0,45 µm, sob vácuo. Em seguida, foi misturado com dimetilformamida (85 : 15 v / v) e filtrado novamente em membrana de 0,45 µm, sob vácuo.

Antes de circular no sistema cromatográfico, a fase móvel foi desgaseificada sob vácuo em ultrassom por aproximadamente 20 minutos. Esse procedimento foi repetido a cada 24 horas para evitar a entrada de ar no sistema cromatográfico.

4.2.1.3 Determinação de vitamina B₂

O método de análise foi realizado de acordo com Arruda *et al.* (2013a, 2013b), baseado no procedimento descrito por Chase *et al.* (1993), Moreschi e Almeida-Muradian (2009), Presoto e Almeida-Muradin (2008).

Preparo da fase móvel para a determinação da vitamina B₂

Foi utilizada a mesma fase móvel da determinação de tiamina por detecção com reação pré-coluna. Porém, a riboflavina foi analisada em corrida cromatográfica separada devido à sua degradação durante a reação pré-coluna que converte a vitamina B₁ em composto fluorescente.

A fase móvel foi previamente desgaseificada sob vácuo em ultrassom por aproximadamente 20 minutos, antes da utilização no sistema cromatográfico.

4.2.1.4 Determinação de vitamina B₃

O procedimento de análise foi realizado de acordo com Arruda *et al.* (2013a, 2013b), baseado no descrito por Lahély *et al.* (1999) e Presoto e Almeida-Muradian (2008).

Os resultados obtidos na quantificação de cada vitâmero da vitamina B₃, foram somados, por amostra, para obtenção do valor total de niacina.

Reação pós-coluna para detecção dos vitâmeros nicotinamida e ácido nicotínico

Para possibilitar a detecção dos vitâmeros nicotinamida e ácido nicotínico, após a eluição deles através de fase estacionária, foi instalado um reator composto por 12 metros de tubulação de tetrafluoretileno (TFE) com diâmetro interno de 0,5 mm. O reator foi enrolado em uma lâmpada de luz negra (TLD 18 W / 08), responsável pela emissão de radiação ultravioleta (UV) entre 300 a 400 nm, tornando esses compostos fluorescentes.

Preparo da fase móvel para análise de vitamina B₃

Foram pesados e transferidos, para um balão de 1000 mL, 9,54 g de dihidrogenofosfato de potássio que foram dissolvidos em, aproximadamente, 500 mL de água ultrapura. Em seguida adicionou-se, cuidadosamente, 7,6 mL de peróxido de hidrogênio 30 % e 1,0 mL da solução de sulfato de cobre 5 mM. O volume final foi completado com água ultrapura.

A fase móvel foi então homogeneizada, filtrada em membrana de ésteres de celulose de 0,45 µm, com vácuo. Esta solução permaneceu estável por 24 horas quando acondicionada à temperatura ambiente. Antes de circular no sistema cromatográfico, a fase móvel foi desgaseificada aplicando-se nitrogênio por aproximadamente 30 minutos.

4.2.1.5 Determinação de vitamina B₆

O método de análise foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Arruda (2013a, 2013b) que se baseou em Kall (2003), Moreschi e Almeida-Muradian (2009) e Presoto e Almeida-Muradian (2008).

Os resultados obtidos na quantificação de cada vitâmero da vitamina B₆, foram somados, por amostra, para obtenção do valor total de piridoxina.

Preparo da fase móvel para análise de vitamina B₆

A fase móvel empregada na análise cromatográfica da vitamina B₆ foi obtida por meio da dissolução de 1,74 g de hidrogenofostato de di-potássio em 800 mL de água ultrapura. A solução teve o seu pH ajustado para 2,5 com HCL 1 M utilizando-se um pHmetro para mensurar essa variação. Posteriormente, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL, completando-se o volume com água ultrapura. O tampão fosfato pH 2,5 foi filtrado em membrana de ésteres de celulose de 0,45 µm, sob vácuo. Em seguida, foi misturado com acetonitrila (96 : 4 v / v) e filtrado novamente em membrana de 0,45 µm, sob vácuo. Antes de circular no

sistema cromatográfico, a fase móvel foi desgaseificada sob vácuo em ultrassom por aproximadamente 20 minutos. Esse procedimento foi repetido a cada 24 horas para evitar a entrada de ar no sistema cromatográfico.

4.2.1.6 *Condições cromatográficas para a determinação das vitaminas B₁, B₂, vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆*

As condições cromatográficas variaram para cada vitamina analisada. Sendo assim, foram quantificadas em corridas diferentes.

As vitaminas B₁ e B₂ foram analisadas utilizando-se a mesma composição de fase móvel, enquanto as vitaminas B₃ e B₆ foram quantificadas em condições cromatográficas totalmente distintas. As vitaminas B₂ e B₆ foram detectadas diretamente por fluorescência, enquanto que as vitaminas B₁ e B₃ foram submetidas à reação pré e pós-coluna, respectivamente, sendo detectadas também por fluorescência, posteriormente, como descrito na **Tabela 10**.

A temperatura do laboratório foi mantida a 20 °C durante a realização de toda a análise cromatográfica. Quando necessário o forno de aquecimento foi utilizado para diminuir a viscosidade da fase móvel, possibilitando a estabilidade da vazão e pressão do sistema ao longo da corrida cromatográfica.

Tabela 10: Descrição das condições cromatográficas adotadas para a análise de cada vitamina do complexo B avaliada neste estudo.

Vitamina	B ₁	B ₂	B ₃ (nicotinamida e ácido nicotínico)	B ₆ (piridoxamina, piridoxal e piridoxol)
Fase móvel	Tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (85 :15 v / v)	Tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (85 :15 v / v)	Tampão fosfato contendo peróxido de hidrogênio e sulfato de cobre	Tampão fosfato pH 2,5 com par iônico acetonitrila (96 : 4 v / v)
Vazão	1 mL / min	1,5 mL / min	1,5 mL / min	0,6 mL / min
Volume de injeção	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
Fase estacionária	C ₁₈ (RP-18 esférica 5 µm / 250 x 4,6 mm com pré-coluna 5 µm / 10 x 4,6 mm Shim-pac VP-ODS)	C ₁₈ (RP-18 esférica 5 µm / 250 x 4,6 mm com pré-coluna 5 µm / 10 x 4,6 mm Shim-pac VP-ODS)	C ₁₈ (Luna C ₁₈ esférica 5 µm / 250 x 4,6 mm com pré-coluna Phenomenex 5 µm / 10 x 10 mm)	C ₁₈ (Superspher 100 RP-18 endcapped 5 µm / 250 x 4,0 mm com pré-coluna Linchrospher 100 RP-18 5 µm / 4 x 4 mm)
Comprimento de onda (λ)	Ex: 368 nm Em: 440 nm	Ex: 450 nm Em: 530 nm	Ex: 322 nm Em: 380 nm	Ex: 296 nm Em: 390 nm
Temperatura da coluna	20 °C	45 °C	20 °C	20 °C
Reação de conversão	Pré-coluna	*	Pós-coluna	*

* Não foi necessária a realização de reação de conversão, pois estas vitaminas são naturalmente fluorescentes.

4.2.1.7 Preparo e diluição das soluções padrão para obtenção de curvas padrão

A quantificação foi realizada pela utilização de padrão externo. As soluções padrão estoque para cada vitamina analisada foram preparadas e armazenadas de acordo com o descrito por Moreschi e Almeida-Muradian (2009). Os extratos obtidos de cada amostra respeitaram o mesmo período de armazenagem das soluções padrão estoque.

Foram construídas curvas padrão das vitaminas B₁ (1,42 a 56,80 ng / 20 µL, R² = 0,999) e B₂ (2,67 a 133,20 ng / 20 µL, R² = 1,000). Para quantificação da vitamina B₃, foram traçadas curvas padrão do ácido nicotínico (5,54 a 554 ng / 20 µL, R² = 0,999) e da nicotinamida (5,53 a 553,45 ng / 20 µL, R² = 0,999) e para a vitamina B₆, foram traçadas curvas padrão dos vitâmeros, piridoxamina (2,43 a 97, 22 ng / 20 µL, R² = 0,999), piridoxal (2,60 a 103,88 ng / 20 µL, R² = 0,999) e piridoxol (2,45 a 98 ng / 20 µL, R² = 0,999).

Para obtenção de cada curva padrão foram realizadas diluições seriadas das soluções padrão, obtendo-se 6 concentrações diferentes de cada vitamina / vitâmero correspondentes aos valores injetados no cromatógrafo de acordo com o realizado por Arruda (2009).

4.2.2 Análises de composição físico-química

4.2.2.1 Determinação de umidade

O método utilizado para determinar a umidade das amostras foi o gravimétrico, utilizando balança eletrônica de precisão Micronal (B160), adaptada com secador infravermelho Metler Toledo (LP16), conforme indicado por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012), Arruda (2013a, 2013b), Melo e Almeida-Muradian (2011).

4.2.2.2 *Determinação de cinzas*

O teor de cinzas foi determinado por gravimetria após incineração do material em mufla a 550°C, até peso constante (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

4.2.2.3 *Determinação de proteínas*

O teor de proteínas foi determinado através do método Micro-Kjeldahl. Utilizou-se o fator 6,25 para transformação do nitrogênio total em proteínas (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; AOAC, 1995).

4.2.2.4 *Determinação de lipídeos*

O teor de lipídeos foi determinado em extrator intermitente de Soxhlet, utilizou-se éter etílico como solvente (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

4.2.2.5 *Determinação de açúcares totais*

Para a determinação dos açúcares totais, utilizou-se a metodologia de cálculo por diferença levando-se em consideração a fração de fibra alimentar de acordo com a fórmula: açúcares totais = 100 - (água + cinzas + proteínas + lipídeos + total de fibra alimentar) (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; GIUNTINI, 2006; KRAUT, 2000).

4.2.2.6 *Determinação de açúcares redutores (glicose e frutose)*

Os procedimentos de extração e determinação dos açúcares, glicose e frutose, foram realizados conforme descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

Para realizar a extração, pesou-se 2 g de amostra, previamente triturada, em um erlenmeyer de 125 mL e adicionou-se 30 mL de água a 40 °C. Em seguida, os erlenmeyers foram mantidos em banho-maria de água (60 °C) por 15 minutos, sob agitação constante. Após esse período, mas ainda em banho-maria na mesma temperatura e sob agitação, adicionou-se 2 mL de cada solução Carrez (I e II). Resfriou-se a solução até temperatura ambiente. Completou-se o volume para 50 mL em balão volumétrico, com água deionizada. Filtrou-se o extrato através de membrana de ésteres de celulose e injetou-se o mesmo no cromatógrafo.

A separação da glicose e da frutose ocorreu em fase móvel acetonitrila e água (85 : 15 v / v), o fluxo foi mantido em 1 mL / min, o volume de injeção foi igual à 20 µL, utilizou-se coluna NH₂ de fase normal (5 µm, 25 cm x 4,6 mm com pré-coluna de 10 cm x 4,6 mm). A detecção se deu pelo detector de índice de refração (RID) e a temperatura da coluna foi mantida em 40 °C. A quantificação foi realizada por padronização externa.

4.2.2.6 Determinação de fibra alimentar total

A determinação de fibra total foi realizada pelo método enzimático-gravimétrico como descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012) e Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.2.2.7 Determinação de acidez livre

A determinação de acidez livre foi realizada por método titulométrico, utilizando-se como titulante solução de NaOH 0,1 N (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

4.2.2.8 Determinação de pH

Foi adotada metodologia de acordo com Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012) e Instituto Adolfo Lutz. (2005), onde 5 g de amostra foram diluídas em 50 mL de água destilada, sendo realizada em seguida a leitura diretamente no pHmetro.

4.2.3 Análise polínica

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

4.2.3.1 Preparação de amostras de pólen apícola

Foram pesados 2 g de pólen apícola desidratado, bem misturado (cerca de 300 bolotas). Em seguida, foram transferidas para um tubo de centrifuga de 15 mL de capacidade, sendo adicionados de 10 mL de etanol a 70 % que foi mantido em repouso por 30 minutos. A amostra, então, foi homogeneizada com bastão de vidro, submetida a tratamento ultrassônico e centrifugação. Após esta etapa, uma solução de água destilada e glicerina (1 : 1 v / v) foi adicionada ao sedimento para completar 13 mL e deixou-se em repouso por cerca de 30 minutos.

4.2.3.2. Preparação de lâminas de microscópio

Uma gota da suspensão de grãos de pólen apícola bem homogeneizada foi aplicada sobre uma lâmina de microscopia, coberta com uma lamínula de medida 22 × 22 mm, e selada com esmalte. As lâminas foram mantidas numa posição horizontal por cerca de um mês, antes de começarem a secar, ficando os grãos de pólen apícola 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.

4.2.3.3 *Contagem e identificação de grãos de pólen e elementos figurados*

Pelo menos 500 grãos de pólen apícola foram contados por amostra tendo sido identificados usando uma ampliação de 400 vezes. 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.*, 2011b) e laminário de referência para posteriormente ser realizado o cálculo das porcentagens de cada um dos tipos polínicos na amostra.

Foram considerados para avaliação os tipos polínicos com frequência igual e acima de 3 % do total contado. Foram anotados também os demais elementos figurados (esporos de fungos, leveduras, tecido vegetal, tricomas, massa orgânica amorfa, impurezas).

4.2.4 *Tratamento estatístico*

A coleta de amostras foi realizada de forma casualizada, tendo-se como exigência única que fossem originárias de apiários da região Sul do Brasil.

Todos os dados obtidos foram avaliados em relação à sua distribuição (teste de Shapiro-Wilks) e homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Os dados que se apresentaram com distribuição não normal e com variâncias não homogêneas foram submetidos à transformação logarítmica e testados novamente. Aqueles que mesmo após a utilização desse recurso continuaram a não satisfazer as condições para que procedimentos estatísticos paramétricos pudessem ser aplicados, foram analisados por meio de procedimento não paramétrico.

Foi calculada a média, de todos os dados das determinações de vitaminas e centesimal, por estado, obtendo-se assim três grupos. Dessa forma, aplicou-se a análise de variância (*One-way ANOVA*) seguida dos testes LSD (Diferença Mínima Significativa) para verificar tendência e Bonferroni para verificar a veracidade dos

dados, objetivando-se constatar diferenças significantes entre os parâmetros analisados.

Para verificar a existência de correlação entre os resultados das determinações de vitaminas e análise centesimal com os dados da análise palinológica, foi calculado o Coeficiente de Correlação de Pearson para o grupo de dados paramétricos. No conjunto de dados não paramétricos calculou-se o Coeficiente de Correlação de Spearman.

