



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

RODRIGO DA CRUZ FERREIRA

Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* Latreille submetido a diferentes processos de desidratação.

Salvador, 2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* Latreille submetido a diferentes processos de desidratação.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria P. Spinola Miranda
Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Marina Siqueira de Castro

Salvador, 2012

Rodrigo da Cruz Ferreira

Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* L. submetido a diferentes processos de desidratação.

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos no Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, do Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, pela comissão formada pelos professores:

BANCA EXAMINADORA

Prof^a: Dra Maria Spínola Miranda

(Orientadora)

Doutorado em Ciência dos Alimentos

Pela Universidade de São Paulo-USP

Universidade Federal da Bahia, UFBA.

Celso Duarte Carvalho Filho

Universidade Federal da Bahia, UFBA.

Mariangela Vieira Lopes

Universidade do Estado da Bahia, UNEB.

DEDICO

À minha madrinha Carmozina de Araújo Maia (Dinha), meus avôs (as), tios (as), irmãos, primos (as) e amigos (as) e em especial aos meus pais que me eram a oportunidade da vida.

À memória de minhas eternas e queridas tia Maria de Lourdes Figuerêdo (Titia) e avó Nadir Solange Guimarães.

AGRADECIMENTOS

A DEUS em primeiro lugar, por haver me concedido a benção da vida.

Aos meus pais, que me deram a oportunidade de nascer e ser educado, seguindo os ensinamentos do bem, da lealdade e do correto.

A CAPES pelo apoio financeiro na concessão da bolsa

À prof^a Dr^a Maria Spínola Miranda, que se mostrou uma amiga, viabilizando informações e conhecimentos importantes na elaboração do projeto.

A toda minha família, irmãos, primos (as), tios(as), por me apoiarem em todos os momentos. A tia Rosa por apoiar-me nos estudos o tempo todo, me incentivando com vigor, à tia Rita e Tia Nadja por terem me apoiado desde o início na vinda para Salvador e influenciado na busca de sempre mais.

À minha companheira, fonte inspiradora, Paloma Ribeiro Meira, pela influência na carreira acadêmica, ajudando nos momentos mais difíceis e solitários. Foram alguns anos de dedicação, ensinando-me e acalmado meu coração quando tudo parecia estar perdido.

A todos meus amigos de infância (Décio, Seu Danilo, Cazumbá, Fal, Daniel (Carlinhos), Fábio, Trabuco, Rodrigo (Ninhoso), pela amizade e os momentos bons de curtidão. As novas amizades que nesta cidade consegui obter: Gustavo irmãozão, pela amizade conquistada e tentativas de ajuda fracassadas no surf (haule), ao amigo Niarle Patrick (Preg), Celsoba, Daniel e Flora, Clistene Figueredo e sua nova família, Hugo Medrado e a todos que participaram de alguma forma na elaboração deste trabalho.

À prof.^a Ana Rita Bautista, e o prof. Dr^o Frederico de Medeiros Rodrigues pelo apoio desde o início do mestrado

À técnica de laboratório Elisabeth Eufrazio da Silva (Dona Beth) do laboratório de Alimentos da Central de Laboratórios da EBDA – CLA da EBDA, pelo apoio incondicional e sua admirável forma de trabalho.

À prof^a Dr^a Marina Siqueira de Castro, pelo fascinante e admirável trabalho ao também, desenvolver pesquisa com alimentos divinos (mel, pólen), obrigado pelo apoio e influência; sou imensamente grato ao Laboratório de Abelhas da EBDA.

A toda equipe do LABE, em especial à Msc. Sinara Matos Leal, à farmacêutica Alvanice Silva Lins Ribeiro, à bióloga Marília Melo, e a graduanda em Farmácia Camila da Silva Lima. Aos integrantes da Coleção Entomológica Moure e Costa, e aos integrantes do laboratório APA, por apoiarem-me desde o início do projeto.

Ao estatístico Elinaldo Santos, bolsista da EBDA, pela paciência e colaboração.

À prof.^a Dr^a Clícia Capibaribe Leite e toda equipe do laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFBA, pela confiabilidade e colaboração das análises microbiológicas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da UFBA que concederam conhecimentos importantes para as tomadas de decisões.

A todos os colegas do mestrado por vivenciarem as mesmas angústias e aflições neste período, em especial à Mariana Oliveira Assis, Jaqueline Fontes Moreau, Laíse Cedraz, Natalie Spath e Paula, que sempre foram solícitas.

Ao prof Dr. Antônio Menezes Filho e toda a equipe do laboratório de Toxicologia Humana da Faculdade de Farmácia da UFBA, (Gustavo, Sérgio, Natália, Juliana), pelo apoio técnico e intelectual e trabalho eficiente das análises realizadas.

Ao prof. Dr Eudes Velozo e equipe do LAPPEM. (Igor, Rejane, Daniel), pelo aprimoramento das técnicas de extração.

Aos amigos da ADAB, Dr. Paulo Emilio de Vinhaes Torres, Dr. Adilson Pinheiro Andrade, Dr^a Kátia, Dr^a Anete, Dr^a Solange Oliveira Verás, Dr. Moacir,

Dr. Manoel Penha, Argileu Soares, Wilson Ridz, Alessandro, Jorge, Marcos, João, Damião, Edvaldo, pelo início de tudo, as influências e os bons momentos vividos.

Ao Sr e Sr^a Piol, proprietários do meliponário Velho Simião, por colaborarem com a pesquisa fornecendo-nos o pólen utilizado nas análises e pela gentileza com que fomos recebidos.

À Universidade Federal da Bahia e a EBDA pela estrutura que permitiu a execução deste trabalho.

Agradeço, enfim, a todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram na minha formação.

"Quando chove as abelhas
Começam a trabalhar:
Moça-branca e a pimenta, Mandaçaia e mangangá;
Canudo, Mané-de-Abreu, Tubiba e irapuá."

"Ronca a tataira,
Faz boca o limão,
Zoa o sanharão,
Trabalha a jandaira,
Busca flor a cupira
Faz mel o enxú,
Zoa o capuchú,
Vai à fonte a jataí,
Campeia o enxuí,
Faz mel a uruçú"

Francisco Romano (1840-1891),
cancioneiro nordestino
(Transcrito de Lamartine de
Faria & Lamartine, 1964:187).
PNN

RESUMO

A caracterização físico-química e microbiológica do pólen faz-se importante na busca do controle de qualidade e até mesmo em uma padronização do pólen de abelhas nativas. Com o objetivo de se verificar a composição físico-química mineral e microbiológica de amostras do pólen recolhido pelas abelhas *Melipona scutellaris* L., foram realizadas coletas do samburá de 10 colônias em dois momentos, (05/2010 e 05/2011) por equipe técnica da EBDA seguindo as metodologias disposta pelo Codex Alimentarius. O material foi fornecido pelo Meliponário Velho Simião, localizado em Cajazeiras de Abrantes, Camaçari-BA, (latitude 12°48'39.35"S / longitude 38°15'37.19"W) no bioma Mata Atlântica. O clima é tropical úmido e temperatura anual entre 23 a 35°C. Os experimentos foram executados no Laboratório LAPAAC-UFBA e nos laboratórios de Abelhas (LABE) e Nutrição Animal da Central de Laboratórios da Agropecuária - EBDA. Foram obtidas as seguintes médias para o pólen *in natura*: 19,7% de proteínas; 2,4% de cinzas; 51,7% de umidade; 2,76% de fibras; 2,5% de lipídios; 1738,64mEq kg⁻¹ de pólen de acidez titulável, pH igual a 3,8, e a Aw apresentou valor de 0,82. Após utilização das técnicas de desidratação (liofilizador, por corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*) os teores encontrados foram respectivamente 34%, 32% e 33% de proteínas; 3,92%, 4,31% e 3,61% de cinzas; 17%, 19% e 18% de umidade; 4,03%, 3,27% e 3,20% de fibras; 5,9%, 4,5%, 4,0% de lipídios; 1531,84mEq kg⁻¹, 1217,01 mEq kg⁻¹, 1556,74 mEq kg⁻¹ de acidez titulável, pH igual a 4,14, 4,28 e 4,00. Os valores de Aw para os respectivos tratamentos de desidratação foram 0,15, 0,56, 0,22. O Mn foi analisado em espectrofotômetro de Absorção Atômica, forno de grafite. Os minerais (Ca, Mg, Zn, Cu e Fe) foram analisados em equipamento de absorção por chama. Os resultados encontrados em mg/kg para (Mn), (Zn), (Cu), (Mg), (Ca) e (Fe) foram respectivamente: 45,3; 53,7; 23,4; 2499,8 e 108,1. As análises microbiológicas foram realizadas para coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Bacillus cereus*, clostrídios sulfito redutores a 46°C, *Salmonella* sp., de acordo com a APHA – American Public Health Association – 4ª edição, 2001. Não houve variação nos resultados nas amostras testadas (*in natura* e liofilizada) para coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, bolores e leveduras respectivamente (< 3,0NMP/g, < 3,0NMP/g e < 1,0 x 10²UFC/g). *Bacillus cereus* e clostrídios sulfito redutores a 46°C na amostra liofilizada apresentaram respectivamente os valores (2,2 x 10³UFC/g e 1,2 x 10³ UFC/g) enquanto que na amostra *in natura* (2,0 x 10²UFC/g e 1,2 x 10²UFC/g). As análises realizadas nas amostras desidratadas por corrente de ar frio e *frost-free* apresentaram os seguintes resultados respectivamente 4,0 e < 3,0NMP/g para Coliformes a 45° C, < 3,0 e < 3,0NMP/g para *Escherichia coli*. 1,4 x 10³ UFC/g e < 1,0 x 10² UFC/g para Bolores e leveduras, 3,7 x 10³ e 8,0 x 10² UFC/g para *Bacillus cereus* e 2,4 x 10² e 1,1 x 10³ UFC/g para Clostrídios sulfito redutor 46° C. As amostras apresentaram ausência de *Salmonella*. (UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama, NMP/g – Número mais provável por grama). Para análise estatística foi utilizado o Programa R sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5%. Foram verificadas diferenças significativas nas médias para os diferentes parâmetros estudados, com exceção da porcentagem de fibras. Quando comparamos *frost-free* com a técnica que utiliza corrente de ar frio não apresenta variação significativa. Os resultados demonstraram que a técnica de liofilização foi mais eficiente na redução da Aw, e umidade do pólen assim como também

conservou maiores teores de proteínas, lipídios e fibras no produto. Quando se pretendeu selecionar a técnica mais acessível e efetiva na desidratação e conservação do pólen *Melipona scutellaris* L. o refrigerador *frost-free* apresentou-se bastante eficaz, pelo baixo custo de aquisição do equipamento frente aos outros.

Palavras Chave: samburá, físico-química, análise microbiológica, abelha sem ferrão.

ABSTRACT

The physical-chemical and microbiological analysis is important for quality control and standardization even in a native bee pollen. In order to verify physical-chemical composition of mineral, microbiological samples of pollen collected by bees *Melipona scutellaris* L., were collected from 10 colonies in two instances (05/05 and 2010/2011) for crew of EBDA following the methodology proposed by the Codex Alimentarius. Material was provided by Meliponário Velho Simião, in Cajazeiras Abrantes, Camaçari, Bahia, (latitude 12 ° 48'39 .35" S / longitude 38 ° 15'37 .19" W) in the Atlantic Forest biome. Its climate is tropical and humid year-round temperature of 23 to 35 ° C. Experiments were performed in the laboratory of Animal Nutrition of Central Laboratory of Agriculture EBDA and LAPAAC laboratory. It was obtained the following averages for pollen *in natura*: 19.7% protein, 2.4% ash, 51.7% moisture, 2.76% fiber, 2.5% lipids; 1738.64 mEq kg⁻¹ pollen titratable acidity, pH = 3.8, Aw value was 0.82. After use the techniques of drying (freeze-dryer, for the cold air flow and frost-free refrigerator) contents were found respectively 34%, 32% and 33% protein, 3.92%, 4.31% and 3.61% ash, 17%, 19% and 18% moisture, 4.03%, 3.27% and 3.20% fiber, 5.9%, 4.5%, 4.0% lipids; 1531, 84mEq kg⁻¹ kg⁻¹ mEq 1217.01, 1556.74 mEq kg⁻¹ of titratable acidity, pH of 4.14, 4.28 and 4.00. Aw values for the respective drying processes were 0.15, 0.56, 0.22. The Mn was analyzed by atomic absorption spectrometer with graphite furnace. The minerals (Ca, Mg, Zn, Cu and Fe) were analyzed by flame absorption equipment. The results in mg / kg (Mn), zinc (Zn), (Cu), (Mg), (Ca) and (Fe) were respectively 45.3, 53.7, 23.4, and 2499.8 108.1. Microbiological analyzes were performed for coliforms at 45 ° C, *Escherichia coli*, yeasts and molds, *Bacillus cereus*, sulphite reducing clostridia at 46 ° C, *Salmonella sp.*, According to APHA - American Public Health Association - 4th edition, 2001. There was no variation in results in the tested samples (fresh and freeze-dried) for coliforms at 45 ° C, *Escherichia coli*, yeasts and molds, respectively (<3.0 MPN / g, <3.0 MPN / g and <1.0 x 10²UFC / g). *Bacillus cereus* and sulphite reducing clostridia at 46 ° C in the lyophilized sample were respectively the values (2.2 x 10³UFC/ge 1.2 x 10³ CFU / g) while in the fresh sample (2.0 x 1.2 x 10²UFC/ge 10²UFC / g). The analyzes performed on samples dried by stream of cold air and frost-free showed the following results respectively 4.0 and <3.0 MPN / g for coliforms at 45 ° C, <3.0 and <3.0 MPN / g for *Escherichia coli*. 1.4 x 10³ CFU / g and <1.0 x 10² CFU / g for molds and yeasts, 3.7 and 8.0 x 10³ x 10² CFU / g for *Bacillus cereus* and 2.4 x and 1.1 x 10² 10³ CFU / g for *Clostridium sulfite reducer* 46 ° C. The samples had *Salmonella*. (CFU / g - Colony Forming Unit per gram, NMP / g - most probable number per gram). Statistical analysis was performed using the R program and the means compared by Tukey test at 5%. There were significant differences in the averages for the different parameters studied, except for the percentage of fibers when compared with the frost-free technique that uses cold air flow does not show significant variation. Results showed that freeze-drying technique was more efficient in the reduction of water activity and moisture as well as pollen retained high protein, fat and fiber in product. Intends to select the most affordable and effective technique for dehydration and preservation pollen *Melipona scutellaris* L. frost-free refrigerator is presented very effectively by the low cost of purchase before others.

Keywords: samburá, physico-chemical, microbiological, stingless bee.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1. Revisão de literatura

Figura 1 Localização de algumas espécies de meliponíneos no Brasil	24
Figura 2 <i>Melipona scutellaris</i> Latreille	25
Figura 3 Área de ocorrência natural de <i>Melipona scutellaris</i> Latreille no estado da Bahia	26
Figura 4. Fotos microscópicas do samburá	29
Figura 5 Abelha com massa de pólen na corbícula	30
Figura 6 Potes de pólen (samburá/samburá)	31
Figura 7 Potes de pólen (samburá/samburá)	31
Figura 8 Representação esquemática do liofilizador	39
Figura 9 Sistema de refrigeração doméstico	40
Figura 10 Desidratadora de pólen apícola com corrente de ar frio	42

Capítulo 2 Análises físico-química e mineral do pólen da *Melipona scutellaris* L. desidratado por diferentes técnicas.

Figura 1 Localização geográfica do meliponário Velho Simião Camaçari-Ba.	60
Figura 2 Meliponário Velho Simião, Camaçari-Ba.	60
Figura 3 Coleta do pólen em colônia da <i>Melipona scutellaris</i> Latreille.	61
Figura 4 Conjunto de amostras armazenada em refrigerador.	61
Figura 5 Amostra antes da liofilização.	62
Figura 6 Liofilização do pólen da <i>Melipona scutellaris</i> Latreille.	63
Figura 7 Desidratadora com corrente de ar frio.	63
Figura 8 Desidratação utilizando desidratadora com corrente de ar frio	64
Figura 9 Desidratação do pólen em refrigerador <i>frost-free</i>	64
Figura 10 Pólen da <i>Melipona scutellaris</i> L. desidratado em refrigerador <i>frost-free</i> ,	65
Figura 11 Pólen da <i>Melipona scutellaris</i> L., após diferentes técnicas de	65

desidratação

Figura 12 Tratamento x Umidade	69
Figura 13 Nível de Confiança – Umidade	70
Figura 14 Tratamento x Proteína	71
Figura 15 Nível de Confiança – Proteína	72
Figura 16 Tratamento x Lipídios	74
Figura 17 Nível de Confiança – Lipídios	74
Figura 18 Tratamento x Fibra bruta	75
Figura 19 Nível de Confiança – Fibra bruta	76
Figura 20 Tratamento x Acidez	77
Figura 21 Nível de Confiança – Acidez	78
Figura 22 Tratamento x pH	78
Figura 23 Nível de Confiança – pH	79
Figura 24 Tratamento x Cinzas	80
Figura 25 Nível de Confiança – Cinzas	80
Capítulo 3 Avaliação microbiológica das amostras do pólen da <i>Melipona scutellaris</i> L.	89
Figura 1 Velocidade de reações específicas, em função da temperatura e da atividade de água.	91
Figura 2 Tratamento x Aw	96
Figura 3 Nível de Confiança – Aw	96

LISTA DE TABELAS**Capítulo 1. Revisão de literatura**

Tabela 1 Minerais essenciais aos seres humanos com EIDAS para adultos	35
--	-----------

Capítulo 2. Análise físico-química e mineral de pólen de ASF desidratado por diferentes técnicas

Tabela 1 Composição mineral do samburá	81
Tabela 2 Alimentos que contém cobre (Cu)	83

Capítulo 3 Avaliação microbiológica das amostra do pólen da *Melipona scutellaris* L.

Tabela 1 Avaliação microbiológica do pólen da <i>Melipona scutellaris</i> L.	97
Tabela 2 Parâmetros microbiológicos do pólen apícola	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

APA: Análise de Produtos das Abelhas

APHA: American Public Health Association

ASF: Abelha sem ferrão

BA: Bahia

CAC: Codex Alimentarius Commission e (H.M.I.H.C)

CE: Ceará

DAT: Doenças Transmitidas por Alimentos

EBDA: Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola

EIDAS: Estimativa de Ingestão Diária Adequada e Segura

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FDA: Food and Drug administration

GO: Goiás

H.M.I.H.C: Harmonised methods of the international honey commission
International Honey Commission

IAL: Instituto Adolf Lutz

LABE: Laboratório de Abelhas

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MG: Minas Gerais

MT: Mato Grosso

PIQ: Padrões de Identidade e Qualidade

SC: Santa Catarina

SP: São Paulo

UFBA: Universidade Federal da Bahia

LISTA DE SÍMBOLOS

μm: micrômetro

°C: graus centígrados

Aw: atividade de água

Ca: Cálcio

cm: centímetros

Cu: Cobre

CuSO₄: Sulfato de cobre

F₂SO₄: Sulfato ferroso

Fe: Ferro

g/L: grama por litro

g: gramas

H₂O: água

H₃BO₃: ácido bórico

HCl: ácido clorídrico

m: metros

mg.g⁻¹: miligrama por grama

mg/kg: miligrama por kilo

mg: miligramas

mmHg: milímetros de mercúrio

Mn: manganês

N: normal

NaOH: Hidróxido de Sódio

ng.g⁻¹: nanograma por grama

P: pressão final

P₀: pressão inicial

T1: tratamento 1

T2: tratamento 2

T3:tratamento 3

Zn: zinco

B: beta

ÍNDICE GERAL

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	X
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
LISTA DE SÍMBOLOS	XV
RESUMO GERAL	VII
ABSTRACT	IV
INTRODUÇÃO GERAL	19
CAPITULO 1: Revisão de literatura	22
1. MELIPONICULTURA	23
1.1 <i>Melipona scutellaris</i> L. no Brasil	25
1.2 As abelhas e as plantas	26
2. O PÓLEN	28
2.1 Pólen de ASF: saburá/ samburá/ samora	30
2.2 Produção de pólen	32
2.3 Composição do pólen	33
2.4 Minerais	33
2.5 Importância funcional do pólen	36
3. PROCESSOS DE DESIDRATAÇÃO	37
3.1 Técnicas de desidratação	38
3.1.1 Liofilização	38
3.1.2 Desidratador em refrigerador <i>frost-free</i>	40
3.1.3 Desidratação por corrente de ar frio	41
4. SEGURANÇA ALIMENTAR DO PÓLEN	42
4.1 <i>Bacillus cereus</i>	43
4.2 <i>Escherichia coli</i>	44
4.3 <i>Salmonella</i> sp.	44
4.4 <i>Clostridium</i> sulfito redutor	45
4.5 Leveduras e bolores	47
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
6. REFERÊNCIAS	49

CAPITULO 2: Análise de físico-química e mineral do pólen de ASF desidratado por diferentes técnicas	58
1. INTRODUÇÃO	59
2. MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1 Coleta das amostras	67
2.2 Identificação da espécie	62
2.3 técnicas de desidratação	62
2.3.1 Liofilização	62
2.3.2 Desidratação por corrente de ar frio	63
2.3.3 Desidratação em refrigerador <i>frost-free</i>	64
2.4 Análises físico-química e mineral	65
2.4.1 Proteína total	66
2.4.2 Acidez livre e pH	66
2.4.3 Lipídios	66
2.4.4 Umidade	67
2.4.5 Fibra bruta	67
2.4.6 Cinzas	67
2.4.7 Minerais	68
2.5 Análise estatística	68
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.1 Umidade	68
3.2 Proteína	71
3.3 Lipídios	73
3.4 Fibra bruta	74
3.5 pH e acidez	76
3.6 Cinzas	79
3.7 Minerais	80
3.7.1 Manganês (Mn)	81
3.7.2 Zinco (Zn)	81
3.7.3 Cobre (Cu)	82
3.7.4 Magnésio (Mg)	83
3.7.5 Cálcio (Ca)	83
3.7.6 Ferro (Fe)	83

4. CONCLUSÃO	84
5. REFERÊNCIAS	85
CAPITULO 3: Avaliação microbiológica do pólen da <i>M. scutellaris</i> L. submetido a diferentes processos de desidratação	89
1. INTRODUÇÃO	90
2. MATERIAIS E MÉTODOS	92
2.1 Diluições decimais seriadas	93
2.2 Determinação do número mais provável (NMP) de Coliformes	93
2.2.1 Teste presuntivo	93
2.2.2 Teste confirmativo	93
2.3 Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	93
2.4 Contagem de clostridio sulfito redutor	94
2.5 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	94
2.5.1 Semeadura seletiva diferencial	94
2.5.2 Confirmação	95
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
3.1 Atividade de água	95
3.2 Análises microbiológicas	97
4. CONCLUSÃO	99
5. REFERÊNCIAS	101
CONCLUSÃO GERAL	103

INTRODUÇÃO GERAL

O pólen é o elemento masculino das flores, fundamental da reprodução sexuada da planta. É liberado pelas anteras que transporta de forma segura a informação genética para a geração seguinte. Sua composição é muito variada em função da espécie floral e localização geográfica, sofrendo, também, a influência da idade, das condições nutricionais da planta e do meio ambiente, entre outros (PORTELA e GALLEGO, 1999).

A demanda criada pelo consumidor consciente tem dado grande impulso ao mercado dos alimentos funcionais. Além de uma vida mais plena, o consumidor espera amenizar o sofrimento causado, assim como reduzir despesas com saúde (CARPES, 2008).

O conhecimento de nutrientes em alimentos é de fundamental importância para o estabelecimento de dietas adequadas aos indivíduos, para a recomendação de uma alimentação balanceada a grupos populacionais e desenvolvimento de novos produtos (LAJOLO, 1995).

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

Neste contexto, os produtos apícolas veem despertando maior interesse na área alimentícia. Produtos como mel, geleia real, pólen e própolis têm recebido atenção especial entre os pesquisadores e os consumidores devido a suas propriedades nutricionais e fisiológicas benéficas à saúde humana (PARK et al., 1998; KROYER e HEGEDUS, 2001).

Nem todos os países têm legislação própria para estes tipos de produtos. No Brasil, há legislação específica, são estabelecidos os limites para os parâmetros físico-químicos, porém nem todos os métodos de análise estão definidos (BRASIL, 2001).

Os polens de meliponíneos, ou seja, de abelhas sem ferrão (ASF), assim como seus meles, apresentam em geral alto teor de umidade que lhe confere um

aspecto pouco agradável para a comercialização e com maior probabilidade de deterioração. Por esta razão é importante desenvolver, testar e avaliar técnicas que reduzam a umidade para que este produto se torne mais atrativo comercialmente e conseqüentemente apresente maior tempo de conservação (vida de prateleira).

Por outro lado os estudos analíticos relativos à caracterização do mel e do pólen têm sido realizados principalmente para as abelhas *Apis mellifera* e poucos são os trabalhos que tratam do valor nutricional e de técnicas para estabilização dos produtos das ASF (SOUZA et al., 2004).

Assim, faz-se necessário avaliar as características físico-químicas do pólen coletado pela *Melipona scutellaris* L., predominante na região Nordeste, buscando estabelecimento de parâmetros físico-químicos, e microbiológicos relativos a diferentes técnicas de desidratação.

Baseado em tais observações, justifica-se um estudo amplo que avalie os parâmetros supracitados, e que forneçam resultados que contribuam para o estabelecimento dos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ), assim como para o desenvolvimento técnico-científico relativo aos processos de conservação no sentido de promover a segurança alimentar no âmbito da agricultura familiar, em especial na atividade da criação de abelhas sem ferrão, no Nordeste do Brasil.

Devido à importância e a falta de dados relativos ao estudo do pólen da *Melipona scutellaris* L., este estudo tem como objetivo analisar as características físicoquímicas e microbiológicas do pólen processado pela *Melipona scutellaris* L. (Uruçu). submetido a diferentes técnicas de desidratação, assim como caracterizá-lo através de análises da composição físico-química e microbiológica. De maneira mais específica, pretende-se determinar a composição centesimal, a concentração dos minerais Manganês (Mn), Magnésio (Mg), Ferro(Fe), Cálcio (Ca), Cobre (Cu) e Zinco (Zn); mensurar atividade de água (Aw) e realizar a contagem microbiana de Coliformes totais a 45°C, *Salmonella* ssp., *Bacillus cereus*, fungos e leveduras.