Ambos coeficientes de correlação foram representados por “ r ” que pode variar na escala de 1 à -1, onde:

- $r = 1$, correlação direta perfeita;
- $0,91 < r < 0,99$, correlação direta fortíssima;
- $0,61 < r < 0,91$, correlação direta forte;
- $0,31 < r < 0,60$, correlação direta média;
- $0,01 < r < 0,30$, correlação direta fraca;
- $r = 0$ (zero), correlação nula;
- $-0,01 > r > -0,30$, correlação inversa fraca;
- $-0,31 > r > -0,60$, correlação inversa média;
- $-0,61 > r > -0,91$, correlação inversa forte;
- $-0,91 > r > -0,99$, correlação inversa fortíssima;
- $r = -1$, correlação inversa perfeita.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa PASW Statistics 18 e adotando-se o nível de significância igual a 5 % ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação de vitaminas B₁, B₂ e vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆ no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil

Nas **Figuras 22, 23, 24 e 25** estão apresentados alguns cromatogramas obtidos neste estudo sobre as vitaminas do complexo B em amostras de pólen apícola desidratado.

Figura 22: Cromatograma obtido após a passagem de padrão de vitamina B₁, convertida em tiocromo, por detector de fluorescência.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

Figura 23: Cromatograma obtido após a passagem de padrão de vitamina B₂ por detector de fluorescência.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

Figura 24: Cromatograma obtido após a passagem de padrões dos vitâmeros da vitamina B₃, ácido nicotínico e nicotinamida, por detector de fluorescência.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

Figura 25: Cromatograma obtido após a passagem de padrões dos vitâmeros da vitamina B₆, piridoxamina (A), piridoxal (B) e piridoxol (C) por detector de fluorescência.

Fonte: Bianca Rodrigues de Souza.

Em todas as amostras analisadas foram detectadas as vitaminas B₁, B₂, os dois vitâmeros da vitamina B₃ e os três vitâmeros da vitamina B₆.

Nas **Tabelas 11, 12, 13 e 14** estão descritas as quantidades presentes, de cada vitamina e respectivos vitâmeros, nas amostras de pólen apícola desidratado. Outra informação presente nas tabelas é a porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR), para cada vitamina analisada, calculada na porção, sugerida para consumo (25 g de pólen apícola desidratado).

Para apresentar os dados de forma clara, os valores dos resultados obtidos foram expressos em miligramas por 100 gramas de matéria seca do produto.

Tabela 11: Quantidade de vitamina B₁ em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.

Amostra	Vitamina B ₁ (mg / 100 g)*	% IDR para adultos
PR 01	0,91 ± 0,11	18,99**
PR 02	0,58 ± 0,03	12,09
PR 03	1,37 ± 0,39	28,52**
PR 04	0,91 ± 0,06	18,94**
PR 05	1,03 ± 0,04	21,43**
PR 06	0,65 ± 0,03	13,48
Média estadual (n = 6)	0,91 ± 0,28a	-
SC 01	0,65 ± 0,40	13,63**
SC 02	0,76 ± 0,45	15,87**
SC 03	0,91 ± 0,07	18,94**
SC 04	0,80 ± 0,08	16,70**
SC 05	1,10 ± 0,15	22,91**
Média estadual (n = 5)	0,80 ± 0,17a	-
RS 01	1,57 ± 0,38	32,74***
RS 02	0,49 ± 0,13	10,30
RS 03	0,51 ± 0,08	10,69
RS 04	1,23 ± 0,17	25,53**
RS 05	1,83 ± 0,09	38,05***
RS 06	0,94 ± 0,38	19,60**
RS 07	0,57 ± 0,22	11,85
RS 08	1,34 ± 0,06	27,89**
RS 09	0,73 ± 0,47	15,25**
RS 10	0,79 ± 0,02	16,51**
RS 11	0,78 ± 0,19	16,21**
RS 12	0,71 ± 0,21	14,81
RS 13	0,71 ± 0,02	14,81
RS 14	0,63 ± 0,11	13,14
RS 15	0,46 ± 0,25	9,62
RS 16	0,68 ± 0,10	14,17
RS 17	1,24 ± 0,12	25,84**
Média estadual (n = 17)	0,73 ± 0,40a	-
Média da região (n = 28)	0,79 ± 0,34	-

*Média ± Desvio padrão (n=3).

**Amostra considerada fonte de vitamina B₁ de acordo com o descrito na Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

***Amostra considerada rica em vitamina B₁ de acordo com o descrito na Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

Limite mínimo de quantificação de vitamina B₁ = 0,06 mg / 100 g.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

Como demonstrado na **Tabela 11** foram observadas concentrações, de vitamina B₁, com valores mínimo e máximo, respectivos, iguais a 0,46 e 1,83 mg / 100 g de pólen apícola desidratado, coletado na região Sul do Brasil. O mesmo alimento avaliado na cidade de Pariquera-Açú (SP), apresentou-se com variação entre 0,64 e 1,01 mg / 100 g. Comparando-se os teores de tiamina das amostras da região Sudeste com as da região Sul do país, verificou-se que o valor máximo quantificado entre as amostras analisadas por Arruda *et al.*, (2013a, b), foi superior ao observado no presente estudo.

Quantidades de vitamina B₁, dentro do intervalo de concentração verificado no pólen apícola desidratado, podem ser observadas em alimentos como o grão de bico cru (0,52 mg / 100 g), o farelo de trigo (0,52 mg / 100 g), o coração de porco cru (0,61 g / 100 g), o feijão branco cru (0,74 mg / 100 g) e a lentilha crua (0,87 mg / 100 g) (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2011; USDA, 2014).

Comparando-se as quantidades de vitamina B₁, do pólen apícola desidratado, com as de outros alimentos, descritos pela literatura, como fornecedores desse micronutriente, foi possível afirmar que o pólen apícola os superou nutricionalmente. São exemplos o fígado bovino (0,14 mg / 100 g), o coração de frango (0,23 mg / 100 g) e as amêndoas (0,29 mg / 100 g), além de frutas como o abacaxi (0,17 mg / 100 g) e o cupuaçu (0,37 mg / 100 g), e vegetais como o alface (0,07 mg / 100 g) e o agrião (0,11 mg / 100 g) (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2011; USDA, 2014).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR) da vitamina B₁, no Brasil, é de 1,2 mg / dia (BRASIL, 2005). De acordo com a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS / MS) (BRASIL, 1998), para que um alimento seja considerado fonte ou rico em um determinado micronutriente, o mesmo deve estar presente, respectivamente, nas quantidades correspondentes ou acima de 15% e 30% do peso total da porção.

Em relação à porcentagem de IDR de vitamina B₁, fornecida à dieta humana pelo consumo da porção sugerida de 25 g de pólen apícola desidratado, 57 % das amostras analisadas neste estudo (n = 28), foram consideradas fontes e 7 % foram consideradas ricas nessa vitamina. O restante das amostras, possuem tiamina também, porém em quantidades menores e que não as enquadram na classificação, supracitada.

Verificando-se as médias estaduais, não observou-se diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) entre os produtos produzidos nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul em relação ao seu teor de vitamina B₁.

Tabela 12: Quantidade de vitamina B₂ em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.

Amostra	Vitamina B ₂ (mg / 100 g)*		% IDR
PR 01	0,79	± 0,02	15,19**
PR 02	0,78	± 0,01	14,95
PR 03	1,86	± 0,01	35,71***
PR 04	1,62	± 0,06	31,07***
PR 05	0,55	± 0,22	10,54
PR 06	1,11	± 0,02	21,41**
Média estadual (n = 06)	0,95	± 0,52a	-
SC 01	1,08	± 0,01	20,74**
SC 02	1,01	± 0,01	19,47**
SC 03	1,62	± 0,03	31,25***
SC 04	1,28	± 0,02	24,63**
SC 05	0,84	± 0,01	16,24**
Média estadual (n = 5)	1,08	± 0,30a	-
RS 01	1,06	± 0,01	20,39**
RS 02	0,97	± 0,09	18,56**
RS 03	0,87	± 0,01	16,70**
RS 04	0,84	± 0,01	16,08**
RS 05	0,76	± 0,03	14,61
RS 06	0,55	± 0,14	10,58
RS 07	0,79	± 0,13	15,26**
RS 08	0,92	± 0,04	17,72**
RS 09	0,92	± 0,05	17,62**
RS 10	0,80	± 0,08	15,38**
RS 11	0,84	± 0,04	16,24**
RS 12	1,49	± 0,11	28,56**
RS 13	1,53	± 0,04	29,48**
RS 14	0,86	± 0,04	16,57**
RS 15	0,89	± 0,04	17,15**
RS 16	0,70	± 0,01	13,42
RS 17	0,40	± 0,03	7,71
Média estadual (n = 17)	0,86	± 0,28a	-
Média da região (n = 28)	0,88	± 0,35	-

*Média ± Desvio padrão (n=3).

**Amostra considerada fonte de vitamina B₂ de acordo com o descrito na Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

***Amostra considerada rica em vitamina B₂ de acordo com o descrito na Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

Limite mínimo de quantificação de vitamina B₂ = 0,12 mg / 100 g.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

A **Tabela 12** apresenta os resultados obtidos na determinação de vitamina B₂, onde a variação observada ficou entre 0,40 e 1,86 mg / 100 g de pólen apícola desidratado. Arruda *et al.* (2013a,b) verificaram quantidades de riboflavina, neste mesmo alimento, entre 1,77 e 2,56 mg / 100g. Comparando-se os intervalos de concentrações, entre os trabalhos, pode-se dizer que as amostras de pólen apícola desidratado de Pariquera-Açú apresentaram-se com níveis mais elevados de vitamina B₂ do que as amostras da região Sul do país.

De acordo com a literatura, os alimentos considerados como principais fontes de riboflavina são o leite e os seus derivados, bem como os ovos, o fígado, os rins, os extratos de leveduras e os cereais matinais enriquecidos (BALL, 2004).

No leite a concentração de vitamina B₂ é 0,16 mg / 100 g ou 0,39 mg / 200 mL. Verificando-se as quantidades desse mesmo micronutriente em diferentes tipos de queijo, percebeu-se que existem variações, onde o cottage possui 0,20 mg / 100 g, o cheddar 0,38 mg / 100 g e o camembert 0,49 mg / 100 g. Os ovos frescos têm em sua composição um pouco mais de riboflavina (0,53 mg / 100 g ou 0,09 mg / unidade), mas a quantidade de nenhum dos alimentos citados anteriormente se comparam aos níveis de vitamina B₂ presentes no fígado e nos rins bovinos crus (respectivamente, 2,76 mg / 100 g e 2,84 mg / 100 g) (USDA, 2014).

Comparando-se as quantidades de riboflavina, presentes no pólen apícola desidratado com os teores da mesma vitamina nos alimentos supracitados, pode-se afirmar que a média regional do Sul do país para a vitamina B₂ (0,88 mg / 100 g), equivale ao consumo de 100 g de ovos (aproximadamente 6 ovos) mais 1 copo de leite.

Em relação à porcentagem de IDR da riboflavina, 68 % das amostras analisadas neste estudo (n = 28), foram consideradas fontes e 11 %, apresentaram-se como ricas nessa vitamina. O restante das amostras, possuíam vitamina B₂, porém em quantidades menores e que não as enquadram nessa classificação (BRASIL, 1998).

Verificando-se as médias estaduais de riboflavina, não observou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os produtos produzidos nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul quanto à esse parâmetro.

Tabela 13: Quantidade de vitamina B₃ obtida em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.

Amostra	Ácido nicotínico (mg / 100 g)*	Nicotinamida (mg / 100 g)*	Vitamina B ₃ (mg / 100 g)**	% IDR
PR 01	0,70 ± 0,08	3,27 ± 0,04	3,97 ± 0,12	6,20
PR 02	0,68 ± 0,11	2,73 ± 0,12	3,41 ± 0,24	5,32
PR 03	2,60 ± 0,12	2,90 ± 0,13	5,50 ± 0,26	8,59
PR 04	0,95 ± 0,21	4,20 ± 0,08	5,15 ± 0,28	8,05
PR 05	1,80 ± 0,12	3,97 ± 0,18	5,77 ± 0,30	9,02
PR 06	3,93 ± 0,25	ALQ	3,93 ± 0,25	6,14
Média estadual (n = 6)	1,38 ± 1,29	3,09 ± 1,41ab	4,56 ± 0,97b	-
SC 01	1,31 ± 0,08	3,39 ± 0,08	4,70 ± 0,15	7,34
SC 02	2,18 ± 0,03	2,72 ± 0,05	4,91 ± 0,09	7,67
SC 03	2,67 ± 0,06	ALQ	2,67 ± 0,06	4,17
SC 04	2,71 ± 0,12	ALQ	2,71 ± 0,12	4,23
SC 05	3,17 ± 0,14	4,57 ± 0,03	7,74 ± 0,17	12,10
Média estadual (n = 5)	2,67 ± 0,71	2,72 ± 1,51b	4,70 ± 2,08ab	-
RS 01	1,02 ± 0,34	2,40 ± 1,07	3,43 ± 1,41	5,36
RS 02	2,17 ± 0,18	4,16 ± 0,51	6,33 ± 0,69	9,90
RS 03	1,64 ± 0,53	3,00 ± 0,88	4,65 ± 1,41	7,26
RS 04	1,07 ± 0,10	3,25 ± 0,15	4,32 ± 0,25	6,75
RS 05	2,50 ± 0,09	2,96 ± 0,11	5,46 ± 0,20	8,53
RS 06	0,91 ± 0,14	5,34 ± 0,29	6,25 ± 0,43	9,77
RS 07	0,96 ± 0,09	3,79 ± 0,08	4,75 ± 0,17	7,42
RS 08	1,27 ± 0,02	5,54 ± 0,35	6,81 ± 0,37	10,63
RS 09	2,08 ± 0,04	3,76 ± 0,21	5,84 ± 0,25	9,13
RS 10	1,68 ± 0,12	4,82 ± 0,09	6,50 ± 0,21	10,16
RS 11	3,38 ± 0,17	5,31 ± 0,18	8,69 ± 0,35	13,58
RS 12	1,24 ± 0,12	4,87 ± 0,26	6,12 ± 0,38	9,56
RS 13	1,22 ± 0,03	4,47 ± 0,12	5,69 ± 0,15	8,90
RS 14	1,32 ± 0,31	4,76 ± 0,34	6,08 ± 0,65	9,51
RS 15	1,29 ± 0,47	5,16 ± 0,09	6,44 ± 0,56	10,07
RS 16	1,67 ± 0,10	3,33 ± 0,06	4,99 ± 0,16	7,80
RS 17	1,15 ± 0,10	3,19 ± 0,11	4,34 ± 0,20	6,78
Média estadual (n = 17)	2,67 ± 0,71	4,16 ± 0,99a	5,84 ± 1,22a	-
Média da região (n = 28)	1,48 ± 0,86	3,58 ± 1,33	5,31 ± 1,41	-

*Média ± Desvio padrão (n=3).

**Soma dos valores quantificados para os vitâmeros: ácido nicotínico e nicotinamida.

ALQ = Valor abaixo do limite de quantificação.

Limite mínimo de quantificação: ácido nicotínico = 0,24 mg/100 g; nicotinamida = 2,22 mg / 100 g.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

A vitamina B₃ possui vitâmeros, os quais têm estruturas químicas e atividade biológica semelhantes (BALL, 2006; MOURÃO *et al.*, 2005).