Ao mesmo tempo, se propõe a selecionar a técnica mais acessível e efetiva na desidratação e conservação do pólen da *Melipona scutellaris* L. (Uruçu) e cujos resultados contribuam para o estabelecimento dos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ), assim como, para o desenvolvimento técnico-científico relativo aos processos de conservação no sentido de promover a segurança alimentar no

âmbito da agricultura familiar, em especial na atividade da criação de abelhas sem ferrão, nesta região.

CAPITULO 1: Revisão de literatura

1. MELIPONICULTURA

Os meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão são abelhas pantropicais (ocorrem somente nas regiões tropicais e subtropicais) e eusociais (vivem em colônias permanentes com divisões de castas). Estima-se que existam mais de 300 espécies de meliponíneos (NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR, CARVALHO, NASCIMENTO, 1996; MICHENER, 1974).

As ASF pertencem ao reino Animalia Filo Arthropoda; Classe Insecta; Ordem Hymenoptera; Subordem Aprocrita; Superfamília Apoidea; Família Apidae; Subfamília Meliponinae; Tribo Meliponini, (PIANARO, 2007) . São popularmente conhecidas como “abelhas sem ferrão” (ASF), porque possuem seu acúleo (ferrão) atrofiado (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Estudos indicam que na América Central e do Sul as ASF foram intensamente cultivadas no passado, sendo os Maias, dentre as culturas indígenas mesoamericanas, os principais detentores do conhecimento a cerca da criação de ASF (SILVA, 2005). Os meliponíneos eram as únicas espécies de abelhas produtoras de mel empregadas até 1838, antes da introdução da abelha europeia (KERR et al, 2005). A sua criação constitui a Meliponicultura (NOGUEIRA-NETO, 1953).

Por ser tradicionalmente manejada por povos indígenas, também é chamada de “abelha indígena” (LOPES, 2005). No Brasil, os Kayapó representam um dos grupos indígenas que demonstraram, em passado recente, bom conhecimento referente ao manejo de abelhas sem ferrão e seu comportamento (SILVA, 2005).

As abelhas encontradas no Brasil merecem destaque especial pelo fato de serem pouco estudadas e também por serem responsáveis pela polinização da maioria das espécies vegetais nativas brasileiras (PIANARO, 2007).

Além de aproveitar a mão-de-obra familiar, gerar renda e fixar o homem no campo, aproveitando o potencial da vegetação da caatinga no semi-árido, a criação de abelhas é uma atividade crescente no nordeste do Brasil (PEREIRA et al, 2007).

Outros produtores rurais nordestinos utilizam a meliponicultura como uma atividade alternativa de renda, tendo em vista as dificuldades de obter uma agricultura rentável numa região que apresenta escassez de chuvas (MARINHO et al, 2002).

Esta atividade possibilita melhoria na qualidade de vida devido a exploração racional de seus produtos (MODRO, 2006), além de aumentar a produção agrícola e contribuir para a manutenção e preservação de espécies vegetais, por meio do processo de polinização (WILLIAMS, OSBORNE, 2002).

A distribuição das várias espécies de Meliponina no Brasil (Figura 1) depende das características climáticas e florística de cada região. Estas espécies são responsáveis por 40 a 90% da polinização da flora nativa do Brasil influenciando diretamente a produção de frutos e sementes (ROUBIK 1993 apud PIANARO, 2007).

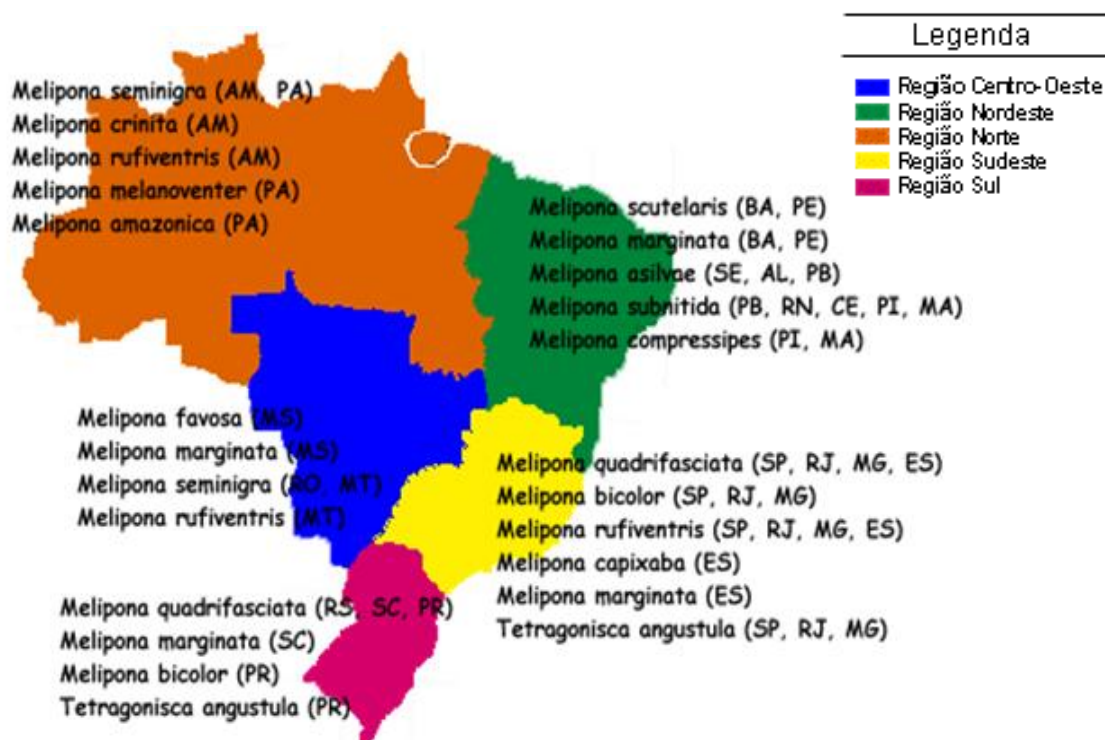


Figura 1 Localização de algumas espécies de meliponíneos no Brasil. (Campos, 1997 apud Pinaro, 2007)

1.1 *Melipona scutellaris* Latreille no Brasil

A espécie *Melipona scutellaris* Latreille, (Figura 2) conhecida como “Uruçu do Nordeste” ou “Uruçu verdadeira”, foi uma das primeiras espécies de abelhas a serem domesticadas pelos índios Potiguaras, Kiriri, Xucuru, Pataxó, Paiaku, Tupicuruba e Aymoré. Os colonizadores portugueses, que apreciavam o mel dessa espécie, logo aprenderam as técnicas de criação, o que levou a *Melipona scutellaris* Latreille ser uma das espécies de abelhas sem ferrão mais criadas no nordeste (FONSECA et al., 2011).



Figura 2 *Melipona scutellaris* L. Disponível em: <http://www.webbee.org.br/urucu/colecao_01.htm>

A Uruçu do Nordeste faz seu ninho em ocós de árvores velhas de até 80 m de altura. Estes são construídos basicamente de cera pura ou cerume (cera, própolis e barro), cuja a entrada é formada com barro e própolis moldando em forma de estrias ou sulcos (KERR, CARVALHO, NASCIMENTO, 1996). Produz mel e pólen de ótima qualidade, pela quantidade de abelhas presentes na colônia e sua higiene, dentre outras características que a beneficiam e se destacam das demais melíponas (FONSECA et al., 2011).

A *Melipona scutellaris* L. é encontrada, principalmente, no Nordeste (SOUZA e BAZLEN, 1998). Na Bahia, a ocorrência desta espécie é considerada como restrita a municípios da área costeira e chapada diamantina, onde existem matas úmidas como ilustra a figura 3 (ALVES, 2010). Castro (2002) cita 13 espécies do gênero *Melipona* na Bahia, sendo seis destas presentes na faixa litorânea.



Figura 3 Áreas de ocorrência natural de *Melipona scutellaris* L. no estado da Bahia - Brasil (ALVES, 2010).

1.2 As abelhas e as plantas

A relação abelha-flor já chamava a atenção de filósofos e naturalistas há centenas de anos, mas somente no século XX fatos e teorias deram origem a modelos históricos dessa relação e sua importância para os organismos envolvidos (ITAGIBA, 1997).

Acredita-se que o surgimento e a proliferação das abelhas na superfície da terra aconteceram, concomitantemente, com o aparecimento das angiospermas há milhões de anos (PIRANI, 1993).

A flora apícola é definida como o conjunto de espécies vegetais que as abelhas utilizam como fonte de néctar e/ou pólen para sua sobrevivência e produção de mel. Sabe-se, no entanto, através dos poucos levantamentos e da prática dos apicultores, que são numerosas as espécies que exercem atração sobre as abelhas e podem entrar na geração de excedentes de mel nas colméias ou pelo menos ajudar na manutenção dos enxames (ANACLETO, 2007).

As abelhas necessitam de 10 aminoácidos essenciais: arginina, histidina, lisina, triptofano, felinamina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina, os quais são todos obtidos do pólen. Uma dieta deficiente em qualquer um destes aminoácidos pode gerar sintomas específicos de carência, uma vez que as abelhas não poderão sintetizar as proteínas que os contenham (HAYDAK, 1970 APUD MARCHINI REIS & MORETI, 2006).

As espécies de abelhas são diversas e abundantes nos neotrópicos. Cada grupo de espécies visita um pequeno número de plantas adaptadas evolutivamente à sua morfologia e comportamento, sendo registrada a ocorrência de mais de 7000 espécies de abelhas na região neotropical (O'TOOLE & RAW, 1991).

As interações ecológicas entre plantas e polinizadores constituem um dos principais processos para manutenção da biodiversidade, sendo a polinização a base para o sucesso reprodutivo das plantas, que abrange desde a transferência do pólen até a consequente formação dos frutos e sementes (KEVAN & PHILIPS, 2001).

Portanto, o mau funcionamento deste sistema mutualístico pode levar a distúrbios na integridade do ecossistema e a posterior perda de diversidade. O desaparecimento de polinizadores, resultado da degradação da fauna, pode impor prejuízos às populações de plantas (BAWA, 1990). Assim, torna-se importante a conservação das abelhas, já que são reconhecidas polinizadoras em ambientes naturais (HEARD, 1999).

Muitos esquemas de conservação utilizam práticas de manejo da paisagem para conservar e realçar as comunidades florais, conseqüentemente melhorando a disponibilidade de alimento e recursos utilizados na construção dos ninhos de abelhas do grupo Meliponina (POTTS et al., 2005).

Trabalho realizado por Marinho et al (2002) identificaram as famílias Bromiliaceae, Burseraceae, Convolvaceae, Caparidaceae, Combretaceae, Rhamnaceae, Leguminosae, Anacardiaceae, Papilionoideae, Apocynaceae e Euphorbiaceae como as que tiveram representantes de espécies vegetais ocorrente nas Caatingas e visitadas pelas abelhas indígenas sem ferrão.

A espécie *Melipona scutellaris* L. apresenta preferência pela vegetação característica de Mata Atlântica e capoeira em detrimento da vegetação de campo, e é bastante seletiva com relação à escolha de fontes alimentares. Foram encontradas evidências de pasto apícola para a *M. scutellaris*, as plantas: Guamirim (*Mosiera* sp.); Taquari (*Ichnanthus* sp.); Caliandra (*Caliandra brevipes*); Cambará (*Wulffia stenoglossa*); Marmeleiro (*Croton alagoensis*); Jaquemotia (*Jaquemontia* sp.) (RODRIGUES et al., 2003). *Cayaponia cabocla* (RODRIGUES et al., 2010).

2. O PÓLEN

Denomina-se pólen os grãos que são encontrados nas anteras (localizadas nos estames florais) que, em geral, são de coloração amarelo (Figura 4). Cada grão de pólen, além de conter os cromossomos que constituíram a herança masculina da futura planta, contém uma pequena quantidade de substâncias de reserva, principalmente lipídeos ou água com proteínas e carboidratos (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Possuem diâmetro entre 6 a 200 μ m, com formas e cores variando entre o branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, dependendo da sua origem botânica e da composição química dos pigmentos encontrados na exina. Alguns compostos são hidrossolúveis, representados pelos flavonóides e outros lipossolúveis como carotenóides e xantofilas (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; MURADIAN et al., 2005).

Ao coletar o pólen de várias flores, as abelhas acabam transportando-o e transferindo-o de uma flor para outra, realizando a polinização entomófila (NOGUEIRA-NETO, 1997).

O pólen sempre foi um assunto de grande interesse para os apicultores. Sugando o néctar das flores, as abelhas carregam também o pólen, sendo este regurgitado nos alvéolos melíferos e, desta maneira, o pólen aparecerá no mel. Partindo-se deste “contaminante” do mel, é possível identificar a espécie botânica apícola da qual foi obtido o mesmo e dados sobre a participação de cada uma das espécies botânicas visitadas pelas abelhas durante a coleta do néctar, constituindo-se, desta maneira, num importante indicador para a origem botânica e geográfica do mel (SILVEIRA, 1996).