Na **Tabela 13** são descritos os resultados das quantificações do ácido nicotínico (0,68 a 3,93 mg / 100 g) e da nicotinamida (2,40 a 5,54 mg / 100 g), onde a soma dos valores mensurados para cada um desses vitâmeros resultaram num total de niacina. Neste estudo os valores de niacina apresentaram-se entre 2,67 e 8,69 mg / 100 g de pólen apícola desidratado.

Comparando-se as faixas de concentração de vitamina B₃, das amostras de pólen apícola desidratado das regiões Sudeste (ARRUDA *et al.*, 2013a, b) e Sul do Brasil, constatou-se que os alimentos analisados em ambos não foram considerados, para fins de rotulagem nutricional, fontes ou ricos em niacina. Além de que as amostras provenientes do município de Pariquera-Açú (SP) revelaram-se com maiores quantidades dessa vitamina (7,27 e 14, 43 mg / 100 g) do que as amostras avaliadas neste estudo.

As análises de determinação dos vitâmeros da niacina revelaram que algumas das amostras avaliadas não continham nicotinamida suficiente para realização da sua quantificação dentro de um intervalo seguro em relação a veracidade dos resultados obtidos, de acordo com o limite mínimo de quantificação estabelecido por Arruda (2009) ao validar a metodologia aplicada, neste trabalho, na quantificação das vitaminas.

São descritas, pela literatura, como boas fontes de niacina o fígado bovino cru (13,18 mg / 100 g) e o farelo de trigo (13,59 mg / 100 g). Há outros alimentos que fornecem quantidades menores de vitamina B₃, tais como, lentilha (2,61 mg / 100 g), coração de frango cru (3,39 mg / 100 g), arroz integral cru (4,18 mg / 100 g) e coração de porco cru (6,77 mg / 100 g), por exemplo (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2011; USDA, 2014).

Comparando-se as quantidades de niacina, presentes no pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, com os teores da mesma vitamina nos alimentos supracitados, pode-se afirmar que o valor médio regional de vitamina B₃ (5,31 mg / 100 g), equivale ao consumo de aproximadamente 200 g de lentilha, desconsideram-se as perdas dessa vitamina durante o preparo desse alimento.

Verificando-se as médias estaduais do teor de niacina, observou-se a existência de diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre estados do Paraná e Rio Grande do Sul, onde o último estado citado forneceu amostras pólen apícola com a maior média niacina em sua composição.

Tabela 14: Quantidade de vitamina B₆ obtida em amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil e a sua porcentagem da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para consumo, calculada na porção de 25 gramas desse produto.

Amostra	Piridoxamina (mg / 100 g)*	Piridoxal (mg / 100 g)*	Piridoxol (mg / 100 g)*	Vitamina B ₆ (mg / 100 g)	% IDR
PR 01	0,36 ± 0,03	0,42 ± 0,04	ALQ	0,78 ± 0,07	***15,00
PR 02	0,26 ± 0,02	1,48 ± 0,16	ALQ	1,74 ± 0,18	***33,49
PR 03	0,66 ± 0,02	4,73 ± 0,14	ALQ	5,40 ± 0,16	***103,85
PR 04	0,50 ± 0,06	5,14 ± 0,06	ALQ	5,64 ± 0,13	***108,52
PR 05	0,44 ± 0,01	2,63 ± 0,03	ALQ	3,07 ± 0,04	***59,04
PR 06	0,29 ± 0,05	1,12 ± 0,03	ALQ	1,41 ± 0,08	**27,17
Média estadual (n = 6)	0,40 ± 0,15b	2,06 ± 1,96a	-	2,41 ± 2,09b	-
SC 01	0,53 ± 0,01	2,97 ± 0,04	ALQ	3,50 ± 0,05	***67,31
SC 02	0,75 ± 0,12	2,28 ± 0,05	ALQ	3,03 ± 0,18	***58,27
SC 03	0,83 ± 0,02	1,82 ± 0,04	0,07 ± 0,00	2,72 ± 0,06	***52,34
SC 04	0,48 ± 0,06	4,12 ± 0,05	ALQ	4,59 ± 0,11	***88,29
SC 05	0,70 ± 0,01	4,88 ± 0,10	ALQ	5,58 ± 0,11	***107,31
Média estadual (n = 5)	0,70 ± 0,15a	2,97 ± 1,27a	-	3,50 ± 1,18ab	-
RS 01	0,43 ± 0,03	6,70 ± 0,30	ALQ	7,13 ± 0,33	***137,12
RS 02	0,50 ± 0,05	5,76 ± 1,44	ALQ	6,26 ± 1,49	***120,38
RS 03	0,40 ± 0,07	5,09 ± 1,41	ALQ	5,49 ± 1,47	***105,49
RS 04	0,46 ± 0,02	5,59 ± 0,43	ALQ	6,04 ± 0,45	***116,20
RS 05	0,48 ± 0,02	3,24 ± 0,20	ALQ	3,72 ± 0,22	***71,54
RS 06	0,65 ± 0,10	2,91 ± 0,21	ALQ	3,55 ± 0,31	***68,35
RS 07	0,52 ± 0,03	5,53 ± 0,10	ALQ	6,05 ± 0,13	***116,30
RS 08	0,74 ± 0,05	3,60 ± 0,16	ALQ	4,34 ± 0,21	***83,43
RS 09	0,63 ± 0,07	2,29 ± 0,02	ALQ	2,91 ± 0,09	***55,98
RS 10	0,73 ± 0,01	2,41 ± 0,01	ALQ	3,14 ± 0,03	***60,36
RS 11	0,95 ± 0,06	3,82 ± 0,14	ALQ	4,78 ± 0,20	***92,42
RS 12	0,51 ± 0,02	4,54 ± 0,63	0,11 ± 0,00	5,16 ± 0,65	***99,29
RS 13	0,55 ± 0,02	4,22 ± 0,30	0,11 ± 0,00	4,87 ± 0,32	***93,73
RS 14	0,49 ± 0,00	4,60 ± 0,12	0,09 ± 0,00	5,18 ± 0,12	***99,64
RS 15	0,49 ± 0,01	3,94 ± 0,15	0,10 ± 0,00	4,53 ± 0,16	***87,11
RS 16	0,53 ± 0,01	3,43 ± 0,10	0,11 ± 0,00	4,07 ± 0,11	***78,34
RS 17	0,50 ± 0,02	3,31 ± 0,21	0,13 ± 0,01	3,94 ± 0,24	***75,68
Média estadual (n = 17)	0,51 ± 0,14ab	3,94 ± 1,25a	-	4,78 ± 1,18a	-
Média da região (n = 28)	0,51 ± 0,16	3,71 ± 1,53	-	4,42 ± 1,54	-

Os valores apresentados na coluna referente à porcentagem de vitamina B₆, corresponde à soma dos valores quantificados para os vitâmeros piridoxamina, piridoxal e piridoxol.

*Média ± Desvio padrão (n=3).

**Amostra considerada fonte de vitamina B₆ de acordo com o descrito na Portaria nº 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

***Amostra considerada rica em vitamina B₆ de acordo com o descrito na Portaria nº 31 de 13 de janeiro de 1998 da SVS / MS.

ALQ = Valor abaixo do limite de quantificação.

Limite mínimo de quantificação: piridoxamina = 0,03 mg / 100 g; piridoxal = 0,04 mg / 100 g; piridoxol = 0,07 mg / 100 g.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

Em relação às concentrações de vitamina B₆, apenas os vitâmeros piridoxal (0,42 a 6,70 mg / 100 g) e piridoxamina (0,26 a 0,95 mg / 100 g) puderam ser quantificados em todos os lotes analisados, como descrito na **Tabela 14**. Arruda *et al.* (2013a) também expuseram essas dificuldades ao quantificar o vitâmero piridoxol em algumas de suas amostras, devido à pequena quantidade deste composto presente no pólen apícola e a sua rápida degradação.

Comparando-se as concentrações de vitamina B₆ no pólen apícola desidratado, respectivamente, das regiões Sudeste e Sul do país, observou-se variação entre 0,33 e 0,77 mg / 100 g e de 0,78 a 7,13 mg / 100 g desse alimento. Constatou-se, por meio dos resultados descritos que as amostras da região Sul apresentaram-se com teores mais elevados de piridoxina.

Verificando-se a média de piridoxina (4,42 mg / 100 g) na região Sul do Brasil, observou-se que foi superior às quantidades, dessa mesma vitamina, encontradas em alimentos descritos como fontes desse micronutriente, tais como o farelo de trigo (1,30 mg / 100 g), o fígado bovino cru (1,08 mg / 100 g) e a carne de frango crua (0,35 mg / 100 g) (BALL, 2004; SANT'ANA, 2003; USDA, 2014).

Ainda comparando-se o teor médio regional de vitamina B₆, presente no pólen apícola da região Sul do país, pode-se afirmar que o consumo de aproximadamente 100 g de fígado bovino, sem considerar as perdas de vitamina durante o cozimento, equivalem, aproximadamente, ao consumo de 25 g de pólen apícola desidratado.

Analisando as médias estaduais ($p < 0,05$), o estado do Rio Grande do Sul forneceu amostras com maiores quantidades de piridoxina do que o estado do Paraná, porém manteve-se com níveis estatisticamente iguais aos de Santa Catarina.

Quanto à porcentagem do IDR de piridoxina fornecida ao ser humano através do consumo de 25 g de pólen apícola desidratado, considerando-se as amostras deste estudo ($n = 28$), os valores observados são elevadíssimos de modo que algumas amostras suprem e superam a IDR (1,6 mg / dia), sendo observados percentuais que ultrapassam os 100 %.

Separando-se as amostras ($n = 28$) de acordo com a classificação de fonte ou rica em piridoxina (BRASIL, 1998), para fins de rotulagem nutricional, apenas 7 % delas, foram consideradas fontes e todas as demais (93 %) foram consideradas ricas nessa vitamina.

Outro produto da colmeia, que teve amostras obtidas de apicultores nacionais submetidas ao mesmo tipo de determinação de vitaminas executado neste estudo, foi a geleia real. Porém, de acordo com os autores as quantidades encontradas dessas vitaminas foram pequenas, indicando que este produto não era uma fonte importante de tiamina, riboflavina, niacina e piridoxina (MORESCHI e ALMEIDA-MURADIAN, 2009; PRESOTO, RIOS e ALMEIDA-MURADIAN, 2004) o que não pode ser dito do pólen apícola.

A partir dos resultados das análises de determinação de cada uma das vitaminas e respectivos vitâmeros, foi possível verificar que o pólen apícola é um alimento que deve ter o seu conteúdo nutricional avaliado de forma regional. Pois, comparando-se os resultados obtidos frente à literatura disponível que tenha analisado amostras de origem nacional, existiram diferenças no que diz respeito, principalmente, aos níveis das vitaminas B₃ e B₆, entre as composições de amostras de pólen apícola desidratado das regiões Sudeste e Sul do país.

Os resultados obtidos por meio das quantificações das vitaminas B₁, B₂ e vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆ trouxeram a possibilidade de agregação de valor comercial ao pólen apícola desidratado devido as suas presenças em quantidades consideráveis e abriram o leque de opções de alimentos para os consumidores, principalmente, os vegetarianos e aqueles que buscam incorporar em sua alimentação itens que completem uma dieta equilibrada.

5.2 Composição físico-química do pólen apícola desidratado

O conhecimento da composição nutricional do pólen apícola pode ser aplicado ao seu controle de qualidade, principalmente como um guia para a produção comercial (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005). Esse alimento além de vitaminas e flavonoides, possui em sua composição água, minerais, lipídeos, proteínas, fibras e carboidratos. As medidas de acidez e pH são indicadores de crescimento microbiológico e consequente deterioração desse produto.

Os resultados das análises físico-químicas de cada amostra (n = 28) foram expressos em base seca e estão descritos nas **Tabelas 15 e 16**. Para fins comparativos, consta na **Tabela 15** os valores preconizados nas legislações brasileira e argentina, ambos os países membros do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL).

O pólen apícola fresco possui em sua composição média entre 20 e 30 % de água. Este alto índice de umidade é ideal para o crescimento microbiológico, devendo-se tomar medidas para que não ocorra contaminação e mantenha-se a qualidade do produto (BOGDANOV, 2004).

É conveniente a realização da desidratação do pólen apícola e no Brasil existe regulamento específico que apresenta qual deve ser o valor máximo de umidade do pólen *in natura*, desidratado e a que temperatura deve ser realizada a desidratação desse produto (temperatura máximo de 42 °C) (BRASIL, 2001).

Porém, o pólen apícola, processado ou não, é altamente higroscópico, tornando a variável umidade dependente das condições ambientais do local de onde ele é coletado (MARCHINE, REIS e MORETI, 2006) e do sistema de embalagem empregado durante o armazenamento desse alimento (LENGLER, 1999).

Além disso, a maioria dos produtores de pólen apícola brasileiros pertencem a classe de agricultores familiares, cuja renda é complementada pela apicultura (FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL, 2010) o que os impossibilita de possuir equipamentos próprios para a realização de controle de qualidade, dentre eles a mensuração da umidade de seu produto antes e após o processamento.

Há ainda a questão do tempo necessário para remover a água desse alimento que também é depende do modelo tecnológico empregado nessa tarefa, seja utilizada a estufa ou métodos de desumidificação em circuito fechado a frio (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012).

Os teores de umidade, das amostras avaliadas neste estudo, variaram de 1,00 a 6,73 %. Desse total (n = 28), 46 % apresentaram-se em desacordo com a legislação brasileira que regulamenta o pólen apícola em relação ao teor de umidade desse produto previamente desidratado. Entre os três estados analisados, o Rio Grande do Sul apresentou a maior quantidade de amostras com teor de umidade em desacordo com a legislação, o que correspondeu a 59% do total de amostras (n = 17) coletadas somente nesse estado. Porém, não se pode afirmar que ocorreu diferença estatística significativa entre as médias de umidade em relação a cada estado que mantiveram-se abaixo do limite máximo de 4 % de umidade.

Avaliando-se as amostras da mesma região do país (n = 36), porém coletadas em anos anteriores, Carpes *et al.* (2009b) também verificaram elevados valores de umidade. Os estados que apresentaram os maiores valores de umidade foram o Paraná e o Rio Grande do Sul.

Morgano *et al.* (2011) num estudo sobre a determinação de umidade por Karl Fischer, analisaram amostras do país inteiro ($n = 154$), dentre elas, amostras do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul ($n = 49$). Foram descritas apenas as médias de umidade por estado, as quais estavam todas acima de 4 %.

Apesar dos resultados de ambas as pesquisas apontarem que a umidade do pólen apícola desidratado produzido na região Sul do Brasil apresentou-se irregular, frente a legislação brasileira vigente, em grande parte das amostras analisadas, não foi possível realizar comparações entre os dados porque os métodos de análise adotados por cada autor foram diferentes.

Carpes *et al.* (2009b) realizam a determinação em estufa à 60 °C até peso constante da amostra, Morgano *et al.* (2011) realizaram a análise de umidade em titulador Karl Fischer e o presente trabalho, mensurou a umidade por secagem sob radiação infravermelha. Melo e Almeida-Muradian (2011) testaram seis diferentes métodos aplicados na determinação de umidade e verificaram que aqueles que empregam o uso de calor, exceto a secagem por radiação infravermelha, geram resultados com valores maiores comparados aos outros métodos, sendo ideias para avaliação da umidade do pólen apícola as determinações por secagem por infravermelho e / ou liofilização das amostras.