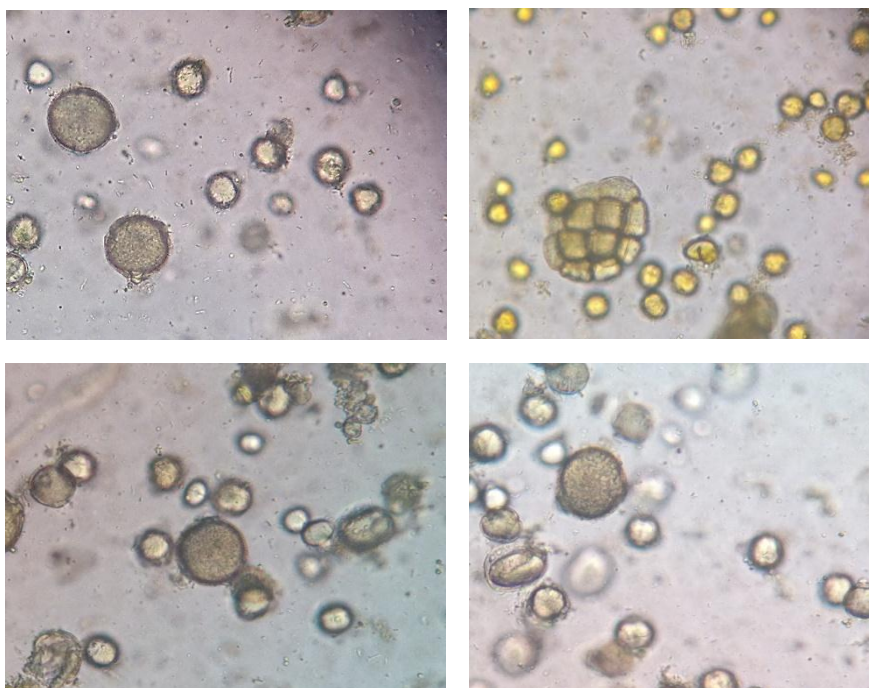


Figura 4 Fotos microscópicas do pólen da *Melipona scutellaris*. Fonte: Acervo de fotografias LABE/Rodrigo

As análises qualitativas e quantitativas dos tipos polínicos encontrados em amostras de pólen transportadas por operárias são instrumentos utilizados para a caracterização da flora visitada para a coleta de pólen (CARVALHO et.al., 2006).

Para o homem, muitos benefícios são atribuídos ao consumo do pólen, como fortificante extraordinário do organismo, estimulante e gerador de bem

estar e vigor físico, além de corrigir a alimentação deficiente, o que resulta em equilíbrio funcional (KROYER & HEGEDUS, 2001)

A sociedade como um todo tem buscado alternativas alimentares mais saudáveis; assim, está ocorrendo um consumo crescente por produtos orgânicos, dentre estes estão os produtos decorrentes da criação de abelhas indígenas (Meliponicultura) (RODRIGUES & KELLER, 2008).

2.1 Pólen de ASF : saburá / samburá / samora

As abelhas dependem essencialmente do néctar, mas o principal alimento protéico para as adultas e suas larvas é o pólen (NOGUEIRA-NETO, 1997). Após sua coleta nas flores pelas abelhas campeiras, ele é transportado para a colônia onde é estocado, sofrendo alterações físico-químicas, devido a processos fermentativos (PENEDO, TESTA & ZUCOLOTO, 1976). Esses processos diferem segundo o grupo a que pertence a abelha, e permitem uma melhor assimilação dos nutrientes e melhor preservação do alimento estocado (MACHADO, 1971).

As integrantes da família *Apidae* transportam o pólen quase sempre nas corbículas (Figura 5) das tíbias das patas traseiras, ladeada por pêlos grandes (NOGUEIRA- NETO, 1997). O armazenamento do alimento é feito em células de cera que parecem pequenos potes redondos quando estão com mel e pequenos tubos quando estão com pólen (Figura 6), (FREITAS, 2003).



Figura 5 Abelha com massa de pólen na corbícula. Em detalhe corbícula de *Melipona scutellaris* L. Fonte: <http://www.webbee.org.br/urucu/colecao_01.htm>



Figura 6 Potes de pólen (saborá /samora) de *Melipona scutellaris* L. FONTE: <http://www.flickr.com/photos/fo_tolimponativebee>

Os grãos de pólen manipulados pelos meliponíneos recebem o nome de samora nos estados do Centro-Sul e Sudeste, e de saborá ou samburá na Amazônia e no Nordeste. Os meliponíneos empregam suas mandíbulas para trabalhar o pólen, assim utilizam neste processo secreções provenientes das glândulas mandibulares e hipofaríngeas (NOGUEIRA-NETO, 1997)

Nos pots de estocagem de pólen é colocada a massa de pólen, sucos digestivos e microrganismos (Figura 7). Posteriormente, os pots são fechados para que ocorra a fermentação. Inicialmente sob condições de aerobiose ocorre sucessão de tipos bacterianos, diminuição do pH e da tensão de oxigênio. O produto resultante é rico em pólen e microrganismos, com pH em torno de 5,0 a 6,0 (SILVA & ZUCOLOTO, 1994).

A massa fermentada apresenta cor marrom levemente amarelado, odor característico, pH em torno de 2,6, com baixo número de microrganismos (alguns anaeróbios) e está pronto para ser consumido pelas abelhas (MACHADO, 1971, SILVA & ZUCOLOTO, 1994).



Figura 7 Potes do pólen/samburá, Fonte: acervo de fotografias do LABE/Rodrigo e Marília

2.2 Produção de pólen

A produção de pólen varia de 30g a 300g por colônia, e pode ser influenciada por diversos fatores como, a qualidade e as condições da rainha (idade, saúde e postura) e o estado sanitário e nutricional da colônia (CORNEJO, 1994; SOUZA, 2007; COUTO & COUTO 2002).

As características extrínsecas à colônia como o conhecimento técnico por parte do produtor, a flora, o calendário apícola regional e as condições climáticas favoráveis as práticas apícolas podem também influenciar na produção de pólen (CORNEJO, 1994; SOUZA, 2007).

Os maiores produtores de pólen apícola são a China, os Estados Unidos, o México, a Argentina, a Austrália e a Espanha (SCHMIDT, BUCHMANN 1992, EATON e LAW 2000).

No Brasil, a produção de pólen apícola teve início modesto no final da década de 80. Atualmente, o mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, vem estimulando e promovendo essa modalidade da cadeia produtiva. (ARRUDA, 2009). Contudo, a comercialização de samburá ainda não é uma realidade.

BARRETO et al. (2006) avaliaram o perfil da produção do pólen apícola no Brasil e observaram que, no âmbito nacional, Santa Catarina aparece como principal estado produtor. No nordeste, a Bahia se destaca por abastecer o mercado interno e exportar pólen para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais.

Estima-se que a produção brasileira seja superior a 200 toneladas por ano (PASIN, 2011). Entretanto existem regiões brasileiras não consagradas como produtoras de pólen com alto potencial produtivo como Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Ceará. (BARRETO et al. 2006).

Atualmente o pólen é processado por várias técnicas, desde as mais remotas formas artesanais até o emprego de tecnologia específica, indicando o

amplo espaço a ser desenvolvido nesse segmento da cadeia (BARRETO et al, 2006).

Na Bahia, foi inaugurada em 2009 a primeira Unidade de Processamento Oficial de Pólen Apícola em Canavieiras e no ano seguinte houve a criação da Rede Nacional de Pesquisadores e Cadeia Produtiva do Pólen Apícola (RENAPOLEN) (BARRETO, 2011).

2.3 Composição do pólen

O pólen é o resultado da aglutinação do pólen das flores, néctar e substâncias salivares. O pólen recolhido na entrada da colméia é manipulado pelas abelhas operárias (BRASIL 2001).

Um dos primeiros países a estabelecer normas para a padronização do pólen apícola foi a Espanha, pois a carência de normativas específicas sobre a qualidade do produto espanhol resultou na expansão da comercialização de produtos de baixa qualidade e conseqüente perda do mercado europeu (BARRETO, 2005).

Para ser comercializado no Brasil, o pólen apícola deve apresentar os seguintes requisitos físico-químicos: umidade máxima de 30% para o pólen fresco e umidade máxima de 4% para o pólen seco; teor de cinzas máximo de 4%; lipídios mínimo de 1,8%; proteínas mínimo de 8%; açúcares totais de 14,5% a 55,0%; fibra bruta mínimo de 2% e pH de 4 a 6 (BRASIL, 2001).

A caracterização físico-química e biológica do pólen faz-se importante na busca do controle de qualidade e até mesmo em uma padronização do pólen brasileiro para possíveis utilizações nas indústrias alimentícias e farmacêuticas (ALENCAR, 2002).

2.4 Minerais

O pólen é rico em sais minerais (cálcio, cloro, cobre, ferro, magnésio, iodo, molibdênio, selênio, estrôncio, estanho, boro, flúor, vanádio, cromo, fósforo, potássio, enxofre, alumínio, ferro, manganês, e zinco), aminoácidos e

vitaminas (A, B, C, D, E), uma fonte preciosa de oligo-minerais (cobalto, níquel, silício, titânio, etc) com mais de vinte e dois elementos (RIBEIRO e SILVA, 2007).

Os oligo-minerais são elementos químicos que o organismo humano necessita em pequenas quantidades e que não existem na maioria dos produtos alimentícios. A medicina orto-molecular, hoje em dia, está demonstrando a importância desses elementos para o bom funcionamento do organismo (LEGLER, 2000).

Estudos de dieta estão sendo conduzidos por diversos centros de pesquisa com o objetivo de estimar a ingestão de elementos essenciais e tóxicos, verificar as interações entre os elementos e definir uma dieta que seja representativa para um determinado grupo (FAVARO et al., 2000). Por outro lado, estão também preocupados com os níveis de certos metais pesados em alimentos (YUYAMA et al., 1997)

Os minerais são elementos inorgânicos amplamente distribuídos na natureza e que, no organismo, desempenham uma variedade expressiva de funções metabólicas que incluem ativação, regulação, transmissão e controle (LOBO & TRAMONTE, 2004). Na tabela 1 estão relacionados os minerais essenciais aos seres humanos.

São encontrados no solo e incorporados às plantas durante seu desenvolvimento. Os animais obtêm seus suprimentos minerais das plantas que comem, enquanto os seres humanos os obtêm de alimentos de origem vegetal e animal (WILLIAMS, 2002).

Os minerais desempenham duas das três funções básicas dos nutrientes alimentares: muitos são usados como “blocos” construtores dos tecidos corporais, como ossos, dentes, músculos e outras estruturas orgânicas; alguns minerais são componentes de enzimas conhecidas como metaloenzimas, que estão envolvidas na regulação do metabolismo. Outros, ainda, existem como íons, ou eletrólitos. São componentes importantes ou ativadores de vários hormônios ou enzimas (WILLIAMS, 2002).

Os alimentos naturais são as principais fontes de minerais para o organismo, tanto os de origem vegetal como animal. Nestes alimentos, o mineral se apresenta na forma de um complexo orgânico natural que já pode ser utilizado pelo organismo (FIORINI & LOHMANN, 2008).

Tabela 1 Minerais essenciais aos seres humanos (EIDAS) para adultos.

<i>MINERAIS ESSENCIAIS AOS SERES HUMANOS COM EIDAS PARA ADULTOS</i>			
Mineral	Símbolo	EIDAS (mg)	Quantidade para adultos (g)
<i>Cálcio</i>	Ca	800	1500
Fósforo	P	850	850
Potássio	K	2000	180
Cloreto	Cl	750	75
Sódio	Na	500	65
<i>Magnésio</i>	Mg	350	25
<i>Ferro</i>	Fe	10	5
Fluor	F	1,5-4,0	2,5
<i>Zinco</i>	Zn	15	2
<i>Cobre</i>	Cu	1,5-3,0	0,1
Selênio	Se	0,070	0,013
<i>Manganês</i>	Mn	2,0-5,0	0,012
Iodo	I	0,15	0,011
Molibdênio	Mo	0,075-0,25	0,09
Cromo	Cr	0,05-0,2	0,06

Fonte: WILLIAMS, 2002

Um estudo de dietas utilizadas no Brasil mostrou os minerais que se apresentaram mais deficitários na alimentação foram: zinco, selênio, cobre e cálcio. As deficiências de selênio e zinco podem atingir, inclusive, indivíduos de elevado poder aquisitivo, dependendo das quantidades ingeridas de determinados alimentos (FERREIRA, 2000).

Em 1977, 26 elementos foram definidos como essenciais ao ser humano. Na faixa de gramas/100g de produto, os seguintes elementos: C, H, N, O, P, Ca, S, Cl, K, Mg e Na; na faixa de mg g⁻¹ e ng g⁻¹ os elementos: Fe, I, Zn, Se, Mn, Cu, Cr, Mo, Co, Ni, F, Sn, Si, V e As (FAVARO et al., 2000).

Existem poucos estudos sobre a real composição dos minerais no pólen de abelhas sem ferrão.

2.5 Importância funcional do pólen

O pólen é rico em proteínas, que servem de matéria prima para o crescimento e restauração dos tecidos animais. De acordo com Goodman (2003), o pólen contém proteínas, lipídios, incluindo esteróis, amido, açúcar, vários minerais e vitaminas. Muradian et al. (2005) encontraram proteínas, lipídios, minerais e carotenóides totais em bolotas de pólen apícola. (MODRO, 2006).

Possui em sua composição vitaminas antioxidantes (β -caroteno como pró-vitamina A, vitaminas C e E) e também as vitaminas D e do complexo B (MURADIAN, 2009).

Os produtos da colméia, incluindo o pólen, são usados, enquanto alimento divino, desde há muitos séculos, criando uma ligação entre a dieta, a medicina e a terapia (FRIGERIO, 2009).

Quando se compara os mais variados alimentos, o pólen é rico em proteínas, possui baixo teor de gordura e alto teor em minerais e vitaminas. Sugeriu-se que o pólen apícola pode melhorar a alimentação materna sem afetar o desenvolvimento normal do feto, por ser um nutriente prático e eficaz para as mulheres durante a gravidez (BELL et al., 1983 apud CARPES, 2008).

Além de sua utilidade como suplemento alimentício, o pólen é usado em outros setores, seja: na farmacologia é utilizado como ingrediente em produtos apifito-aromáticos (encapsulados, tinturas, óleos essenciais); cosmética: para filtros solares, cremes, máscaras, batons, sabonetes, xampus; alimentos: barras de cereais, chocolates, bolachas, saladas, pastas; na atividade apícola como alimento para as abelhas em período de estiagem; no monitoramento da poluição ambiental (CASTRO et al, 2002 e BARRETO et al., 2011).

O pólen apícola possui ainda atividade imunomoduladora. Quando introduzido na dieta de camundongos, normalizou a atividade de algumas

enzimas do sistema da glutathione, diminuiu os níveis do malonodialdeído e normalizou o nível de grupos tiólicos (SH-G) em camundongos idosos, além de melhorar significativamente o teor de uréia sérica e proteínas. Foram também relatadas como propriedades benéficas do pólen a redução dos níveis plasmáticos de lipídios e, conseqüentemente, o tamanho da placa arteriosclerótica e diminuição a agregação plaquetária *in vivo* e *in vitro* (FRIGERIO, 2009).

Lin et al. (1990) observaram redução do tamanho da próstata de cães idosos acometidos de câncer sem, contudo, alterar os níveis plasmáticos de estradiol ou de testosterona, assim como nenhuma toxicidade aparente. Yamaguchi *et al.*, (2006) por sua vez, verificaram aumento significativo da atividade da fosfatase alcalina, enzima que participa na mineralização óssea, enquanto que Majeska e Wuthier (1975) perceberam esse aumento no teor de ADN em tecido diafiseal e metafiseal do fêmur de rato cultivado *in vitro*. Haro *et al.* (2000) concluíram que o pólen apícola aumenta a utilização digestiva do ferro, mostrando-se útil no tratamento da anemia ferropênica nutritiva.

As ações benéficas do pólen apícola à saúde humana são conhecidas porém há questões básicas que precisam ser esclarecidas visando assegurar a qualidade do produto para o consumo, a partir do monitoramento da produção, elaboração e armazenamento do mesmo (ANDRELLA *et al.*, 2009).

3. PROCESSOS DE DESIDRATAÇÃO

Os produtos alimentícios em pó são atualmente cada vez mais utilizados pela indústria nacional de alimentos, tendo em vista que tais produtos reduzem significativamente os custos de certas operações, tais como: embalagem, transporte, armazenamento e conservação, elevando o valor agregado dos mesmos e prolongando sua vida de prateleira (COSTA, 2003)

A secagem ou desidratação é uma técnica utilizada desde a antiguidade para a conservação de alimentos, uma vez que a água afeta de maneira decisiva o tempo de preservação dos produtos, influenciando diretamente sua qualidade e durabilidade (PONTES *et al.*, 2007).

A desidratação de alimentos é um processo combinado de transferência de calor e massa, no qual a disponibilidade de água no alimento é reduzida. A remoção parcial ou total de água de um alimento implicará na inibição do crescimento microbiano, na prevenção de reações bioquímicas responsáveis pela deterioração, constituindo um método importante para prolongar a vida útil de diversos produtos (PONTES et al, 2007).

Além de ser utilizada como um método de conservação, impedindo a deterioração e perda do valor comercial, a desidrataação objetiva também o refinamento do alimento, resultando em um novo produto no mercado, o que usualmente vem motivando os investimentos de produção e beneficiamento agrícola, face aos benefícios monetários que derivam da transformação do produto (SOARES, 2001).

3.1 Técnicas de Desidrataação

Como o pólen das ASF apresenta em sua composição alto teor de umidade, o que provoca sua rápida fermentação e deterioração, o processamento de desidrataação é indispensável. As técnicas de desidrataação mais comumente utilizadas pelos apicultores, para preservar o pólen e aumentar seu prazo de validade, é a desidrataação ao ar livre ou o aquecimento artificial (COLLIN et al., 1995).

Algumas outras técnicas de desidrataação mais recentes têm sido aplicadas a este produto, na busca de um alimento mais estável.

3.1.1 Liofilização

O fundamento físico que explica o processo conhecido como liofilização é a coexistência dos três estados físicos da água (sólido líquido e gasoso) Sob temperaturas de aproximadamente 0°C e pressão de 4,7 mmHg (milímetros de mercúrio) obtém-se o chamado ponto triplo da água, possibilitando sua passagem diretamente do estado sólido para o gasoso, sem passar pela fase líquida (MELONI, 2003).

Assim a liofilização consiste em um processo de separação por sublimação, onde a água ou a substância aquosa é retirada como vapor do produto congelado passando da fase sólida para a fase gasosa (BORTOLATTO & LORA, 2009).

O congelamento deve ser rápido, para que se formem microcristais de gelo, que não danifiquem a membrana celular do alimento. Se o congelamento for lento, os cristais formados são grandes e rompem a membrana celular, acarretando perda do líquido citoplasmático e, conseqüentemente, encolhimento do alimento, que fica com aspecto de “murcho” (FRUTAL, 2003).

Os principais componentes de um liofilizador são: a câmara de vácuo, uma fonte de aquecimento, o sistema gerador de vácuo e componente para coletar o vapor d’água que é sublimado do produto (Figura. 8) (MELONI, 2003).

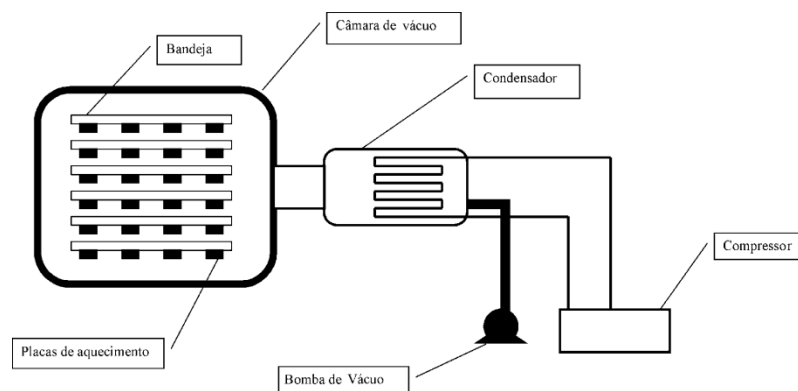


Figura 8 Representação esquemática do liofilizador , FONTE:MELONE, 2003.

O processo de liofilização possui várias vantagens ligadas à estrutura do produto, como a característica esponjosa que permite a reconstituição rápida, realce do sabor e aparência fiel do produto original. Outras vantagens ligadas às baixas temperaturas de operação são a redução de perdas vitamínicas e de constituintes voláteis, diminuição de desnaturação protéica e capacidade digestiva que se torna mais elevada .Os produtos liofilizados, por apresentar no seu processo características de preservação dos nutrientes, são de grande interesse para os consumidores na ligação entre dieta e saúde (BORTOLATTO & LORA, 2009).

A aplicação da liofilização para produtos alimentícios ainda é cara e, portanto tem sido aplicada com mais frequência para produtos nobres e que necessitem de uma reidratação rápida e completa. Apesar de se encontrar no mercado frutas em pedaços liofilizadas e alguns tipos de vegetais, as carnes bovinas e de aves são mais empregadas. Camarões inteiros e cogumelos fatiados apresentam excepcional qualidade quando liofilizados (MELONI, 2003).

3.1.2 Desidratação em refrigerador *frost-free*

Um sistema de refrigeração compreende quatro elementos principais: compressor (motor), evaporador, tubo capilar ou válvula de expansão e condensador (Figura 9).

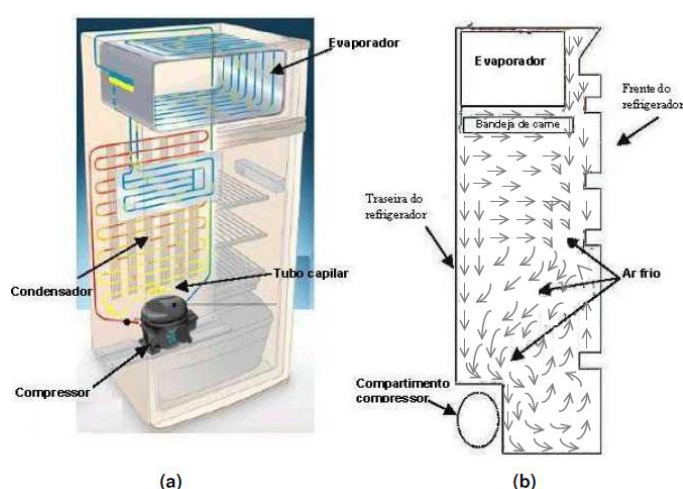


Figura 9 Sistema de refrigeração doméstico: (a) principais elementos de um sistema de refrigeração, (b) fluxo natural do ar no refrigerador. Fonte: (LUIZ, 2005)

O refrigerador *frost free* ou *no-frost* possui um projeto de gabinete que utiliza evaporador alertado, não apresentando nenhum congelamento aparente. O evaporador deste sistema é equipado com degelo automático, que é geralmente realizado por um aquecedor elétrico controlado por um temporizador. O fluxo de ar frio no interior do gabinete é feito por convecção forçada. A umidade do refrigerador *frost free* é baixa, pois, como o degelo é automático, este sistema está constantemente retirando umidade do ar e eliminando-a através da água do degelo (LUIZ, 2005). Por conseguinte

alimentos mantidos neste ambiente desidratam ao perder água por evaporação.

A refrigeração não tem ação esterilizante sobre o microorganismo e, por isso, não pode melhorar o alimento em condições precárias de sanidade, mas consegue, sim, retardar o progresso de atividades contaminantes já instaladas, e impedir o surgimento de novos agentes deteriorantes (MACEDO et al., 2000).

3.1.3 Desidratação por corrente de ar frio

A desidratação com corrente de ar frio é realizada por um equipamento com uma câmara hermética e com ar seco a temperatura ambiente circulando em circuito fechado. Dentro da câmara ficam bandejas de chapa perfurada (para melhor higienização), onde se espalha o pólen. A umidade extraída do pólen é coletada pelo dreno do equipamento. Testes operacionais deste equipamento demonstraram que o processo desenvolvido pela APILANI mantém maior quantidade de vitaminas no pólen desidratado, secando mais rápido gastando menos energia e minimizando o risco de contaminação durante o processo (OLIVEIRA JR., 2009).

O pólen é espalhado em bandejas de chapa perfurada por onde circula o ar seco e na temperatura ambiente absorvendo a umidade do pólen. O ar dentro da câmara circula em circuito fechado impedindo a entrada de ar do exterior (geralmente contaminado por poeira e outros elementos). A baixa temperatura de desidratação reduz as perdas das vitaminas A (beta caroteno) e E contidas no pólen, assim como guarda as enzimas presentes no pólen. Após a secagem, a coloração do pólen é bem agradável e compatível com a cor da flor de procedência. O processo de secagem se dá em tempo uniforme e não é influenciado pela umidade relativa do ambiente, visto que funciona com circulação de ar fechada (OLIVEIRA JR., 2009).

Assim, os processos de secagem devem ser otimizados para permitirem a obtenção de produto livre de contaminantes microbiológicos, juntamente com a higienização do material nas diferentes etapas de produção e processamento do pólen, com foco na busca de materiais que substituam a madeira que é

extremamente porosa, de forma a permitir higienização adequada e satisfatória (HERVATIN, 2009)



Figura 10 Desidratadora de pólen apícola com corrente de ar frio (Apilani). Fonte: OLIVEIRA JR., 2009.

4. SEGURANÇA ALIMENTAR DO PÓLEN APÍCOLA

Considerando que milhares de tipos de organismos estão naturalmente presentes em nosso ambiente, sob o ponto de vista microbiológico, o termo *alimento seguro* significa ausência total de microrganismos capazes de ocasionar toxinfecções alimentares. Milhares de tipos de organismos estão naturalmente presente em nosso ambiente (CARNEIRO, 2008).

A qualidade microbiana é uma dentre as várias exigências relacionadas com os critérios de segurança a serem considerados nos alimentos; além de alterar as propriedades do produto, pode constituir risco para a saúde do consumidor, principalmente em se tratando de microrganismos patogênicos (RODRIGUES & KELLER, 2008).

A presença de fungos e leveduras no intestino de abelhas, nos ninhos e no alimento das larvas tem sido relatado na literatura, na maior parte dos casos, como patógenos. Em alguns casos tem sido possível presumir relações mutualísticas entre esses microrganismos e abelhas. Para meliponinae, foram descritas associações de bactérias no pólen de *Melipona quadrifasciata*. A presença de bactérias, em ninhos de abelhas sociais, que vivem em ambientes tropicais úmidos é essencial para a promoção da ensilagem e manutenção da qualidade nutritiva do alimento estocado. Desde então, tem sido aceito que o

pólen pastoso e úmido encontrados nos potes dos ninhos de Meliponinae deve-se a uma associação com bactérias (CAMARGO, 1992).