Em amostra de pólen apícola desidratado das regiões Nordeste (Bahia, Ceará, Piauí e Sergipe, $n = 57$), Centro-Oeste (Distrito Federal, $n = 3$) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo, $n = 43$) do país, a umidade desse produto demonstrou-se igualmente elevada, de acordo com Morgano *et al.* (2011) que as avaliaram por um mesmo método analítico. Arruda *et al.* (2013b) e Melo *et al.* (2010) apesar de avaliarem amostras do mesmo município paulista (Pariquera-Açú) obtiveram valores de umidade diferentes, mas igualmente em acordo com a legislação brasileira. Cada autor determinou a umidade das amostras, respectivamente, por radiação infravermelha e liofilização.

Comparando-se os resultados obtidos neste estudo com a legislação argentina, todas as amostras poderiam ser comercializadas, pois estariam abaixo do limite de máximo de 8 % de umidade. Porém, diferente da legislação brasileira a argentina descreve em sua normativa qual deve ser a metodologia analítica empregada na avaliação do teor de umidade (estufa à vácuo à 65 °C).

Verificando-se a média de umidade do pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, o valor (3,76 %) manteve-se em acordo com a legislação vigente nacional.

Tabela 15: Análise centesimal das amostras de pólen apícola desidratado e comparação dos resultados obtidos com a legislação específica do Brasil (BRASIL, 2001) e da Argentina (ARGENTINA, 1990) representadas na tabela pelas letras **A** e **B**, respectivamente.

Amostra	Umidade (%)*	Cinzas (%)*	Lipídeos (%)*	Proteínas (%)*	Fibra alimentar total (%)*	Açúcares totais (%)**	Frutose (%)*	Glicose (%)*	Valor calórico (Kcal)***
PR 01	2,73 ± 0,24	1,79 ± 0,05	4,47 ± 0,61	17,13 ± 1,04	16,35 ± 1,15	58,61 ± 1,19	6,27 ± 0,47	8,29 ± 0,46	343 ± 4
PR 02	2,66 ± 0,11	1,05 ± 0,28	6,17 ± 0,29	15,19 ± 1,30	13,98 ± 0,28	61,67 ± 1,44	6,59 ± 0,50	8,48 ± 0,65	363 ± 3
PR 03	2,42 ± 0,27	1,96 ± 0,04	2,86 ± 0,19	15,76 ± 0,10	19,81 ± 0,73	57,34 ± 1,13	5,77 ± 0,25	6,59 ± 0,10	318 ± 6
PR 04	3,72 ± 0,10	2,31 ± 0,39	4,04 ± 0,97	22,43 ± 1,48	18,48 ± 0,93	50,04 ± 1,16	5,46 ± 0,25	8,12 ± 0,34	326 ± 7
PR 05	3,69 ± 0,13	1,60 ± 0,17	3,80 ± 0,47	19,51 ± 1,69	15,69 ± 0,37	55,83 ± 1,98	4,75 ± 0,20	5,71 ± 0,16	336 ± 5
PR 06	4,73 ± 0,08	1,59 ± 0,53	0,37 ± 0,01	13,28 ± 0,00	12,79 ± 0,29	67,66 ± 0,43	3,94 ± 0,59	4,96 ± 0,49	327 ± 2
Média estadual (n = 6)	3,21 ± 0,88a	1,70 ± 0,42a	3,92 ± 1,93a	16,45 ± 3,29b	16,02 ± 2,65a	57,98 ± 5,90a	5,62 ± 0,98a	7,36 ± 1,49a	332 ± 16
SC 01	3,37 ± 0,22	1,93 ± 0,41	3,54 ± 0,20	15,44 ± 0,48	19,08 ± 0,29	56,98 ± 0,75	5,24 ± 0,49	5,34 ± 0,40	322 ± 3
SC 02	1,55 ± 0,12	1,57 ± 0,12	1,11 ± 0,38	13,29 ± 0,27	15,15 ± 1,72	67,46 ± 1,37	5,64 ± 0,25	7,95 ± 0,32	333 ± 6
SC 03	1,00 ± 0,01	1,31 ± 0,12	0,91 ± 0,05	12,25 ± 0,31	14,40 ± 1,51	71,64 ± 0,78	5,11 ± 0,26	6,75 ± 0,34	344 ± 3
SC 04	5,10 ± 0,17	2,15 ± 0,12	1,89 ± 0,40	20,24 ± 0,21	15,98 ± 0,20	54,60 ± 0,27	6,12 ± 0,27	7,52 ± 0,32	316 ± 3
SC 05	6,73 ± 0,18	2,83 ± 0,09	14,00 ± 1,00	14,73 ± 0,63	18,07 ± 0,42	48,45 ± 0,28	4,58 ± 0,48	5,85 ± 0,42	309 ± 1
Média estadual (n = 5)	3,37 ± 2,40a	1,93 ± 0,58a	1,89 ± 5,53a	14,73 ± 3,08b	15,98 ± 1,98a	56,98 ± 9,52a	5,10 ± 1,31a	6,48 ± 1,71a	322 ± 14
RS 01	2,84 ± 0,24	2,20 ± 0,01	4,68 ± 0,44	22,99 ± 0,05	19,09 ± 0,98	48,12 ± 0,80	6,62 ± 0,02	7,97 ± 0,09	327 ± 4
RS 02	3,68 ± 0,07	2,71 ± 0,06	6,20 ± 0,44	24,46 ± 0,18	17,68 ± 1,04	44,81 ± 1,00	7,00 ± 0,25	8,50 ± 0,23	333 ± 3
RS 03	3,25 ± 0,22	2,24 ± 0,04	5,13 ± 0,90	20,90 ± 0,18	15,48 ± 1,01	53,60 ± 1,82	5,60 ± 0,53	6,76 ± 0,86	344 ± 6
RS 04	2,76 ± 0,28	2,66 ± 0,10	2,53 ± 0,06	23,23 ± 1,36	18,49 ± 0,39	51,24 ± 0,73	4,60 ± 0,62	5,96 ± 0,62	317 ± 2
RS 05	2,74 ± 0,12	2,41 ± 0,04	2,19 ± 0,18	22,36 ± 0,10	17,97 ± 1,99	51,34 ± 0,33	4,88 ± 0,23	5,64 ± 0,23	315 ± 1
RS 06	4,44 ± 0,07	2,54 ± 0,02	2,52 ± 0,58	26,76 ± 0,11	20,30 ± 0,54	43,64 ± 0,72	5,19 ± 0,15	6,78 ± 0,20	304 ± 4
RS 07	3,79 ± 0,16	2,16 ± 0,06	4,56 ± 0,32	20,59 ± 0,11	18,67 ± 0,20	50,36 ± 0,43	5,89 ± 0,41	7,83 ± 0,34	325 ± 1
RS 08	4,19 ± 0,24	1,56 ± 0,10	1,97 ± 0,06	21,57 ± 0,21	13,85 ± 0,60	56,81 ± 0,44	5,34 ± 0,30	7,29 ± 0,40	331 ± 2
RS 09	2,54 ± 0,11	2,42 ± 0,12	1,59 ± 0,10	24,95 ± 1,07	19,34 ± 0,26	48,60 ± 0,73	4,98 ± 0,06	6,38 ± 0,13	309 ± 1

(Continua)

Tabela 15 (Continuação)

Amostra	Umidade (%)*	Cinzas (%)*	Lípídeos (%)*	Proteínas (%)*	Fibra alimentar total (%)*	Açúcares totais (%)**	Frutose (%)*	Glicose (%)*	Valor calórico (Kcal)***
RS 10	5,33 ± 0,32	1,89 ± 0,07	4,56 ± 0,28	16,76 ± 0,76	16,73 ± 0,59	55,25 ± 0,82	5,34 ± 0,23	7,16 ± 0,25	329 ± 1
RS 11	4,28 ± 0,01	1,06 ± 0,39	2,58 ± 0,09	22,88 ± 0,20	15,55 ± 0,37	45,83 ± 0,44	4,43 ± 0,18	6,18 ± 0,29	368 ± 1
RS 12	5,42 ± 0,10	2,19 ± 0,05	7,42 ± 0,38	24,68 ± 0,60	15,84 ± 2,15	44,43 ± 1,77	5,11 ± 0,16	6,61 ± 0,21	343 ± 7
RS 13	5,73 ± 0,07	2,14 ± 0,03	7,33 ± 0,13	22,05 ± 0,14	17,75 ± 0,52	44,01 ± 0,46	5,10 ± 0,27	6,48 ± 0,79	330 ± 3
RS 14	5,51 ± 0,08	2,31 ± 0,02	4,53 ± 0,11	21,29 ± 0,11	16,91 ± 1,20	48,35 ± 0,56	4,18 ± 0,15	5,27 ± 0,14	319 ± 2
RS 15	5,32 ± 0,07	2,61 ± 0,35	7,24 ± 0,42	21,18 ± 0,22	19,40 ± 1,91	43,59 ± 2,80	3,44 ± 0,14	4,32 ± 0,16	324 ± 8
RS 16	5,76 ± 0,11	2,23 ± 0,03	8,41 ± 0,13	20,15 ± 0,34	19,63 ± 0,25	43,77 ± 0,16	6,86 ± 0,23	8,86 ± 0,28	331 ± 1
RS 17	5,61 ± 0,08	2,17 ± 0,01	5,47 ± 0,18	22,46 ± 0,67	17,67 ± 2,17	45,33 ± 1,48	5,52 ± 0,15	6,71 ± 0,10	320 ± 4
Média estadual (n = 17)	4,28 ± 1,19a	2,23 ± 0,41a	4,56 ± 2,16a	22,36 ± 2,26a	17,75 ± 1,75a	48,12 ± 4,30b	5,24 ± 0,70a	6,76 ± 0,91a	322 ± 14
Média da região (n = 28)	3,76 ± 1,42	2,17 ± 0,47	4,26 ± 2,86	21,04 ± 3,98	17,68 ± 2,03	50,80 ± 7,78	5,29 ± 0,86	6,73 ± 1,18	327 ± 15
A	Máximo 4	Máximo 4	Mínimo 1,8	Mínimo 8	Mínimo 2,0	Entre 14,5 e 55,0	-	-	-
B	Máximo 8	Máximo 4	-	Entre 15 e 28	-	Entre 45,0 e 55,0	-	-	-

*Média ± Desvio padrão (n=3).

**Valor calculado por diferença.

***O valor calórico foi calculado considerando-se que proteína, carboidrato e gordura equivalem, respectivamente, à 4, 4 e 9 Kcal / g.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

O índice de cinzas é um forte indicativo da presença de sujidades provenientes de contaminantes inorgânicos, tais como terra, areia, fuligem ou metais que acidentalmente possam ter soltado de partes enferrujadas pertencentes à colmeia (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012).

O conteúdo total de cinzas variou, nas amostras analisadas, entre 1,05 % e 2,83 %, atendendo ao limite máximo, estabelecido de 4 %, nas legislações brasileira e argentina. A média regional para esse parâmetro apresentou-se semelhante aos valores reportados por Almeida-Muradian *et al.* (2005), Arruda *et al.* (2013b), Carpes *et al.* (2009b), Marchini, Reis e Moreti (2006), Martins *et al.* (2011) e Melo *et al.* (2010) descritos a seguir respectivamente: 2,4%, 3,0%, 2,9%, 2,9%, 2,6% e 3,1%.

A variação observada nos resultados das análises de lipídeos foi de 0,37 a 14,00%. Quatro amostras de pólen apícola desidratado (PR06, SC02, SC03 e RS09) mostraram-se abaixo do limite mínimo estabelecido pela legislação nacional (BRASIL, 2001).

O atendimento do limite mínimo para a quantidade de lipídeos no pólen apícola é importante, pois quando esse alimento tem a sua vida de prateleira estendida por mais de 8 meses, processos de oxidação lipídica podem ocorrer, ocasionando a degradação sensorial e nutricional desse produto (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012).

Porém, esse não foi o caso observado nas amostras supracitadas e em desacordo com a legislação, pois as mesmas foram recolhidas, secas e analisadas num espaço de tempo menor que 8 meses. Pode-se então justificar os baixos percentuais de lipídeos devido à variabilidade da composição das plantas fornecedoras de pólen às abelhas e também em função das próprias necessidades nutricionais da colmeia (MARCHINI, REIS e MORETI, 2006).

Mas, tomando-se por base o valor médio regional de lipídeos (4,26 %) no pólen apícola desidratado do Sul do Brasil, o produto estaria em acordo com a legislação. Comparando ainda com o valor obtido por Carpes *et al.* (2009b), os percentuais foram semelhantes (respectivamente, 4,26 % e 4,90 %). Martins *et al.* (2011) apresentaram em seus resultados as médias por estado as quais apresentaram-se maiores que as obtidas nesse trabalho. Bastos *et al.* (2003), observaram em amostras comerciais dos estados de São Paulo e Minas Gerais, variação entre 6,10 e 14,00 % em seus teores de lipídeos.

O conhecimento do teor de proteínas é importante para que haja consciência do potencial nutricional do pólen apícola como bom fornecedor desse nutriente e também para possibilitar a promoção do controle de qualidade desse alimento, já que o conteúdo de proteínas pode ser utilizado como indicativo das condições de processamento e estocagem (SERRA-BONVEHÍ *et al.*, 1986). A exposição excessiva ao sol e a altas temperaturas durante o processamento, além da manipulação incorreta do pólen apícola, ocasionam a degradação proteica dessa alimento (ALMEIDA-MURADIAN, ARRUDA e BARRETO, 2012).

As amostras analisadas no presente trabalho, apresentaram-se com teores de proteínas de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2001) e variaram entre 12,25 % e 26,76 %. Quatro amostras (PR06, SC02, SC03 e SC05) apresentaram-se fora do parâmetro preconizado para teor de proteínas da legislação argentina (ARGENTINA, 1990). Os valores obtidos neste estudo foram semelhantes aos reportados por Carpes *et al.* (2009b).

A fibra alimentar é a parte dos alimentos que não é digerida pelas enzimas presentes no trato gastrointestinal humano. Porém, a sua presença é muito bem vinda, nos alimentos já que tem sido relacionada à prevenção de enfermidades como a obesidade, a diabetes e os problemas cardiovasculares (DERIVI e MENDEZ, 2001; MEYER *et al.*, 2000; PARK e ARAYA, 2001).

Poucos autores que possuem trabalhos referentes à composição centesimal do pólen apícola, mensuram a quantidade de fibra alimentar em suas amostras. Em relação ao teor de fibras totais, das amostras deste estudo, os percentuais variaram entre 12,79 e 20,30 %. Na mesma região, amostras anteriormente analisadas, não apresentaram valores para fibra alimentar superiores à 4,9 % (CARPES *et al.*, 2009b).