No pólen de meliponíneos parece ocorrer uma associação com algumas bactérias, pelo menos para algumas espécies de *Melipona*. Acredita-se que, em *Apis Mellifera*, a associação de pólen armazenado com microorganismos pode ser responsável pela fermentação ou pré-digestão de alimentos armazenados; dessa forma, estes processos ajudam na melhoria da digestibilidade de pólen por meio da produção de algumas enzimas pelos microorganismos. Esta associação também pode contribuir ao agregar ao pólen certas propriedades organolépticas, que são específicos para cada espécie de abelha. Entre outros fatores, tais microorganismos podem produzir substâncias químicas como os ácidos graxos e antibióticos que inibem organismos concorrentes e contribuem para a melhoria preservação deste produto (SILVA & SERRÃO, 2000).

A *Ptilotrigona lurida* possui algumas peculiaridades como: estocar grandes quantidades de pólen (de 2,0 a 3,0 kg em alguns ninhos), muito seco e sempre associado a fungos. O pólen é tão seco que as cargas depositadas pelas abelhas são mantidas em bolas individualizadas e as paredes dos potes tornam-se amassadas e enrugadas (CAMARGO, 1992).

4.1 *Bacillus cereus*

O *Bacillus cereus* é uma bactéria aeróbia facultativa, formadora de esporos, comumente encontrada em solos, vegetais e em vários alimentos processados e crus. Este microorganismo é capaz de produzir toxinas, incluindo enterotoxinas, fosfolipases, proteases e hemolisinas. O consumo de alimentos que contenham uma concentração superior a 10^6 *B. cereus*/g pode resultar em intoxicação alimentar. Esta espécie está entre as predominantes em surtos de intoxicação alimentar, causando diarreia e emese sendo estas alterações atribuídas à ação das enterotoxinas (AGATA *et al.*, 2002 e RADHIKA *et al.*, 2002).

Pesquisas e estudos realizados por alguns autores mostraram que as bactérias do gênero *Bacillus* e, provavelmente, outros microorganismos, têm um papel muito grande na produção de enzimas extracelulares. Estas comandam, como agentes catalisadoras, uma série de reações bioquímicas que podem converter os alimentos das abelhas em produtos mais digeríveis e estáveis, para serem guardados e utilizados. Assim o pólen guardado, ou seja, a samora/saburá é um produto cuja elaboração exige reações químicas complexas que requerem a participação de várias espécies de bactérias (NOGUEIRA-NETO, 1997).

4.2 *Escherichia coli*

As bactérias do gênero *E.coli* pertencem à família Enterobacteriaceae e são microrganismos anaeróbios facultativos, reduzem nitrato a nitrito, fermentam glicose e é oxidase-negativa. Metaboliza uma ampla variedade de substâncias como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos e ácidos orgânicos. Produz catalase, utiliza glicose como fonte de carbono (BRASIL, 2001).

O principal habitat de *E. coli* é o trato intestinal dos humanos e de outros animais de sangue quente. A maioria dos sorogrupos de *E. coli* faz parte da flora comensal do intestino dos mamíferos. No entanto, certos sorotipos são patogênicos para o homem e para outros animais e estes não são considerados como fazendo parte da flora intestinal normal. A transmissão das infecções causadas por *E. coli* seguem principalmente três vias: o contato direto com animais, o contato com humanos e o consumo de alimentos contaminados (CARNEIRO, 2008).

4.3 *Salmonella sp*

As bactérias do gênero *Salmonella* têm ampla distribuição mundial, são correntes nos ambientes de produção animal, constituindo-se também em potencial problema sanitário para a saúde pública (BOROWSKY et. al., 2006).

A transmissão de *Salmonella sp.* ao homem ocorre principalmente pela ingestão de produtos de origem animal contaminados, o que pode resultar em

toxinfecções alimentares, sendo considerada uma das mais importantes causas de doença de origem alimentar entre humanos (BOROWSKY et al., 2006).

No Brasil, são escassos os dados epidemiológicos mostrando a importância do problema das salmoneloses em humanos, uma vez que a notificação de intoxicação por alimentos contaminados não é obrigatória (Piccollo *et al.* 1992). No entanto, levantamentos efetuados nos Estados Unidos estimam entre 2 a 4 milhões o número de casos anuais desta doença. De acordo com o “United States Department of Human Service Center for Disease Control”, em Atlanta, 1/3 dos casos de doenças transmitidas por alimentos é devido a *Salmonella* spp (Food and Drug administration – FDA, 2003). Além do problema no âmbito da saúde pública, a salmonelose provoca danos consideráveis na área econômica. Cerca de 4 bilhões de dólares é o prejuízo anual economia norte americana decorrente do problema da salmonelose no homem e em animais (TIROLI & COSTA, 2006).

Intoxicações alimentares causadas por *Salmonella* spp ocorrem mesmo em países desenvolvidos. No Brasil, supõe-se que a ocorrência de salmonelas seja relevante devido às deficiências de saneamento básico e as más condições higiênico-sanitárias da maioria da população, aliadas ao precário controle de qualidade de algumas indústrias alimentícias e de pequenos abatedouros de aves (TIROLI & COSTA, 2006).

4.4 *Clostridium* sulfito redutor

O gênero *Clostridium* é composto por várias espécies, e cada uma delas é caracterizada por possuir um conjunto de fatores de virulência distinto. Dentre essas espécies, destaca-se o grupo do *Clostridium* sulfito redutor, que se caracteriza por reduzir o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H₂S) a 46°C. Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da potencial presença de *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, duas espécies capazes de causar doenças transmitidas por alimentos (PRATES, et al, 2008).

A ingestão de alimentos contendo grande população de *C. perfringens* pode ocasionar intoxicação alimentar, devido a sua capacidade de produzir uma enterotoxina que é liberada no intestino humano durante o processo de esporulação. Nos surtos de doenças transmitidas por alimentos (DAT) que ocorrem no Brasil, este microrganismo patogênico ocupa posição de destaque. Em 159 surtos de DAT que ocorreram em Curitiba (Paraná), no período de 1985 a 1988, o *C. perfringens* foi causador de 18 surtos. Em 1997, no município de São Paulo, 39,7% das ocorrências de DAT foi atribuído a *Clostridium* sulfito redutor (SABIONI; OLIVEIRA, 2002).

A legislação brasileira recomenda a análise de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, como indicador de *Clostridium perfringens* em determinados alimentos expostos ao consumo (BRASIL, 2001).

Botulismo é um tipo severo de intoxicação alimentar causado pela ingestão de alimentos contendo uma potente neurotoxina formada durante o crescimento do *Clostridium botulinum*, cujos esporos estão frequentemente distribuídos na natureza. A origem desses esporos é desconhecida no botulismo infantil, mas o mel tem sido identificado como possível fonte de contaminação (RAGAZANI, 2004).

O botulismo infantil foi identificado nos EUA como uma entidade clínica resultante da colonização intestinal e da produção de toxina pelo *Clostridium botulinum*, descritos por PICKETT et al. (1976) e ARNON et al. (1977). Mais tarde, correlacionou-se a ingestão de mel com surtos ocorridos com crianças menores de um ano de idade, conforme (ARNON et al., 1981).

Em estudo realizado por RALL et al. (2003), analisando 100 amostras de mel do Estado de São Paulo, relataram a presença de esporos de *C. botulinum* em três amostras. Esses resultados obtidos, inclusive com a identificação de esporos deste patógeno, reforçam a importância deste para a segurança alimentar.

Segundo (RAGAZANI, et al 2008), o mel comercializado em seis Estados brasileiros (SP, MG, MT, GO, CE, SC), revelou a presença de

percentagem significativa de *Clostridium botulinum* (7%), e não deve ser incluído na dieta de crianças menores de um ano de idade, pois pode causar risco a saúde.

O botulismo continua a ser um problema de saúde pública de todo o mundo; por este fato, são necessárias maiores investigações não somente na detecção de *Clostridium botulinum* no mel, mais em outros alimentos de origem apícola como também outros microorganismos e a forma como são incorporados nesse alimento (RAGAZANI, et al 2008).

4.5 Leveduras e Bolores

Esses organismos pertencentes ao Reino Fungi podem existir ou como célula única ou formar um corpo multicelular dito micélio, que consiste em filamentos denominados hifas. São encontrados em condições terrestres úmidas e, devido à ausência de clorofila, são parasíticos ou saprofíticos, em relação a outros organismos (MICROBIOLOGIA, 2004).

Os bolores são fungos filamentosos que se encontram amplamente distribuídos na natureza. São encontrados no solo, em superfícies de vegetais, nos animais, no ar e na água. Estão em maiores quantidades geralmente nos vegetais, especialmente em frutos, através dos quais provocam doenças. Nos alimentos, provocam deteriorações (emboloramento) e micotoxinas. São utilizados na produção de certos alimentos (queijos, alimentos orientais), bem como na produção de medicamentos (penicilina, por exemplo). Leveduras são fungos unicelulares, conhecidos como fermentos. São também amplamente distribuídas na natureza na água, no solo, nas plantas, no ar e nos animais. De modo geral, são encontradas em maior número nas frutas e nas verduras. Podem provocar, também, deterioração de alimentos e bebidas. Algumas espécies são patogênicas, causando doenças ao homem, mas que não são transmitidas por alimentos (MICROBIOLOGIA, 2004).

Os bolores também podem causar doenças alimentares, pois determinadas espécies podem produzir micotoxinas na superfície dos

alimentos, principalmente quando as condições de armazenamento e conservação sejam deficientes (LEITÃO, 1988; SCHINTU et al, 1996).

Em trabalho realizado por Hervatin (2009) concluiu-se que os bolores e leveduras são os parâmetros microbiológicos mais significativos para o pólen apícola, seguido por *Bacillus cereus* e por bactérias coliformes totais, sendo parâmetros que devem ser introduzidos na legislação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das informações abordadas sobre a meliponicultura assim como do pólen das abelhas sem ferrão pode-se observar um produto potencialmente nutritivo e saudável. Embora seja um produto totalmente natural e de grande valor nutricional, novos trabalhos devem ser praticados com o samburá. Além de estudos da inclusão deste produto na dieta humana para que o pólen da *Melipona scutellaris* possa se tornar uma fonte alternativa de alimento com uma garantia da qualidade do produto final.

6. REFERÊNCIA

AGATA, N.; OHTA, M. and YOKOYAMA, K. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereude) in various foods. **International Journal at Food Microbiology**, v.73, p. 23-27, 2002.

ALENCAR, S. M. **Estudo fitoquímico da origem botânica da própolis e avaliação da composição química de mel de *Apis mellifera* africanizada de diferentes regiões do Brasil**. 2002. 120 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas

ALVES, R. M. de O. 2010, Avaliação de parâmetros biométricos e produtivos para seleção de colônias da Abelha Uruçu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811). Tese de Doutorado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração: Fitotecnia. Cruz da Almas-Ba. 115 p.

ANACLETO, D. A. 2007. Recursos alimentares, desenvolvimento das colônias e características físico químicas, microbiológicas e polínicas de mel e cargas de pólen de meliponíneos, do município de Piracicaba, Estado de São Paulo, Tese para obtenção do título de Doutor.

ANDRELLA, R. R. S.; CARDOZO, G. M. B. Q.; MAESTER, F. M.; SILVA, R. A.; PAULA, D. C.; BART, O. M. Qualidade microscópica e composição polínica de amostras de pólen apícola da região sudeste do Brasil. Disponível em: <<http://iac.impulsa.com.br/areadoinstituto/pibic/anais/2009/Artigos/RE0901017.pdf>> em 11.12.2011.

ARNON, S.S. et al. Infant botulism: epidemiological, clinical and laboratory aspects. **Journal American Medical Association**, v.237, p.1946-1951, 1977.

ARNON, S.S. et al. Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. **Epidemiologic Review**, v.3, p.45-66, 1981.

ARRUDA, V. A. S. Estabilidade de vitaminas do complexo B em pólen apícola. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Ciência do Alimentos, USP, São Paulo 2009

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

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, R. C.; ORSI, R. O, DIB, Produção de pólen no Brasil. Taubaté, SP, Cabral Editora e Livraria Universitária, p.100, 2006.

BARRETO, L.M.R.C.; Funari, S.R.C.; Orsi, R.O. **Pólen apícola: perfil da produção no Brasil**. In: CONGRESSO DE APICULTURA DO MERCOSUL. Junho, 2005. Punta del Este. Uruguay

BAWA, K. S. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v.21, p.399-422, 1990.

BOROWSKY, L. M.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. I.; AVANCINI, C. A. M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1474-1479, set-out, 2006.

BORTOLATTO J., LORA J. AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO ABACAXI (*Ananas comosus* (L.) merril) LIOFILIZADO E *IN NATUR*, **Revista de pesquisa e extensão em saúde**, América do Norte, 4, dez. 2009. Disponível em: <<http://periodicos.unesc.net/index.php/saude/article/view/142/147>> Acesso em: 05.12.11.

BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa no 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola. Diário Oficial da União [da] República Federativa do Brasil, Brasília, D.F. 23 de jan 2001, Seção 16-I, 18-23.

CAMARGO, J. M. F.; GARCIA, M. V. B.; Q JUNIOR, E. R.; CARTRILLON, A. Notas prévias sobre bionomia de *Ptilotrigona lúrida* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae): Associação de leveduras em pólen estocado. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. sér. Zool.**, v.8, n. 2, p. 391 – 391, 1992.

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

CARNEIRO, L. C. avaliação de escherichia coli em manipuladores de alimentos da cidade de Morrinhos – GO. **Vita et Sanitas**, v. 2, n . 02, p. 31 – 42. 2008

CARPES, S. T. **Estudo das características físicoquímicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil**. 2008. 245f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CARVALHO, C.A.L. et al. Fontes nectaríferas e poliníferas utilizadas por *Melipona quadrifasiata* (Hymenoptera: Apidae) no Recôncavo Baiano. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 18, p. 249-256. 2006.