Sampaio e Freitas (1993), relataram que nas 3 amostras analisadas, coletadas no estado do Paraná, verificou-se a fibra bruta do pão de abelha (pólen apícola *in natura* armazenado na colmeia e fermentado pelas abelhas, sendo utilizado posteriormente na sua própria alimentação), entre 1,58 a 3,61 %.

No município de Botucatu (SP), amostras mensais (entre agosto e novembro de 1996) de 6 colmeias de abelhas foram avaliadas, objetivando-se verificar alterações sazonais na composição do pólen apícola recém coletado. As quantidades de fibra bruta presentes nessas amostras, variaram entre 0,49 e 1,67 % (FUNARI *et al.*, 2003).

Os açúcares totais, de acordo com a **Tabela 15** apresentaram-se entre 43,59 e 71,64 %. Os valores observados neste estudo foram bem próximos aos observados por Carpes *et al.* (2009b) e Modro *et al.* (2007) que apresentaram, respectivamente, faixas de variação de 41,10 a 60,40 % e entre 54,43 e 77,22 %. Já os resultados obtidos por Marchini, Funari e Reis (2006), referentes às amostras (n = 13) de Piracicaba (SP), demonstraram-se variando entre 13,20 e 36,00 %, sendo esses valores menores do que os observados neste estudo.

As médias estaduais das quantidades de açúcares totais presentes nas amostras, diferiram significativamente ($p < 0,05$), onde a média do Rio Grande do Sul foi menor em relação à dos outros estados.

Quanto aos açúcares redutores (frutose e glicose), os seus resultados variaram de 3,44 a 7,00 % para frutose e entre 4,32 a 8,86 % para glicose. Comparando-se as médias estaduais dessas duas variáveis, com as apresentados por Martins *et al.* (2011), as médias dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul foram menores no presente trabalho.

O conhecimento da composição dos alimentos produzidos nas diferentes regiões do Brasil possibilita o estabelecimento de orientações nutricionais, baseadas na diversidade da alimentação de comunidades locais, que podem conduzi-las à manutenção de uma dieta saudável. Ao mesmo tempo, os dados de composição dos alimentos podem orientar na determinação de ações na produção agrícola e industrial do país, além de serem necessárias na elaboração de rotulagens nutricionais (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2011).

Com base no Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional (BRASIL, 2003) e nos dados de composição físico-química do pólen apícola desidratado, obtidos no presente trabalho, elaborou-se a rotulagem nutricional genérica desse alimento.

Na **Tabela 16**, consta a média da região Sul para o valor energético, carboidratos (açúcares totais), proteínas, gorduras totais (lipídeos), fibra alimentar e vitaminas B₁, B₂, B₃ e B₆.

Observando-se a essa tabela, torna-se visível que o pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, fornece por meio do consumo da porção de 25 g, percentuais interessantes de fibra alimentar, vitamina B₁ e vitamina B₂. Quanto à vitamina B₆, o valor diário de referência é completamente suprido.

Tabela 16: Tabela de informação nutricional elaborada a partir de dados de composição físico-química de amostras pólen apícola desidratado produzidas na região Sul do Brasil.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL Porção de 25 g (2 colheres de sopa)		
Quantidade por porção		%VD(*)
Valor energético	82 Kcal / 342 Kj	4 %
Carboidratos	12,7 g	4 %
Proteínas	5,3 g	7 %
Gorduras totais	1,1 g	2 %
Gorduras saturadas	ND	-
Gorduras trans	ND	-
Fibra Alimentar	4,4 g	18 %
Sódio	ND	-
Vitamina B ₁	0,2 mg	16 %
Vitamina B ₂	0,2 mg	17 %
Vitamina B ₃	1,3 mg	100 %
Vitamina B ₆	1,1 mg	7 %

(*) Valores Diários de Referência com base em uma dieta de 2.000 Kcal ou 8.400 KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.
 ND = Valor não determinado.

Na **Tabela 17** foram descritos os resultados de acidez livre e pH das amostras da região Sul do país. De acordo com a Instrução Normativa nº 03 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, os limites máximos para as medidas de acidez livre e pH foram, respectivamente, de 300 mEq / Kg de pólen apícola e entre 4 e 6.

Martins *et al* (2011) observaram que as médias para o teor de acidez dos estados do Paraná (292 mEq / kg), Santa Catarina (264 mEq / Kg) e Rio Grande do Sul (263 mEq / Kg), apresentaram-se elevadas, porém dentro do limite estipulado pela legislação. No presente estudo a variação dos resultados das análises desse parâmetro manteve-se entre 220 e 665 mEq / Kg de pólen apícola desidratado e nenhuma das médias estaduais atenderam à legislação brasileira.

O pH de todas as amostras se apresentou de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2001). A variação ficou entre 4,06 e 5,73, estando semelhantes aos valores informados por Marchini, Reis e Moreti (2006) que avaliaram o pólen apícola desidratado de Piracicaba (SP).

Tabela 17: Valores de Acidez livre e pH verificados em amostras de pólen apícola da região Sul do Brasil.

Amostra	Acidez livre (mEq/Kg)*	pH*
PR 01	353 ± 5	5,41 ± 0,00
PR 02	280 ± 6	4,62 ± 0,02
PR 03	504 ± 10	5,36 ± 0,04
PR 04	337 ± 1	5,73 ± 0,01
PR 05	455 ± 17	4,43 ± 0,00
PR 06	529 ± 6	4,11 ± 0,01
Média estadual (n = 6)	404 ± 101a	4,99 ± 0,64a
SC 01	428 ± 7	4,40 ± 0,01
SC 02	665 ± 18	4,97 ± 0,01
SC 03	340 ± 5	4,52 ± 0,02
SC 04	220 ± 5	5,10 ± 0,02
SC 05	290 ± 11	5,11 ± 0,01
Média estadual (n = 5)	340 ± 172a	4,97 ± 0,34a
RS 01	521 ± 5	5,30 ± 0,02
RS 02	359 ± 6	5,05 ± 0,01
RS 03	273 ± 6	5,00 ± 0,01
RS 04	293 ± 5	5,05 ± 0,01
RS 05	290 ± 6	4,25 ± 0,01
RS 06	244 ± 6	5,30 ± 0,01
RS 07	320 ± 6	5,18 ± 0,03
RS 08	401 ± 11	4,77 ± 0,01
RS 09	379 ± 6	5,42 ± 0,05
RS 10	495 ± 1	4,67 ± 0,01
RS 11	383 ± 0	4,92 ± 0,02
RS 12	356 ± 9	4,51 ± 0,01
RS 13	468 ± 6	4,61 ± 0,01
RS 14	261 ± 5	4,06 ± 0,02
RS 15	224 ± 6	4,69 ± 0,01
RS 16	344 ± 5	4,43 ± 0,02
RS 17	330 ± 5	4,55 ± 0,01
Média estadual (n = 17)	344 ± 86a	4,77 ± 0,40a
Média da região (n = 28)	348 ± 106	4,85 ± 0,43

*Média ± Desvio padrão (n=3).

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não apresentaram-se com diferença estatística significativa entre si (p < 0,05).

5.3 Análise polínica

Muitos trabalhos têm sido realizados, em diferentes regiões brasileiras com o intuito de identificar quais são as plantas utilizadas como fontes de recursos para manter a sobrevivência das abelhas (CARVALHO, 1999).

A flora apícola ideal seria a que fornecesse grande quantidade de néctar e pólen às abelhas. Porém, o que se observa é que o potencial apícola é diferente comparando-se as regiões do país (ALMEIDA *et al.*, 2003).

Foram identificados, no presente trabalho, 37 tipos polínicos explorados pelas abelhas para obtenção de pólen apícola. A **Tabela 18**, informa quais foram esse tipos polínicos, bem como a quantidade de vezes em que cada um foi visualizado dentre as 28 amostras de pólen apícola desidratado avaliadas.

Tabela 18: Frequência de aparecimento e percentual da frequência por estado da região Sul do Brasil de tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado.

Tipos polínicos	Nomes populares	FG	% PR	% SC	% RS
<i>Ambrosia</i>	Ambrósia	1	0,0	0,0	100,0
<i>Andira</i>	Angelim de campo	1	0,0	100,0	0,0
<i>Asteraceae</i>	*	4	0,0	25,0	75,0
<i>Baccharis</i>	Alecrim-do-campo	1	0,0	0,0	100,0
<i>Borreria</i>	Vassourinha de botão	1	0,0	0,0	100,0
<i>Brassica napus</i>	Canola	5	20,0	20,0	60,0
<i>Caesalpineaceae</i>	*	1	0,0	0,0	100,0
<i>Caryca</i>	Mamão	1	0,0	0,0	100,0
<i>Celtis</i>	Esporão de gato	1	100,0	0,0	0,0
<i>Crotalaria</i>	Crotalária	1	100,0	0,0	0,0
<i>Dalbergia</i>	Rabo-de-bugio	1	0,0	0,0	100,0
<i>Eucalyptus</i>	Eucalipto	18	33,3	16,7	50,0
<i>Eupatorium</i>	Vassourão	5	0,0	40,0	60,0
<i>Eugenia</i>	Pitanga	1	0,0	100,0	0,0
<i>Euterpe</i>	Palmito doce	4	25,0	25,0	50,0
<i>Ilex</i>	Erva-mate	8	37,5	25,0	37,5
<i>Lamanonia</i>	Guaraperê	1	0,0	0,0	100,0
<i>Lithraea</i>	Aroeira-brava	2	0,0	50,0	50,0
<i>Machaerium</i>	Bico de pato	9	44,4	22,2	33,3
<i>Psycotria</i>	Chacrona	1	0,0	0,0	100,0

(Continua)

Tabela 18 (Continuação)

Tipos polínicos	Nomes populares	FG	% PR	% SC	% RS
<i>Mimosa scabrella</i>	Bracatinga	5	0,0	0,0	100,0
Melastomataceae	*	2	0,0	0,0	100,0
<i>Montanoa</i>	Margarida	1	0,0	100,0	0,0
<i>Myrcia</i>	Guamirim de folha fina	1	0,0	0,0	100,0
<i>Phoradendron</i>	Erva-de-passarinho	1	100,0	0,0	0,0
<i>Phrygilanthus</i>	Erva-de-passarinho	1	0,0	0,0	100,0
<i>Piper</i>	Jaborandi	3	0,0	33,3	66,7
<i>Piptocarpha</i>	Vassourão	1	100,0	0,0	0,0
Poaceae	*	3	0,0	0,0	100,0
<i>Podocarpus</i>	Pinheiro de buda	1	0,0	0,0	100,0
<i>Protium</i>	Almecegueira	1	0,0	0,0	100,0
Rosaceae	*	1	100,0	0,0	0,0
Rubiaceae	*	1	0,0	0,0	100,0
<i>Senecio</i>	Banana-de-macaco	2	50,0	50,0	0,0
<i>Tapirira</i>	Copiúva	1	0,0	0,0	100,0
<i>Vernonia</i>	Cambarazinho	2	0,0	50,0	50,0
Indeterminado	-	2	0,0	50,0	50,0

*Foi determinada pela análise polínica apenas a família da planta doadora do tipo polínico.

FG = frequência geral de aparecimento de determinado tipo polínico; % PR = percentual da frequência geral de determinado tipo polínico que tenha aparecido em amostras procedentes do estado do Paraná; % SC = percentual da frequência geral de determinado tipo polínico que tenha aparecido em amostras procedentes do estado de Santa Catarina; % RS = percentual da frequência geral de determinado tipo polínico que tenha aparecido em amostras procedentes do estado do Rio Grande do Sul.

A partir da determinação dos tipos polínicos por meio de visualização das lamínas preparadas com cada amostra e comparação com padrões diversos de tipos polínicos, como exemplificado na **Figura 26**, pode-se verificar que a composição floral das amostras de pólen apícola da região Sul do país foi bem diversificada.

Figura 26: Imagens de tipos polínicos, visualizados em microscópio, no pólen apícola durante a realização de análise. (A) Asteraceae, (E) *Eucalyptus*, (B) *Brassica*, (Ba) *Baccharis* e (P) Poaceae.

Fonte: Dra. Ortrud Monika Barth Schatzmayr na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Observando-se os percentuais de frequência estadual para cada tipo polínico, pode-se dizer que apenas *Brassica napus*, *Eucalyptus*, *Euterpe*, *Ilex* e *Machaerium* estiveram presentes nas amostras dos três estados da região Sul do Brasil. Os demais tipos polínicos raramente apresentaram-se em mais de dois estados, estando a maioria deles distribuídos em amostras procedentes de apiários do estado do Rio Grande do Sul.

Para facilitar a visualização e entendimento dos resultados das análises polínicas, eles foram separados em tabelas por estado de origem das amostras.

Na **Tabela 19**, podemos verificar que 11 tipos polínicos de diferentes espécies de plantas contribuíram na composição do pólen apícola do Paraná (n = 6). O tipo polínico *Eucalyptus* esteve presente em 100% das amostras, porém apresentou-se como PP apenas na PR05, proveniente do município de Lapa.

O tipo polínico *Machaerium* apresentou-se como PP em 3 das 4 amostras onde foi identificado. Isso é justificável pela origem geográfica das amostras, pois foram coletadas na mesma cidade e mês. A amostra PR02, também procedente de União da Vitória e coletada em novembro de 2011, diferente das outras, apresentou-se com PP do gênero *Piptocarpha*.

Tabela 19: Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado do Paraná, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.

Tipos polínicos (%)	Amostras					
	PR01	PR02	PR03	PR04	PR05	PR06
<i>Brassica napus</i>	-	-	-	-	6 (PII)	-
<i>Celtis</i>	-	-	-	-	-	22,6 (PA)
<i>Crotalaria</i>	-	13,6 (PII)	-	-	-	-
<i>Eucalyptus</i>	26,9 (PA)	9 (PII)	14,6 (PII)	21,8 (PA)	83,9 (PP)	13 (PII)
<i>Euterpe</i>	-	-	-	-	-	38 (PA)
<i>Ilex</i>	-	-	7,4 (PII)	7,1 (PII)	-	23,9 (PA)
<i>Machaerium</i>	49,9 (PP)	-	62,1 (PP)	65,8 (PP)	5,1 (PII)	-
<i>Phoradendron</i>	5,8 (PII)	-	-	-	-	-
<i>Piptocarpha</i>	-	72 (PP)	-	-	-	-
<i>Rosaceae</i>	-	-	5,6 (PII)	-	-	-
<i>Senecio</i>	13,4 (PII)	-	-	-	-	-

PP = pólen dominante (mais de 45%), PA = pólen acessório (de 15 a 45%), PII= pólen isolado importante (de 3 a 15%).

Santa Catarina apresentou-se com 14 tipos polínicos diferentes contribuintes para a formação das amostras coletadas ($n = 5$) em apiários instalados nesse estado. Os tipos polínicos *Andira*, *Brassica napus* e *Eupatorium* apareceram como PP nas amostras dessa área. Aparentemente, não há predominância de uma única espécie de planta explorada pelas abelhas nos apiários desse estado. Na **Tabela 20**, foram apresentados os resultados da análise polínica das amostras de pólen apícola dessa localidade.

Tabela 20: Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado de Santa Catarina, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.