CASTRO, R. N. et al. Aplicação da presença de vitaminas C, D e E por cromatografia líquida de alta eficiência, em amostras de polens comercializados no estado do Rio de Janeiro, após análise palinológica. In: **Congresso Brasileiro de Apicultura**, 14, 2002. Campo Grande/MS. Anais...p. 69.

COLLIN, S.; VANHAVRE, T.; BODART, E.; BOUSETA, A. Heat treatment of pollens: impact on their volatile flavour constituents. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.43, p.444-448, 1995.

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

COSTA, J. M. C. D. Isotermas de absorção de pós de beterraba (*Beta vulgaris* L.), abóbora (*Curcubita moschata*) e cenoura (*Daucus carota*) obtidos pelo processo de secagem em leito de jorro: estudo comparativo. **Revista ciência agrônômica**, v. 34, n. 1, p. 5 – 9, 2003.

COUTO , H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: Manejo e produtos**.2° Ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002.191p

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

FAVARO, D. I.T.; AFONSO, C.; VASCONCELLOS, M. B. A. E COZZOLINO, S. M. F. Determinação de elementos minerais e traços por ativação neutrônica, em refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP. **Ciência e tecnologia de alimentos**. v. 20, n. 2. 2000.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; ROSADO, G. P. Teores de minerais em dietas utilizadas no brasil – um direcionamento para o enriquecimento de alimentos. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v..2, n. 2, p.9-17, Campina Grande, 2000.

FIORINI, L. S. & LOHMANN, P. Dossiê: Os minerais na alimentação. **Food ingredients Brasil**. n. 4 p.48-65, 2008. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/52.pdf>> Acessado em: 15.10.2011.

FONSECA, V. L. I.; LAURINO, M. C.; KOEDAM, D.; MARTINS,C. F. **A distribuição geográfica da abelha urucu (*Melipona scutellaris*, Latreille, 1881), (Apidae – Meliponinae)**. Disponível em <<http://www.webbee.org.br>> acesso em: 17.04.2011.

FREITAS, B. M. 2003. **Meliponíneos. A vida das abelhas**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil, CD-ROM.

FRIGERIO, C. **Optimização e influência na bioatividade do processo de secagem por radiação infravermelha de amostras de pólen apícola**. 2009, 55f Dissertação (Mestrado em Controle de qualidade Agua e alimentos) – Universidade do Porto, Porto, 2009.

GREENBERGER, P. A., FLAIS, M. J. Bee pollen-induced anaphylactic reaction in an unknowingly. **Ann Allergy Asthma Immunol**. v.86, n.2, p.239, 2001.

HARO, A.; ALIAGA, I. L.; LISBONA, F.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M. J.; CAMPOS, M. S. Beneficial Effect of Pollen and/or Propolis on the Metabolism of

Iron, Calcium, Phosphorus, and Magnesium in Rats with Nutritional Ferropernic Anemia. **J. Agric. Food Chem.** v.48, p.5715-5722, 2000.

HEARD, T. A. *The role of stingless bees in crop pollination.* **Annual Review of Entomology** v.44, p.183-206, 1999.

HERVATIN, H. L. **Avaliação microbiológica e físico-química de pólen apícola *in natura* e desidratado sob diferentes temperaturas.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2009.

ITAGIBA, M. da G. O. R. Noções básicas sobre a criação de abelhas. São Paulo: Nobel, 1997. 110p.il

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. 1996. **Abelha Uruçu - Biologia, Manejo e Conservação.** Belo Horizonte: Fundação Acangaú, Coleção Manejo da Vida Silvestre, nº. 2, 144 p

KEVAN, P. G.; PHILLIPS, T. P. The economic impacts of pollinator declines: an approach to assessing the consequences. **Conservation Ecology**, 5 (1): 8 2001.

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

LEITÃO, M.F.F. Tratado de microbiologia: microbiologia de alimentos, sanitária e industrial. São Paulo: Manole, v.1, 1988.

LEGLER, S. Pólen apícola. Universidade Federal de Santa Maria. Porto Alegre RS, 2 ed., 2002. Disponível em: <www.brasilapicola.com.br/node/106>. Acesso em: 20 dez 2011.

LIN, X. L.; ZHU, L. Q.; YUAN, Y.Y.; LI, L. M. Morphological changes in aged canine prostatic hyperplasia treated with bee pollen. **Chin Tradit Herb Drugs** 21: 164-166. 1990.

LOBO, A. S. & TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. *Rev. Nutr.* vol.17 no.1 Campinas Jan. / Mar. 2004.

LOPES M., BATISTA J. FERREIRA E SANTOS G Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível, **Agriculturas**.v. 2, n. 4, 2005.

LUIZ, K. M. B. Avaliação das características físicoquímicas e sensoriais de tomates (*Lycopersicum esculentum Mill*) armazenados em refrigeradores domésticos Florianópolis Dissertação de Mestrado, 2005.

MACEDO, J. A. B.; AMORIN, J. M.; LIMA, D. C.; SILVA, P. M. & VAZ, U. P. Avaliação da temperatura e refrigeração nas ôndolas de exposição de

derivados lácteos em supermercados da região de Juiz de Fora/MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 55, n. 315, p. 41 – 47, 2000.

MACHADO, J. O. (1971). Simbiose entre as abelhas sociais brasileiras (Meliponinae, Apidae) e uma espécie de bactéria. **Ciência e Cultura** **23(5)**: 625-633.

MAJESKA, R. J.; WUTHIER, R. E. Studies on matrix vesicles isolated from chick epiphyseal cartilage. Association of pyrophosphatase and ATPase activities with alkaline phosphatase. **Biochem Biophys Acta**. 391 51-60. 1975.

MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A. dos e MORETI, A. C. de C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Cienc. Rural** [online]. 2006, vol.36, n.3, pp. 949-953. ISSN 0103-8478. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000300034>

MARINHO, I. V.; FREITAS, M. F. ; ZANELLA, F. C. V. ; CALDAS, A. L. . Espécies Vegetais da Caatinga Utilizadas pelas Abelhas Indígenas Sem Ferrão como Fonte de Recursos e Local de Nidificação. In: I Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, 2002, João Pessoa. I Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. João Pessoa : Editora Universitária, 2002.

MELONI, P. L. S. Desidratação de frutas e hortaliças. In: Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, 10. 2003, Fortaleza-Ce. **Apostila desidratação de frutas e hortaliças**. Fortaleza: Frutal, 2003. Disponível em: <www.ebah.com.br/content/ABAAABUFQAC/apostila-desidracao-frutas-hortalicas> Acesso em: 15.11.2011.

MICHENER, C. D. 1974. **The Social Behavior of the Bees – A Comparative Study**. Cambridge: Harvard University Press, 404 p.

MICROBIOLOGIA de alimentos. **Tecnologia de alimentos**. Online, Brasil, 2004. Disponível em: <<http://tecalim.vilabol.uol.com.br/microbiologia.pdf>> Acesso em: 05.07.2011.

MODRO, A. F. H. *Flora e caracterização polinífera para abelhas Apis mellifera L. na região de Viçosa, MG*. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

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

MURADIAN, L.B. A. Qualidade dos produtos apícolas e otimização quimiométrica dos métodos de análise do mel por espectroscopia no infravermelho (FT-IR ATR). Tese de Livre-Docência da FCF/USP, 2009

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p

NOGUEIRA-NETO, PAULO 1953 A criação de abelhas indígenas sem ferrão. ed. **Chácaras e Quintais**. 280p.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. V. Secador de pólen. **Mensagem doce online**, São Paulo, n. 104, 2009.

O'TOOLE C, RAW A. (1991). *Bees of the world*. Blandford Publishing, London. 192p

PASIN, LUIS EUGÊNIO VENEZIANI, Sistemas socioprodutivos e o desenvolvimento regional: uma reflexão para a produção de pólen no Brasil. *Magistra*, Cruz das Almas, v. 23, número especial, outubro, 2011.

PENEDO, M. C. T., TESTA, P. R. & ZUCOLOTO, F. S. (1976). Valor nutritivo do geval e do levedo de cerveja em diferentes misturas com o pólen para *Scaptotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura** **28(5)**: 536-538.

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. Efeito tóxico de alimentos alternativos para abelhas *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.2, p.533-538, 2007

PIANARO, A. 2007. Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Pebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. Dissertação de Mestrado, Instituto de química UNICAMP, São Paulo, 138 p.

PICKETT, J. et al. Syndrome of botulism in infancy: clinical and eletrophysiologic study. **New England Journal of Medicine**, v.295, p.770-772, 1976.

PICOLLO, R. C.; PIMENTEL, E.P.; FÁVERO, L.M.; RIZZO, M.A.; PASCHER, D.M. 1992. Surto de salmonelose ocorrido em cantina escolar, no município de São Paulo em 1991. *Higiene Alimentar*. v.6, n.23, p.28-30, 1992.

PIRANI, J.R.; CORTOPASSI-LAURINO, M. (Coord.). *Flores e abelhas em São Paulo*. São Paulo: EDUSP, 1993. 192p.

PONTES, S. F. O.; BONOMO, R. C. F.; PONTES, L. V.; RIBEIRO, A. C. & CARNEIRO, J. C. S. secagem e avaliação sensorial de banana da terra. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v. 9, n. 2, p. 143 – 148, 2007.

PORTELA, E. M. R., GALLEGU, J. C. S. **Alimentación de las abejas: Aplicación práctica de los fundamentos fisiológicos de la nutrición**. Portada y gráficos: Elena M. Roblas Portela, 1999.195p.

POTTS, S. G.; VULLIAMY, B.; ROBERTS, S.; O'TOOLE, C.; DAFNI, A.; NE'EMAN, G.; WILLMER, P. Role of nesting resources in organizing diverse

bee communities in a Mediterranean landscape. **Ecological Entomology** 30:78-85. 2005.

PRATES, Denise da Fo.; CAMACHO, Natália Neutzling; LIMA, Andréia Saldanha; SILVA, Wladimir Padilha. CLOSTRÍDIOS SULFITO REDUTORES EM LINGÜIÇAS FRESCAIS E MORCELAS PRODUZIDAS NO SUL DO RIO GRANDE DO SUL, XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, X ENCONTRO DPÓS GRADUAÇÃO, 2008.

PUENTE S, INIGUEZ A, SUBIRATS M, ALONSO MJ, POLO F, MONEO I Eosinophilic gastroenteritis caused by bee pollen sensitization. *Med Clin (Barc)* **108**(18): 698-700, 1997.

RADHIKA, B.; PADMAPRIYA, B. P.; CHANDRASHEKAR, A.; KESHAVA, N. & VARADAJ, M. C. Detection of bacillus cereus in foods by colony hybridization using PCR-generated probe and characterization of isolates for toxins by PCR. *International Journal of Food Microbiology*, v. 74, p. 131-138, 2002.

RAGAZANI, A. V. F. ; RUBEN PABLO SCHOCKEN-ITURRINO ; MARIA LUIZA POIATTI ; GISELA ROJAS GARCIA ; MILENA CUSSIOL HATAYDE ; TAMMY PRISCILLA CHIODA DELFINO ; LUCIANO. M. . Occurrence of Clostridium in honey marketed in state of Sao Paulo and other brazilian states. (Apresentação de Trabalho/Congresso). 2004. **Rev Food Sc Nutr** 1992; 31: 333-367.

RAGAZANI, A. V. F.; ITURRINO, R. P. S.; GARCIA, G. R.; DELFINO, T. P. C.; POIATTI, M. L. e BERCHIELLI, S. P. Esporos de Clostridium botulinum em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.2, p.396-399, mar-abr, 2008.

RALL, V.L.M. et al. Honey consumption in the state of São Paulo: a risk to human health? **Anaerobe**, v.9, p.299-303, 2003.

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, março 2007.

RODRIGUES, A. A.; KELLER, K. M.; Avaliação micológica e micotoxicológica do pólen da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) proveniente de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 30, n. 4, p. 249 - 253, out/dez 2008.

RODRIGUES, A. E., SILVA, M. A. F, DORNELLAS, G. S., RODRIGUES, M. L. Estudo de plantas visitadas por abelhas *Melipona scutellaris* na microrregião do brejo no Estado da Paraíba. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 25, n. 2, p. 229-234. 2003.

RODRIGUES, A. E.; FARIAS, E. S. L.; RODRIGUES, M. L.; COELHO, M. S.; GÓIS, G. C.; SILVA, C. M. Fontes de alimentação para abelhas nativas: 1.

estudos preliminares da *cayaponia cabocla* como planta alimentar para *Melipona scutellaris*, **Biofar**. v. 4, n 1, p. 1983-4209. 2010

SABIONI, J. G., OLIVEIRA, V. A. Avaliação de metodologia de contagem de clostridiosreduores de sulfito em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 99, p. 81-83. agosto. 2002.

SCHINTU, M.; MELONI, P.; SAL, M.; CONTU, A. Esperienze sul controllo microbiologico di paste fresche di produzione artigianale - L'Igiene Moderna, v. 105, p. 55-62, 1996.

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

SILVA A. C. Captura de Enxames de Abelhas Sem Ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem Destruição de Árvores. **Acta Amazonica**. vol. 35(3), p. 383 – 388, 2005.