Tipos polínicos (%)	Amostras				
	SC01	SC02	SC03	SC04	SC05
<i>Andira</i>	-	-	98,5 (PP)	-	-
<i>Asteraceae</i>	-	-	-	-	15,8 (PA)
<i>Brassica</i>	-	-	-	-	77,3 (PP)
<i>Eucalyptus</i>	15 (PII)	22,2 (PA)	-	-	6,3 (PII)
<i>Eupatorium</i>	16,1 (PA)	-	-	58,1 (PP)	-
<i>Eugenia</i>	-	-	-	12,4 (PII)	-
<i>Euterpe</i>	32,6 (PA)	-	-	-	-
<i>Ilex</i>	4,5 (PII)	-	-	7,4 (PII)	-
<i>Lithraea</i>	-	31,8 (PA)	-	-	-
<i>Machaerium</i>	10,2 (PII)	-	-	9,8 (PII)	-
<i>Montanoa</i>	-	21,2 (PA)	-	-	-
<i>Piper</i>	14,7 (PII)	-	-	-	-
<i>Senecio</i>	3,9 (PII)	-	-	-	-
<i>Vernonia</i>	-	-	-	6,3 (PII)	-
Indeterminado	-	17 (PA)	-	-	-

PP = pólen dominante (mais de 45%), PA = pólen acessório (de 15 a 45%), PII= pólen isolado importante (de 3 a 15%).

Nas amostras de pólen apícola procedentes do estado do Rio Grande do Sul ($n = 17$), foram identificados 28 tipos polínicos diferentes. Apesar de sua diversidade, a maioria dos tipos polínicos apresentou-se com baixos percentuais, como demonstrados na **Tabela 21**, sendo classificados como Pólen Importante Isolado (PII), na composição das amostras.

Verificou-se que *Brassica napus*, *Caesalpineaceae* e *Mimosa scabrela* aparecem como PP nas amostras desse estado. O tipo polínico *Eucalyptus* mostrou-se com a maior frequência dentre todos.

Tabela 21: Tipos polínicos identificados em amostras de pólen apícola desidratado, procedentes de apiários instalados no estado do Rio Grande do Sul, bem como a classificação dos tipos polínicos de acordo com o seu percentual de presença por amostra.

Tipos polínicos (%)	Amostras																	
	RS01		RS02		RS03		RS04		RS05		RS06		RS07		RS08		RS09	
Ambrosia	-		-		-		-		-		-		-		35,5	(PA)	-	
Brassica napus	80,5	(PP)	84,6	(PP)	48,5	(PP)	-		-		-		-		-		-	
Caesalpineaceae	-		-		-		56,1	(PP)	-		-		-		-		-	
Caryca	-		-		13,3	(PII)	-		-		-		-		-		-	
Dalbergia	-		-		-		-		16,4	(PA)	-		-		-		-	
Eucalyptus	19,4	(PA)	9,2	(PII)	16,4	(PA)	32,3	(PA)	70,6	(PP)	-		-		-		20,9	(PA)
Eupatorium	-		-		-		-		-		-		6,4	(PII)	61,2	(PP)	-	
Euterpe	-		-		-		-		-		-		-		-		10,1	(PII)
Ilex	-		-		-		-		-		-		42	(PA)	-		-	
Lithraea	-		-		-		-		10,5	(PII)	-		-		-		-	
Machaerium	-		5,2	(PII)	16,6	(PA)	-		-		-		-		-		-	
Psycotria	-		-		4,7	(PII)	-		-		-		-		-		-	
Mimosa scabrella	-		-		-		-		-		99,2	(PP)	43,7	(PA)	-		-	
Melastomataceae	-		-		-		-		-		-		-		-		25,6	(PA)
Piper	-		-		-		-		-		-		-		-		6,3	(PII)
Poaceae	-		-		-		-		-		-		-		-		31,4	(PA)

(Continua)

Tabela 21 (Continuação)

Tipos polínicos (%)	Amostras															
	RS10		RS11		RS12		RS13		RS14		RS15		RS16		RS17	
Asteraceae	4,8	(PII)	-		-		-		-		20,5	(PA)	3	(PII)	-	
Baccharis	-		-		-		-		4,7	(PII)	-		-		-	
Borreria	5,3	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Eucalyptus	21,8	(PA)	-		-		-		-		-		75,7	(PP)	69,8	(PP)
Eupatorium	-		-		-		-		-		-		-		29,2	(PA)
Euterpe	16	(PA)	-		-		-		-		-		-		-	
Ilex	-		-		-		-		7,1	(PII)	71,8	(PP)	4,5	(PII)	-	
Lamanonia	-		-		-		-		-		-		15	(PII)	-	
Machaerium	13,1	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Mimosa scabrella	-		-		81,6	(PP)	94,8	(PP)	86	(PP)	-		-		-	
Melastomataceae	-		40,2	(PA)	-		-		-		-		-		-	
Myrcia	-		32,7	(PA)	-		-		-		-		-		-	
Phrygilanthus	3,5	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Piper	-		22,9	(PA)	-		-		-		-		-		-	
Poaceae	-		-		5,8	(PII)	-		-		7,3	(PII)	-		-	
Podocarpus	-		-		-		-		-		3,8	(PII)	-		-	
Protium	4,4	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Rubiaceae	12,3	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Tapirira	3,8	(PII)	-		-		-		-		-		-		-	
Vernonia	-		-		5,8	(PII)	-		-		-		-		-	
Indeterminado	-		-		3,7	(PII)	-		-		-		-		-	

PP = pólen dominante (mais de 45%), PA = pólen acessório (de 15 a 45%), PII= pólen isolado importante (de 3 a 15%).

5.3.1 Classificação das amostras de pólen apícola desidratado e origem presumida pelos apicultores

A partir dos resultados da análise polínica, considerando-se os percentuais da composição polínica e a classificação deles em PP, PA e PII, nas amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, dividiu-se as em duas classes: monoflorais ou poliflorais, apresentando-se os resultados na **Tabela 22**.

Tabela 22: Origem presumida pelos apicultores do pólen apícola produzido por eles. Além de classificação das amostras em monoflorais e poliflorais segundo as informações dos produtores e por meio da confirmação pelos resultados da análise polínica.

Amostras	Origem floral presumida pelo produtor	Classificação do pólen apícola segundo o apicultor	Classificação do pólen segundo a análise polínica
PR 01	Maria mole	Monofloral	Polifloral
PR 02	Vassourão	Monofloral	Monofloral de <i>Piptocarpha</i> (Vassourão)
PR 03	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Machaerium</i> (Bico de pato)
PR 04	Polifloral	Polifloral	Polifloral
PR 05	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Eucalyptus</i> (Eucalipto)
PR 06	Polifloral	Polifloral	Polifloral
SC 01	NI	-	Polifloral
SC 02	NI	-	Polifloral
SC 03	NI	-	Polifloral
SC 04	NI	-	Monofloral de <i>Eupatorium</i> (Vassourão)
SC 05	Polifloral	Polifloral	Polifloral
RS 01	Camboatá	Monofloral	Polifloral
RS 02	Canola	Monofloral	Monofloral de <i>Brassica napus</i> (Canola)
RS 03	Canola e Nabo	Polifloral	Polifloral
RS 04	Espinilho	Monofloral	Polifloral
RS 05	Polifloral	Polifloral	Polifloral
RS 06	Cambará	Monofloral	Monofloral de <i>Mimosa scabrela</i> (Bracatinga)
RS 07	Cambará	Monofloral	Polifloral
RS 08	Timbó	Monofloral	Polifloral
RS 09	Polifloral	Polifloral	Polifloral
RS 10	Polifloral	Polifloral	Polifloral
RS 11	Polifloral	Polifloral	Polifloral
RS 12	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Mimosa scabrela</i> (Bracatinga)
RS 13	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Mimosa scabrela</i> (Bracatinga)
RS 14	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Mimosa scabrela</i> (Bracatinga)
RS 15	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Ilex</i> (Erva-mate)
RS 16	Polifloral	Polifloral	Monofloral de <i>Eucalyptus</i> (Eucalipto)
RS 17	Polifloral	Polifloral	Polifloral

NI = Não informado pelo apicultor.

As amostras que se apresentassem com 90 % ou mais de um mesmo tipo polínico ou à partir de 60% de um mesmo tipo polínico sem apresentar PA, foram classificadas como monoflorais. Aquelas que não se enquadraram em nenhum desses dois parâmetros foram nomeadas poliflorais.

Em relação ao conhecimento dos apicultores sobre a origem floral do pólen apícola que produzem, 14,3 % não forneceram essa informação (n = 4), 32,1 % informaram (n = 9) por meio dos nomes populares de plantas existentes na região onde seus apiários estão instalados e 53,6 % afirmaram (n = 15) que seu pólen apícola era polifloral, mas sem especificar a origem botânica.

Num índice geral, excluindo-se as amostras as quais não foi fornecida informação sobre a sua origem botânica (n = 4), 58 % das amostras foram classificadas por seus produtores de forma errônea.

De acordo com a análise polínica 11 amostras das 28 analisadas foram consideradas monoflorais de determinados tipos polínicos, descritos na **Tabela 22**. Os tipos polínicos *Mimosa scabrella* e *Eucalyptus* foram os que apresentaram-se dominantes em um maior número de amostras monoflorais e devem ser estudados no futuro de forma isolada para conhecimento aprofundado de seus perfis nutricionais.

5.4 Correlação entre os tipos polínicos e os resultados das análises de composição físico-química do pólen apícola desidratado

Após a obtenção dos dados das análises físico-químicas e palinológicas, examinou-se a existência de correlação entre os resultados das determinações de vitaminas e análise centesimal com os dados da análise polínica, calculando-se o Coeficiente de Correlação de Pearson para o grupo de dados paramétricos e no conjunto de dados não paramétricos, calculou-se o Coeficiente de Correlação de Spearman. As correlações estabelecidas foram descritas na **Tabela 23**.

Tabela 23: Coeficientes de correlação estabelecidos entre os tipos polínicos e os parâmetros físico-químicos determinados nas amostras de pólen apícola desidratado de apiários da região Sul do Brasil.

Parâmetros físico-químicos	Tipos polínicos						
	<i>Asteraceae</i>	<i>Brassica napus</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>Euterpe</i>	<i>Machaerium</i>	<i>Piper</i>	<i>Poacea</i>
Umidade	$r = 0,498^{**}$ ($p < 0,01$)						
Lipídeos	$r = 0,485^{**}$ ($p < 0,01$)						
Frutose	$r = -0,388^{**}$ ($p < 0,05$)						
Glicose	$r = 1,000^*$ ($p < 0,05$)						
pH	$r = -0,955^*$ $r = 0,784^*$ $r = 0,998^*$ ($p < 0,05$) ($p < 0,05$) ($p < 0,05$)						
Vitamina B ₂	$r = -0,551^*$ ($p < 0,05$)						
Vitamina B ₃	$r = 0,406^{**}$ ($p < 0,05$)						
Ácido nicotínico	$r = 0,998^*$ ($p < 0,05$)						
Vitamina B ₆	$r = 0,483^{**}$ ($p < 0,01$)						
Piridoxal	$r = 0,496^{**}$ ($p < 0,01$)						

Dados apresentados como correlação (valor de p) = $r(p)$

*Valores de Coeficiente de Correlação de Pearson.

**Valores de Coeficiente de Correlação de Spearman.

A correlação direta média estabelecida entre o tipo polínico *Asteraceae* e a umidade do pólen apícola desidratado, deveu-se às amostras SC05 (umidade = 6,73 %), RS10 (umidade = 5,33 %), RS15 (umidade = 5,32 %) e RS16 (umidade = 5,76 %) que possuem em sua composição esse tipo polínico.

A correlação direta média estabelecida entre o mesmo tipo polínico e os lipídeos das amostras foi o resultado, principalmente da presença do tipo polínico *Asteraceae* na amostra SC05, com percentual lipídico de 14 %, bem acima do verificado em outras amostras do grupo amostral. Este tipo polínico possui, ainda correlação direta média com o teor total de vitamina B₃, onde as amostras SC05 (7,74 mg / 100 g), RS10 (6,50 mg / 100 g), RS15 (6,44 mg / 100 g) e RS16 (4,99 mg / 100 g), destacaram-se com valores elevados de niacina.

O tipo polínico *Brassica napus*, estabeleceu correlações diretas médias com a vitamina B₆ e seu vitâmero piridoxal. O piridoxal foi o vitâmero da vitamina B₆ que

mais contribuiu para o cálculo do teor total de piridoxina. Nas amostras RS01, RS02, RS03 e S05, este tipo polínico (*Brassica napus*), apresentou-se como PP e na amostra PR05 como PII. Os valores para vitamina B₆ foram maiores nas amostras onde esse tipo polínico teve a seu percentual maior demonstrando a sua correlação com essa vitamina.

O tipo polínico *Eucalipytus*, correlacionou-se com força média e de modo inverso aos conteúdos de frutose e vitamina B₂ nas amostras onde foi identificado.

Os tipos polínicos *Euterpe* e *Poaceae* apresentaram correlação direta fortíssima com o pH determinado nas amostras onde estiveram presentes.

O tipo polínico *Machaerium* também demonstrou correlação com este parâmetro, porém num nível menos acentuado. Apesar da baixa frequência em que aparece dentre as amostras analisadas (n = 28), o tipo polínico *Piper* demonstrou correlação direta perfeita com a glicose, presente nas 3 amostras onde foi identificado.

Retomando as correlações estabelecidas pelo tipo polínico *Poaceae*, demonstrou-se correlacionado de forma direta e fortíssima com o ácido nicotínico, um dos vitâmeros da vitamina B₃.

6 CONCLUSÕES

Todas as amostras de pólen apícola desidratado da região Sul do Brasil, analisadas neste estudo, possuem em sua composição as vitaminas do complexo B (vitaminas B₁, B₂ e os vitâmeros das vitaminas B₃ e B₆), porém em quantidades variadas, mas que na maioria dos casos possibilitaram que esse alimento fosse classificado, para fins de rotulagem nutricional e valorização comercial, desse produto, como fontes ou ricos nas vitaminas supracitadas.

Ainda sobre esse assunto, 26 amostras de pólen apícola desidratado foram consideradas ricas em piridoxina, vitamina que é encontrada em alimentos de origem vegetal que sejam integrais e em alimentos de origem animal. Dessa forma, o pólen apícola tornou-se uma opção de alimento que pode estar presente na dieta humana como mais uma forma de suprir a necessidade de ingestão diária de vitamina B₆, tanto quanto das demais vitaminas analisadas neste trabalho.

Em relação a composição centesimal, as amostras avaliadas demonstraram que há a necessidade da aplicação de métodos de mensuração do teor de umidade do pólen apícola, por parte dos produtores, antes e após o processo de secagem.

Isso deve-se ao fato de que esse material é altamente higroscópico e a umidade torna-se uma variável dependente das condições ambientais em que as colmeias estão inseridas. Dessa forma, não se pode simplesmente padronizar o tempo de processamento e aplicá-lo para diferentes lotes de pólen apícola, pois a umidade inicial é variável.

Avaliando-se as amostras por suas composições centesimais, apenas 7 foram consideradas de acordo com a Instrução Normativa nº 03 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. No item acidez livre, nenhuma amostra deste estudo esteve de acordo com a legislação vigente.

Com relação à composição polínica, o *Eucalyptus* foi o tipo polínico com maior frequência na região Sul do Brasil e juntamente com *Mimosa scabrela*, estiveram presentes na maioria das amostras de pólen apícola consideradas monoflorais, recebendo destaque por sua atratividade às abelhas nessa região.

Os tipos polínicos Asteraceae, Apoaceae e *Brassica napus* correlacionaram-se de forma direta, mas em níveis diferentes de força com as vitaminas B₃, ácido nicotínico e vitamina B₆, respectivamente.

7 PERSPECTIVAS PARA ESTUDOS FUTUROS

O teor das vitaminas avaliadas nas amostras deste trabalho devem ser verificados no pólen apícola de outras regiões do país, mas principalmente na região Nordeste. O governo de diversos estados dessa região, tais como o baiano e o piauiense, estão fornecendo incentivos para a realização da apicultura em áreas rurais, tendo o Estado da Bahia se destacado na produção do pólen apícola.

Deve ser validada também a presença das outras vitaminas do complexo B, no pólen apícola brasileiro, como, o ácido pantotênico (vitamina B₅), a biotina (vitamina B₇), o ácido fólico (vitamina B₉) e a cobalamina (vitamina B₁₂),

Acredita-se que junto às análises de acidez livre e pH, devam ser realizadas, nos próximos estudos, determinações e quantificações da presença de microrganismos produtores de ácidos, tais como os lactobacilos. Seria importante para que haja a certeza de que os níveis de acidez livre quantificados acima do limite estabelecido pela legislação, sejam devidos à contaminações microbiológicas e não pela composição do pólen apícola.

Sugere-se por fim, que deva ser realizado o estudo dos tipos polínicos, explorados pelas abelhas, de forma isolada para que haja certeza concreta da contribuição nutricional de cada um deles dentro do mix polínico.

8 REFERÊNCIAS

ABBAS, T.; HASNAIN, A.; ALI, R. Black gram as a pollen substitute for honey bee. **Animal Feed Science and Technology**, v. 54, p. 357-359, 1995.

ABNT; SEBRAE. Normalização: Guia de uso e aplicação de normas da cadeia apícola. Rio de Janeiro: ABNT, SEBRAE, 2012. 63 p.

AGOSTINI, T.S.; GODOY, H.T. Determinação de vitaminas do complexo B em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência – uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, p. 43-51, jan/jun, 2000.

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

ALMARAZ-ABARCA, N.; DELGADO-ALVARADO, A.; ÁVILA-REYES, J.A.; NARANIO-JIMÉNEZ, N.; HERRERA-CORRAL, J. Actividad antioxidante de extractos de polen de abeja monoespecífico de Mesquite (*Prosopis sp.*). IN: X Congreso Internacional de Actualización Apícola. Tlaxcala, Tlax. 2003.

ALMEIDA, D.; MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S.; D'ÁVILA, M.; ARRUDA, C.M.F. **Plantas visitadas por abelhas e polinizadores**. Piracicaba: ESALQ – Divisão de Biblioteca e Documentos, 2003. 40p.

ALMEIDA, M.A.D.; CARVALHO, C.M.S.C. **Apicultura: uma oportunidade sustentável**. Salvador: Sebrae Bahia, 2009. 52 p.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Legislação nacional e internacional de produtos apícolas. **Mensagem Doce**, nº 115, 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, p. 105-111, 2005.

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

ALVES, M.L.T.M.F. **Produção de pólen**. Pindamonhangaba: SAA/AMA, 1995. 30p.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; FLEMMING, J. S.; GEMAEL, A.; SOUZA, G. A.; FILHO, A. B.; **Nutrição Animal** – São Paulo: Nobel, p.425, 2002.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis of AOAC International**. 16 ed. Arlington, 1995.

ARGENTINA. Ministerio da la Salud. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Alimentos. Normativa. Código Alimentario Argentino. Capítulo 10: Alimentos azucarados. Artículo 785, 1990 Disponível em: <http://www.anmat.gov.ar>. Acesso em: 29 nov. 2012.

ARRUDA, A. S. A.; PEREIRA, A. A. S.; ESTEVINHO, L. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Presence and stability of B complex vitamins in bee pollen using different storage conditions. **Food and Chemical Toxicology**, n. 51, p. 143-148, 2013a.

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.

ARRUDA, V.A.S.; PEREIRA, A.A.S.; FREITAS, A.S.; BARTH, A.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, 2013b.

ASLAM, J.; KHAN, S. H.; KHAN, S. A. Quantification of water soluble vitamins in six date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar's fruits growing in Dubai, United Arab Emirates, though high performance liquid chromatography. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, jan., 2013.

ASLAM, J.; MOHAJIR, M. S.; KHAN, S. A.; KHAN, A. Q. HPLC analysis of water-soluble vitamins (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆) *in vitro* and *ex vitro* germinated chickpea (*Cicer arietinum* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 14, p. 2310-2314, 2008.

BALL, G.F.M. **Bioavailability and analysis of vitamins in food**. London: Chapman & Hall, 1998. 416p.

BALL, G.F.M. **Vitamins in food: analysis, bioavailability, and stability**. New York: Taylor & Francis, 2006. 785p.

BALL, G.F.M. **Vitamins: their role in the human body**. London: Blackwell Publishing, 2004. 432 p.

BALL, G.F.M. **Water-soluble vitamin assays in human nutrition**. London, New York: Chapman & Hall, 1994. 416p.

BANCO DE QUESTÕES DE BIOLOGIA, sd. Disponível em: <http://www.professor.bio.br/provas_topicos.asp?topico=Vitaminas>. Acessado em: 22 nov. 2012.

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

BARRETO, L.M.R.C., FUNARI, S.R.C., ORSI, R.O. **Pólen Apícola: Perfil da Produção no Brasil**. Taubaté: Cabral Editora e Livraria Universitária, 2006, 6 p.

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, s.d.

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

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

BARTH, O. M. Botanical resources used by *Apis mellifera* determined by pollen analysis of royal jelly in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Apicultural Research**, v.44, n.2, p.78-81, 2005.

BARTH, O.M. Melissopalynology in Brasil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Ciência Agrícola**, v. 61, n. 3, p. 342-350, 2004.

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

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, p. 893-902, 2010.

BARTH, O.M.; MACIEIRA, E.G.; CORTE-REAL, S. Morfologia do pólen anemófilo e alergizante no Brasil: Casuarinaceae, Salicaceae, Moraceae, Ulmaceae e Urticaceae (I). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, vol.73, n.3, pp. 141-150, 1975.

BASISTA, K.; FILIPEK, B.; SODZAWICZNY, K. Bee pollen allergy in Polish beekeepers and their families. **Postepy Dermatologii I Alergologii XXIX**, n. 5, p. 343-347, 2012.

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. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.62, n.3, p. 239-244, 2003.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina B₁. In: **PENTEADO, M. V. C.** Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri, SP: Manole, 2003. Cap. 7, p. 229-266.

BOGDANOV, S. Quality and standards of pollen and Beeswax. **Apiacta**, v.38, p. 334-341, 2004.

BOGDANOV, S. The book of pollen, chapter 1: the bee pollen book. Bee Product Science, 2011.

BRASIL. Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de jan. de 2001, seção 1 p. 18-23.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa n. 11. Diário Oficial da União, 23 de outubro de 2000, seção 1, p.16-17.

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.

BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornado obrigatória a rotulagem nutricional. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 23 de dezembro de 2003.

BUAINAN, A.M.; BATALHA, M.O. **Cadeias produtivas de flores e mel**. Brasília: IICA: MAPA/SPA, v. 9., 2007. 140 p.

BUCHHOLZ, M.; DROTTLEFF, A. M.; TERNES, W. Thiamin (vitamin B₁) and thiamin phosphate esters in five cereal grains during maturation. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 109-114, 2012.

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

BURKE, L.M.; CASTELL, L.M.; STEAR, S.J.; ROGERS, P.J.; BLOMSTRAND, E.; GURR, S.; MITCHELL, N; STEPHENS, F.B.; GREENHAFF, P.L. A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance part 4. **British Journal of Sports Medicine**, v. 43, p. 1088-1090, 2009.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; BEZERRA, R.M.N.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.

CAMARGO, R.C.R.; RÊGO, J.G.S.; LOPES, M.T.R.; PEREIRA, F.M. **Boas práticas na produção e beneficiamento de pólen apícola desidratado**. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2003. 26p.

CAMPOS, L.A.O.; MORATO, E.; MELO, G.R.; SILVEIRA, F.A. Abelhas-características e importância. **Informe Agropecuário**, Belo horizonte, v.13, n.149, p. 7-14. 1987.

CAMPOS, M.G.; CUNHA, A.; MARKHAM, K.R. Bee pollen: composition, properties and application. In: MIZRAHI, A.; LENSKEY, Y., eds. **Bee products: properties, applications and apitherapy**. New York: Plenum Press, p.93-100, 1997.

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.

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

CARPES, S.T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, n. 6, p. 1818-1825, 2007.

CARPES, S.T.; CABRAL I.S.R.; ROSALEN, P.L.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Caracterização do potencial antimicrobiano dos extratos de pólen apícola da região Sul do Brasil. **Alimento e Nutrição**, v. 20, n. 2, p. 271-277, 2009a.

CARPES, S.T.; MOURÃO, G.B.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 220-229, 2009b.

CARPES, S.T.; PRADO, A.; MORENO, A.M.; MOURÃO, G.B.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região Sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1660-1664, 2008.

CHASE, G.W.; LANDEN, W.O.Jr; SOLIMAN, A.G.; EITENMILLER, R.R. Method modification for liquid chromatographic determination of thiamin, riboflavin, and piridoxine in medical foods. **Journal of AOAC International**, v.76, n.6, p.1276-80, 1993.

COMBS, G.F. **The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health**. 3ª ed. London: Elsevier, 2008. 583 p.

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

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3ª ed. FUNEP, Jaboticabal, 2006.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2ª ed. São Paulo: Nobel, 1987. 226p.

CUNHA, S.; BASTOS, V.L.F.C.; BASTOS, J.C.; SALLES, J.B.; SALLES, C.M.C.; SILVA, M.C.C.; DIAS, R.A.; LIMA, L.M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Nível de tiamina no miocárdio, área transversa e número de núcleos de cardiomiócitos de ratos em uso de furosemida. **Revista da SOCERJ**, v. 19, n. 2, p. 195-200, 2006.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DERIVI, S.C.N.; MENDEZ, M.H.M. Uma visão retrospectiva da fibra e doenças cardiovasculares. In: LAJOLO, F.M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E.W.;

MENEZES, E.W. (Ed.). **Fibras dietética en iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, Cap. 30, p. 411-430.

DÓREA, M.C.; NOVAIS, J.S.; SANTOS, F.A.R. Perfil botânico do pólen apícola proveniente do litoral sul da Bahia, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, jul./set., 2010.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Criação de abelhas: apicultura**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 113p.

FAYE, P.F.; PLANCHUELO, A.M.; MOLINELLI, M.L. Relevamiento de flora apícola e identificación de cargas de pólen em el sureste de La provincia de Córdoba, Argentina. **Agriscientia**, v. XIX, p. 19-30, 2002.

FERRAZ, L.V.; QUEIROZ, M.L.; LEITE, P.M.B.A.; PIRES, D.A.F.; SILVIA, C.I.O.; CAMPOS, D.O. Produção de pólen em colméias de *Apis mellifera* no período de entressafra no Setor de Apicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. UFRPE: Recife. 2010. Ilhéus: CEPLAC/CENEX, 2012, 36p.

FERREIRA, C. P. **Bioquímica Básica**. 2ª ed. São Paulo: Luana Livraria e Editora, 1998. 381 p.

FERREIRA, M.B. Plantas apícolas no Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, n. 7, p. 40-47, 1981.

FREITAS, B.M. Conhecendo as abelhas. Disponível em: <<http://www.abelhas.ufc.br/documentos/conabelhas.pdf>>. Acessado em: 09 nov. 2013.

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, Córdoba, 1994. **Anais**. Córdoba: Argentina, 1994. p. 163-165.

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

FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL. **Apicultura: desenvolvimento regional sustentável**. Brasília: Banco do Brasil, 2010. 47p.

GASPARINO, E.C.; CRUZ-BARROS, M.A.V. Palinologia: curso de capacitação de monitores e educadores. **Instituto de Botânica – IBt**. 2006.

GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Composição dos alimentos: um pouco de história. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 56, n. 3, 2006.

GLOBO REPORTER. Pólen combate o envelhecimento e ajuda a recuperar energias. Disponível em: <<http://g1.globo.com/globo-reporter/noticia/2010/05/polen-combateoenvelhecimento-e-ajuda-recuperar-energias.html>> Acessado em: 3 mar 2012.

GREENFIELD, H.; SOUTHGATE, D. A. T. **Food composition data**. 1ª ed. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, v. 1, 2003. 156 p.

HAYDAK, M. H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.15, p. 143-156, jan., 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. **Apidologie**, v. 9, n. 1, p. 33-40, 1978.

HOOFMANN, R. F. **Vitamins basics**. Basel: Reinhadt Druck, 1997. 74 p.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Manuais Técnicos da Vegetação Brasileira: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas e procedimentos para mapeamentos**, Rio de Janeiro, n. 1, 2012. 275p.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 38, 2010. 65p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p.

JAKOBSEN, J. Optimisation of the determination of thiamin, 2-(1-hydroxyethyl) thiamin, and riboflavin in food samples by use of HPLC. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1209-1217, 2008.

JEAN-PROST, P. **Apicultura**. 3ª ed. Madrid: Mundi Prensa, 1995. 741 p.

JUNIOR, M.A.P.; CÔRREA, M.V.G.; MACEDO, R.B.; CANCELLI, R.R.; BAUERMANN, S.G. **Grãos de pólen: usos e aplicações**. Canoas: ULBRA, 2006. 24p.

KALL, M. A. Determination of total vitamin B₆ in foods by isocratic HPLC: a comparison with microbiological analysis. **Food Chemistry**, v. 82, p. 315-327, 2003.

KERR, W.E. The history of introduction of African bees to Brazil. **South African Bee Journal**, v. 39, n. 2, p. 3-5, 1967.

KERR, W.E. Um pouco de história: história parcial da ciência apícola no Brasil. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/bee/introd.htm>. Acessado em: 19 jun. 2012.

KRAUT, S. F. **Food Composition and Nutrition Tables**. 6º ed. Online-Database, 2000. n.p. Disponível em: URL: <http://www.sfk-online.net>. Acesso em: 02 dez. 2011.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. In: FAO Agricultural Services Bulletin 124. Roma, FAO Fiat Panis, 1996, cap. 3, p. 87-115.

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

LAHÉLY, S.; BERGAENTZLÉ, M.; HASSELMANN, C. Fluorimetric determination of niacin in foods by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization. **Food Chemistry**, v.65, p.129-133, 1999.

LEGLER, S. Alimentação das abelhas. **Mensagem Doce**, São Paulo, n.50, p. 13-17, 1999.

LEGLER, S. Princípios básicos na nutrição alimentar de abelhas. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE APICULTURA, 8, EXPOAPIS, 7, ENCONTRO ESTADUAL DE MELIPONICULTORES, 2., 2003, Horizontina, RS. **Anais...** 2003. CD-ROM.

LIGEN, X. La eficacia y el mecanismo de intervención del polen en la lucha contra el cancer y el envejecimiento. IN: CONGRESO INTERNACIONAL DE APICULTURA, 32, Rio de Janeiro, 1989. **Anais**. Rio de Janeiro: APIMONDIA, 1989. p. 223.

LOPES, J., STANCIU, O.G., CAMPOS, M.G., ALMARAZ-ABARCA, N., ALMEIDA-MURADIAN, L.B., MARGHITAS, L.A. Bee pollen antioxidant activity – A review: achievements and further challenges. **Journal of Pharmacognosy**, v. 2, p. 25-38. 2011.

LUZ, C.F.P., BARTH, O.M. Melissopalynological observations in a mangrove area next to Rio de Janeiro, Brazil. In: GOODMAN, D.K., CLARKE, R.T. (Eds.). PROCEEDINGS OF THE IX PALYNOLOGICAL CONGRESS. AMERICAN ASSOCIATION OF STRATIGRAPHIC PALYNOLOGISTS FOUNDATION, 2001, Houston. p. 489-492.

LUZ, M.A.; MEIRA, K.; ORRICO, M. Apicultura recebe apoio no interior da Bahia. **Jornal Integração**, Bahia, ano 3, n. 8, p. 4-5, 2012.

MAGALHÃES, E.O. **Produção de pólen**. Bahia: CEPLAC/CENEX, 2005. 18p.

MAGALHÃES, E.O.; BORGES, I.L. **Apicultura básica**. Ilhéus: CEPLAC/CENEX, 2012, 36p.

MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. Como o comportamento das abelhas na flor do morangueiro (*Fragaria ananassa Duchesne*) influencia a formação dos frutos? **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, supplement 1, p. 76-81, nov., 2007.

MARCHINI, L. C., REIS, V. D. A, MORETTI, 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.

MARTÍN-MUNÓZ, M.F.; BARTOLOME, B.; CAMINO, M.; BOBOLEA, I.; GARCIA ARA, M.C.; QUIRCE, S. Bee pollen: a dangerous food for allergic children. Identification of responsible allergens. **Allergol Immunopathol**, v. 38, n. 5, p. 263–265, 2010.

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, p. 107-116, 2011.

MELO I. L. P., ALMEIDA-MURADIAN L. B. Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. **Ciência Tecnologia de Alimentos. Campinas**, 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., FREITAS, A. S., BARTH, O. M., ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Relação entre composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, p. 233-242, 2010.

MENDONÇA, K.; MARCHINI, L.C.; SOUZA, B.A.; ALMEIDA-ANACLETO, D.; MORETI, A.C.C.C. Plantas apícolas de importância para *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) em fragmento de cerrado em Itirapina, SP. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 513-521, 2008.

MENDONÇA, R. T. **Nutrição: um guia completo de alimentação, prática de higiene, cardápios, doenças, dietas, gestão**. 1ª ed. São Paulo: Rideel, 2010. 448 p.

MENESES, J. D. S. Avaliação das práticas de colheita, beneficiamento e armazenamento de mel de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) no Litoral Norte da Bahia, através de análises físico-químicas. Salvador: [S.1., s.n.], 2005. Universidade Federal da Bahia.

MENEZES, J.D.S.; MACIEL, L.F.; MIRANDA, M.S.; DRUZIAN, J.I. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 233-242, 2010.

MEYER, K.A.; KUSHI, L.H.; JACOBS, D.R. JR.; SLAVIN, J.; SELLERS, T.A.; FOLSOM, A.R. Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 921-930, 2000.

MIHHALEVSKI, A.; NISAMEDTINOV, I.; HÄLVIN, K.; OSEKA, A.; PAALME, T. Stability of B-complex vitamins and dietary fiber during rye sourdough bread production. **Journal of Cereal Science**, p. 1-9, 2012.

MODRO, A.F.H. **Influência do pólen sobre o desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*)**. 2010. Tese de Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P.; ALVES, J.A.; NETO, M. Flora de importância polinífera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 5, p. 1145-1153, 2011.

MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P.; NETO, J.A.A.M. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 42, n. 8, p. 1057 – 1065, ago., 2007.

MORESCHI, E.C.P., ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Vitamins B₁, B₂, B₆ and PP contents in royal jelly. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 2, p.187-191, 2009.

MORETI, A.C.C.C. Coleta e utilização de pólen pelas abelhas. In: CURSO DE PRODUÇÃO DE PÓLEN, Pindamonhangaba, 1995. Pindamonhangaba: IZ/CAT, 1995. 32p. p. 1-7.

MORETI, A.C.C.C.; CARVALHO, C.A.L.; MARCHINI, L.C.; OLIVEIRA, P.C.F. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. **Bragatinga**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 1-6, 2000.

MORETI, A.C.C.C.; TEIXEIRA, E.W.; ALVES, M.L.T.M.F.; OLIVEIRA, K.C.L.S.; OTSUK, I.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Tamanho de cargas de pólen interceptadas em coletores mantidos em diferentes colméias de *Apis mellifera* africanizadas. **Mensagem Doce**, nº 112, jul., 2011a.

MORETI, A.C.C.C.; TEIXEIRA, E.W.; ALVES, M.L.T.M.F.; OLIVEIRA, K.C.L.S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Pollen sources for *Apis mellifera* (L.) in Pindamonhangaba coutry, state of São Paulo, Brazil. **Sociobiology**, v. 58, n. 3, p. 1-12, 2011b.

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

MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Revisão: Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n 4, p. 529-539, 2005.

MUNITEGUI, S., SANCHO, M.T., LOPEZ, J., HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, v. 29, p. 147-50, 1990.

NATES PARRA, G.; GONZÁLEZ, V. H. Las abejas silvestres de Colômbia: porque y cómo conservarlas. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v.5, n.2, p. 5-37, out. 2000.

NOGUEIRA-COUTO, R.H.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 191p.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445 p.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Campinas: NEPA/UNICAMP, 2011. 161p.

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

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

OLIVEIRA, M.L.; CUNHA J.A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica?. **Acta Amazonica**, Manaus, v.35, n.2, jul./set. 2005.

OLLILAINEN, V.; FINGLAS, P.M.; VAN DEN BERG, H.; FROIDMONT- GORTZ, I. Certification of B-group vitamins (B₁, B₂, B₆ and B₁₂) in four food reference materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 315-321, 2001.

OTTAWAY, P. B. **The Technology of vitamins in food**. 1^a ed. London; New York: Blackie Academic & Professional, 1993. 265 p.

PARK, D.N.; ARAYA, L.H. Fibra dietética Y obesidad. In: LAJOLO, F.M.; SAURACALIXTO, F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. (Ed.). **Fibras dietética en iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, Cap. 27, p. 371-384.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L.M. Biological activities of comercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidante and anti-inflammatory. **Food and Chemical Toxicology**, v. 64, p. 233-239, 2014.

PCHELOVODSTVO, A. N. Influência del nível de proteína bruta em la produccion de la colônia de abejas. **Apiacta**, V. 12, N. 14, pp. 23-54, 1999.

PEGORARO, B. **Desenvolvimento de um iogurte acrescido de geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola**. Pato Branco, 2011. 54p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PEREIRA, F.M.; FREITAS, B.M.; VIEIRA NETO, J.M.; LOPES, M.T.R.; BARBOSA, A.L.; CAMARGO, R.C.R; RIBEIRO, V.Q.; ROCHA, R.S. Efeitos tóxicos de alimentos alternativos para abelhas *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 533-538, mar-abr, 2007.

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

PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R. O início da apicultura no Brasil. **Embrapa**, 2011. Disponível em: <www.embrapa.br/imprensa/artigos/2011/o-inicio-da-apicultura-no-brasil/>. Acessado em 25 nov 2013.

PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; CAMARGO, R.C.R, VILELA, S.R.O. **Produção de Mel**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/autores.htm>>. Acessado em: 18 nov 2013.

PEREIRA, P.C.M.; VALÉRIO, M.A.R.N.; FUNARI, S.R.C.; LARA, A.A. Perspectivas da utilização do mel, própolis, geléia real e pólen na área médica. In: BARRAVIERA, B., coord. **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994. p. 65-80.

PERUQUETTI, R.C. Origem das Abelhas. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/origemdasabelhas.htm>>. Acessado em: 02 mar 2014.

PRESOTO, A.E.F.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Analysis of water-soluble vitamins and iron in oat flours used as raw material in dry cereal food enriched In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO , 18, Durban, 2005. Abstracts. Basel: Karger, 2005.134p.

PRESOTO, A.E.F.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Validação de métodos cromatográficos por CLAE para análise das vitaminas B₁, B₂, B₆ e niacina naturalmente presente em farinha de cereais. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 498-502, 2008.

PRESOTO, A.E.F.; RIOS, M.D.G.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Simultaneous High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Vitamins B₁, B₂ e B₆ in Royal Jelly. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, n. 1, p. 136-139, 2004.

RAMOS, J.M.; CARVALHO, N.C. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, n. 10, ago., 2007.

RANGEL, M.A. **A história do setor de apicultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**. Seropédica, 2006. 41p. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto de Biologia – Universidade Rural do Rio de Janeiro.

RIBEIRO, J.G.; SILVA, R.A. Estudo comparativo da qualidade de pólen apícola fresco, recém processado, não processado e armazenado em freezer e pólen de marca comercial através de análises físico-químicas. **Tecnologia & Desenvolvimento Sustentável**, ano 1, mar., 2007.

ROCHA, H.C., SUZANA, J., PORTO, S., FUNARI, S.R.C., LARA, A.A. O uso de pólen apícola no controle de anemia ferropriva. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 5, Ribeirão Preto, 2002. **Anais**. Ribeirão Preto, 2002. 295p.

RODRIGUEZ, R. S. J.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V; CÁMARA, M.; SÁNCHEZ-MATA, M. C. Simultaneous determination of vitamin B₁ and B₂ in complex cereal foods, by reverse phase isocratic HPLC-UV. **Journal of Cereal Science**, v. 55, p. 293-299, 2012.

ROUBIK, D.W. **Ecology and natural history of tropical bee**. 1ª ed. New York: Press Syndicate of the University of Cambridge, 1992. 525 p.

SALOMÉ, J. A. **Manutenção de colméias frente às pressões ambientais.** Sistema de inteligência setorial. jun. 2009. 20p.

SALOMÉ, J.A.; SALOMÉ, L.G. **Manual prático de produção de pólen apícola.** Florianópolis: EPAGRI, 1998. 53 p.

SAMPAIO, E.A.B; FREITAS, R.J.S. **Caracterização do pólen apícola processado comercial e armazenado na colmeia (pão de abelhas) de algumas localidades do Paraná.** B. CEPPA, Curitiba, v. 11, n 1, p. 81-87, jan./jun., 1993.

SANT'ANA, H.M.P. Niacina. In: **PENTEADO, M. V. C.** Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri, SP: Manole, 2003. Cap. 9, p. 331-359.

SANTOS, J.; MENDIOLA, J. A.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Sequential determination of fat – and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. **Journal of Chromatography A**, v. 1261, p. 179-188, 2012.

SCHAUSE, L.P. Coleta, preparo e comercialização do pólen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 10, Pousada do Rio Quente, 1994. **Anais.** Pousada do rio Quente, 1994. p. 91-95.

SEBRAE. Informações de Mercado sobre Mel e Outros Derivados das Abelhas. Disponível em :<<http://www.apis.sebrae.com.br/>>. Acessado em: 23 fev 2014.

SERRA-BONVEHÍ, J.; PAJUELO, A.G.; GALINDO, F.G. Physicochemical properties and composition of honeybee-collected pollen produced in Spain. **Alimentaria**, nº 176, p. 63–67, 1986.

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 J. Urol.**, v. 21, p. 109-113, 2003.

SILVA, D.F.; ARAUJO, I.G.; WELTER, J.H.; WAGNER, R.B.; MENEZES, L.F.G.; ARBOITTE, M.Z. Desenvolvimento e produção de pólen em colméias de *Apis mellifera* L. africanizadas mantidas em cultura de girassol. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 3, n. 8, p. 147-151, 2010.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação.** Belo Horizonte : Fernando A. Silveira, 2002. 253p.

SILVEIRA, T.A. **Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental.** Piracicaba, 2012. 66 p. Dissertação de Mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

SILVIA, E.V.C.; MEDEIROS, L.F.P.S.; MONTEIRO, D.B.; SILVA, G.F. Elaboração de bebida láctea pasteurizada sabor bacuri enriquecida com pólen. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 01, p. 01-09, 2010.

SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C.; CARVALHO, C.A.L. Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, estado do Piauí. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 839-842, mai/jun, 2008.

SOUZA, D.C. **Apicultura**: manual do agente de desenvolvimento rural. 2ª ed. Brasília: Sebrae, 2007. 186p.

TRUSWELL, A. S. As Vitaminas B. In: MANN, J. e TRUSWELL, A.S. **Nutrição Humana**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, 2009. 342 p.

USDA (United States Department of Agricultural). National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>>. Acessado em: 03 mar. 2014.

VASCONCELOS, W.J.D.; ALVIM, M.A.; ELOY, M.; BRAGA, T.C.; ALVES, A.M.L.M. **Plano de desenvolvimento da apicultura na Bahia 2013/2014**. Bahia: S.A.P.I.R.P.A, 2013, 37p.

VÁZQUEZ-CONTRERAS, E. Bioquímica y biología molecular em línea: información actualizada en español para la enseñanza y el aprendizaje de estas disciplinas. Instituto de Química – UNAM. 2003. Disponível em: <<http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/hexosas%20monofosfato2.html>>. Acessado em: 24 nov 2012.

VICENZI, V.M. **O pólen apícola como elemento potencializador dos efeitos advindos da atividade física orientada em idosos**. Florianópolis, 2004. 105p. Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina.

VILLANUEVA, G.R. Polliniferous plants and foraging strategies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Yucatán Peninsula, Mexico. **Revista de Biología Tropical**, v. 50, n. 3-4, p. 1035-1044, 2002.

WIESE, H. **Nova apicultura**. 7 ed. Porto Alegre: Agropecuária, 1986, 493p.

WINSTON, M, L. **The biology of the honey bee**. 1987.281p.

ZEMPLINI, J.; RUCKER, R.B.; McCORMICK, D.B.; SUTTIE, J.W. **Handbook of vitamins**. 4ª ed. New York: Taylor & Francis, 2007. 608 p.

ZERBO, A.C.; MORAES, R.L.M.S.; BROCHETTO-BRAGA, M.R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidia, Meliponinae): midgut proteolytic activity and pollen digestion. Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: **Biochemistry and Molecular Biology**, v.129, p.139-147, 2001.