SILVA, P. G. F. & ZUCOLOTO, F. S. Influência de microrganismos no valor nutritivo do pólen para *Scaptotrigona depilis*, Moure (Hymenoptera, Apidae). In: **1º Encontro sobre abelhas em Ribeirão Preto**. 1994. Anais. Ribeirão Preto - SP. 1994. p.232-242.

SILVA, P. G. F.; SERRÃO, J. E.; Nutritive value and apparent digestibility of bee-collected and bee-stored pollen in the stingles bee *Scaptotrigona postica* Latr. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 39-45, 2000.

SILVEIRA, F. A. A importância da Palinologia nos estudos apícolas. . In: **Congresso Brasileiro de Apicultura**, 11., Teresina, 1996. Teresina: Confederação Brasileira de Apicultura, 1996. 429p. p. 269-273.

SOARES, E. C.; OLIVEIRA, G. S. F.; MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; SILVA JR., A.; S. FILHO, M. S. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) pelo processo foam-mat. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 21, n. 2, p. 164 – 170. 2001.

SOUZA R. C. S., YUYAMA L. K. O., AGUIAR, J. P. L., OLIVEIRA.F. P. M., **Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica**. v.34, n.2, p.333-336, 2004.

SOUZA, D. C.; BAZLEN, K.. Análises preliminares de características físico-químicas de méis de Tiúba (*Melipona compressipes*). **Anais do XII Congresso Brasileiro de Apicultura**, Salvador, Brasil, p.267-268. 1998

SOUZA, D. C. Org. Apicultura: manual do agente de desenvolvimento rural/organizado por Darcet Costa Souza. 2º ed.rev. Brasília: Sebrae, 2007. 186p.:il

TIROLI, I. C. C.; COSTA, C. A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. **Acta Amazonica**, v.. 36, n. 2, p. 205 – 208, 2006.

WILLIAMS, I. H.; OSBORNE, J. L. Bee behaviour and pollination ecology. In: *Plant and Invertebrate Ecology*. IACR – Annual Report, 2002.

WILLIAMS, M. H. **Nutrição para saúde, condicionamento físico & desempenho esportivo**. 5ª Ed. Chicago:manole, 2002. 500p.

YAMAGUCHI, M.; HAMAMOTO, R.; UCHIYAMA, S.; ISHIYAMA, K.; HASHIMOTO, K. Anabolic effects of Bee Pollen *Cistus ladaniferus* extract on bone components in the femoral-diaphyseal and -metaphyseal tissues of rats in vitro and in vivo. **Journal of Health Science**. v.52, n.1, p.43- 49, 2006.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; MACEDO, S. H. M.; GIOIA, K. Y. FAVARO, D. I. T.; AFONSO, C.; VASCONCELLOS, S. M. F. & COZZOLINO, S. M. F. Determinação dos teores de elementos minerais em alimentos convencionais e não convencionais da região amazônica pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental. **Acta amazônica**. v. 27, n. 3, p. 183 – 196. 1997.

**CAPITULO 2: Análises físico-químicas do pólen da *Melipona
scutellaris* L. desidratado por diferentes técnicas**

1 INTRODUÇÃO

O pólen, como alimento das abelhas, tem importância crucial para a colônia, pois dele se obtêm suprimento de proteínas, sais minerais e produtos biológicos especiais utilizados na sua alimentação. Dessa maneira, a produção de mel, cera e geléia real de um apiário está diretamente relacionada com a quantidade de pólen necessária para a alimentação das colméias (MARCHINI, REIS & MORETI, 2006).

Devido às propriedades como suprimento alimentar que qualifica os produtos das abelhas, o pólen coletado na entrada das colméias de *Apis Mellifera* pode ser utilizado como suplemento na nutrição humana (MARCHINI, REIS & MORETI, 2006).

O conhecimento da composição química de nutrientes em alimentos é de fundamental importância para o estabelecimento de dietas adequadas aos indivíduos, para a recomendação de uma alimentação balanceada a grupos populacionais e desenvolvimento de novos produtos (LAJOLO, 1995 apud SOUZA et al., 2004).

No Brasil, a legislação sobre pólen é incipiente, pois indica quais são os limites, mas não estipula quais os métodos de análise, dessa forma, o controle de qualidade do pólen apícola necessita de padronização de métodos (MURADIAN, 2010).

Os estudos analíticos para o mel e pólen têm sido realizados principalmente para as abelhas *Apis mellifera* e poucos são os trabalhos que tratam do valor nutricional dos produtos das abelhas sem ferrão (SOUZA et al., 2004).

Assim o conhecimento de sua composição físico química torna-se importante, no sentido de tipificar o produto obtido em diferentes regiões (MARCHINI, REIS & MORETI, 2006), bem como contribuir para o estabelecimento de técnicas padrões de análises de qualidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material - Coleta das amostras

As amostras de pólen processado por *Melipona scutellaris* L. foram fornecidas pelo Meliponário Velho Simião, localizado em Cajazeiras de Abrantes, Camaçari-BA, (latitude 12°48'39.35"S / longitude 38°15'37.19"W) no bioma Mata Atlântica. (Figuras 1 e 2). O clima é tropical úmido e temperatura anual entre 23 a 35°C.



Figura 1 Localização do Meliponário Velho Simião, Camaçari-Ba
Fonte: foto satélite (latitude 12°48'39.35"S / longitude 38°15'37.19"W
Google Earth)



Figura 2 Meliponário Velho Simião - Camaçari-Ba
Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo

A amostra foi coletada em dois momentos, (05/2010 e 05/2011), por equipe técnica da EBDA (Figura 3), seguindo as boas práticas de coleta, acondicionamento e transporte para produtos alimentícios.



Figura 3 Coleta do pólen em colônia de *Melipona scutellaris* L., Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo

Foram coletadas cargas de pólen em 10 colônias, aproximadamente 2 kg, e armazenadas em potes de vidro hermeticamente fechados, posteriormente acondicionados em caixa de isopor, com material congelante reutilizável para conservação até o laboratório. O material coletado foi homogeneizado e congelado em congelador *frost-free* a aproximadamente -24°C para eliminação de ácaros. Em seguida, foi descongelado lentamente e armazenado em refrigerador do tipo *frost-free* (4 °C) até o momento da desidratação (Figura 4).



Figura 4 Conjunto de amostras armazenadas em refrigerador *frost-free*, Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo

Deste conjunto foram retiradas alíquotas para realização das análises físico-químicas e microbiológicas do produto *in natura* e submetidos às técnicas de desidratação: liofilização, corrente de ar frio e *frost-free*.

2.2 Identificação da espécie

Durante a coleta do pólen foram adquiridos alguns indivíduos da colônia que foram levados para identificação da espécie *Melipona scutellaris* L. na coleção entomológica Moure & Costa do Laboratório de Abelhas (LABE) da Central de Laboratórios da EBDA.

2.3 Técnicas de Desidratação

A utilização dos processos de desidratação de alimentos foi otimizada juntamente com a higienização do material nas diferentes etapas de processamento do pólen coletado.

Um estudo piloto foi realizado para aprimorar as técnicas de determinação físico-química e desidratação. O pólen coletado foi submetido a três técnicas diferentes de desidratação, (liofilização, desidratação com corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*), antes e após a utilização destas técnicas foram avaliadas a atividade de água (A_w), os parâmetros físico-químicos e microbiológico das amostras.

2.3.1 Liofilização

Parte da amostra foi espalhada em vidros de relógio (20cm), embalada com papel filme e congelada a -24°C (vinte e quatro graus Celsius negativos) por aproximadamente 36 horas, (figura 5) e, posteriormente, submetido ao processo de liofilização por 24 horas com o auxílio do liofilizador LIOBRÁS, modelo L108 (figura 6).



Figura 5 Amostra antes da liofilização Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo



Figura 6 Liofilização do pólen da *Melipona scutellaris* L.,
Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo

2.3.2 Desidratação com corrente de ar frio

Parte da amostra *in natura* foi disposta em vidros de relógio (20cm), e submetida à desidratadora da marca Apilani por aproximadamente 24 horas. Após o procedimento, o pólen desidratado foi armazenado em pote de vidro à temperatura de 4°C até o momento das análises (figuras 7 e 8).



Figura 7 Desidratadora Apilani DP-15/220V, Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo



Figura 8 Desidratação do samburá utilizando desidratador por corrente de ar frio, Fonte: Acervo de fotografias do LABE/Rodrigo.

2.3.3 Desidratação em refrigerador *frost-free*

Aproximadamente 10g da amostra in natura foi colocada em vidros de relógio (20cm), e submetida à desidratação em refrigerador do tipo *frost-free* à temperatura de 4^oC por aproximadamente 24 horas. Após o procedimento o pólen desidratado foi armazenado em pote de vidro até o momento das análises (figuras 9, 10 e 11).



Figura 9 Desidratação do pólen em refrigerador *frost-free*, Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo



Figura 10 Pólen da *Melipona scutellaris* L. desidratado em refrigerador *frost-free*, Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo



Figura 11 Pólen de *Melipona scutellaris* L. após diferentes técnicas de desidratação. Esquerda para a direita (liofilizado, desidratado em refrigerador *frost-free*, desidratado por corrente de ar frio), Fonte: Acervo de fotografias do LABE/ Rodrigo

2.4 Análises físico-química e mineral

Os métodos químicos e físicos para análise do pólen coletado (acidez livre, lipídios, proteínas, umidade, cinzas, pH, fibra bruta) seguiram as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), *Codex Alimentarius Commission* (CAC), e *Harmonised methods of the international honey commission - International Honey Commission* (H.M.I.H.C), utilizando-se os parâmetros preconizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram executadas nos laboratórios do Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia (UFBA) e na Unidade de Análise de Produtos das Abelhas (APA) do Laboratório de Abelhas (LABE) e Laboratório de Nutrição Animal que estão inseridos na Central de Laboratórios da Agropecuária, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA).

Com o objetivo de identificar alguns minerais presentes no samburá (pólen de *Melipona scutellaris* L.), foram determinadas as concentrações do Manganês (Mn), Magnésio(Mg), Ferro(Fe), Cálcio (Ca), Cobre (Cu) e Zinco (Zn). A determinação dos minerais foi realizada no Laboratório de Toxicologia Clínica, Ocupacional e Ambiental da Faculdade de Farmácia da UFBA.

2.4.1 Proteína Total

O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl modificado e validado para determinação de proteína em farinha de trigo no Laboratório de Alimentos da EBDA. Pesou-se aproximadamente 0,2g da amostra em balança de 0,1mg de precisão, utilizando papel vegetal livre de nitrogênio transferido para frasco digestor Kjeldahl. O pólen foi digerido com 0,5g de mistura catalítica (10g Na₂SO₄ + 1g CuSO₄. 5H₂O + 0,2g selênio) e 3mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), durante 30 min à temperatura de 350°C. A solução digerida foi adicionado 15mL de NaOH, 40% para liberação da amônia, a qual foi recolhida dentro de uma solução de H₃BO₃, e, então, titulada com uma solução padronizada de HCl 0,1N, através de bureta automática com precisão de 0,01mL. Para a determinação do teor de proteína total, os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator de conversão 6,25.

2.4.2 Acidez livre e pH

Pesou-se 1,0 g da amostra em um béquer de 250 mL o qual foi diluída em aproximadamente 75 mL de água livre de CO₂. Com auxílio de pHmetro previamente calibrado utilizando soluções tampões certificadas com pH 4,00 e 7,00. Realizou-se a leitura direta do pH da amostra diluída .

A amostra diluída foi titulada com NaOH 0,1 N padronizado, num fluxo contínuo de 5 mL por minuto, interrompendo a titulação quando a solução chegou ao pH de 8,5 para verificar o volume de NaOH gasto na titulação. Efetuou-se um branco com o mesmo volume de água utilizada para diluir a amostra de pólen (FCC, 2010).

2.4.3 Lipídeos

Pesou-se 1,5g da amostra em papel de filtro acoplado-a em cartucho de Soxhlet. O cartucho com o papel de filtro amarrado foi transferido para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Acoplou-se o extrator ao copo de fundo chato previamente tarado a 105°C contendo aproximadamente 70mL de éter de petróleo P.A. Manteve-se a vidraria do extrator sob aquecimento em bloco, à extração contínua por 8 horas. Retirando-se o cartucho com o papel de filtro amarrado, o éter foi recuperado, o copo com o resíduo extraído transferido para uma estufa a 105°C, mantendo por cerca de uma hora. Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente.

2.4.4 Umidade

O teor de umidade foi determinado pesando-se 1,5g de pólen através da secagem em estufa a 105° C durante 4 horas de acordo com métodos oficiais da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000) e métodos analíticos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

2.4.5 Fibra Bruta

Utilizou-se o resíduo da extração de lipídeos que foi transferido para um frasco erlenmeyer de 750 mL, com boca esmerilhada. Adicionado 100 mL de solução ácida (500 mL de ácido acético glacial, 450 mL de água, 50 mL de ácido nítrico e 20 g de ácido tricloroacético) e 0,5 g de agente de filtração. O frasco Erlenmeyer foi adaptado a um refrigerante de refluxo por 40 minutos a partir do tempo em que a solução ácida foi adicionada, e mantida sob aquecimento. Foi realizada filtração a vácuo utilizando papel filtro previamente pesado. Em seguida lavado com água fervente, 20 mL de álcool e 20 mL de éter. O pólen foi aquecido em estufa a 105°C, por 2 horas. Resfriado em dessecador até a temperatura ambiente, incinerado em mufla a 550°C. A perda de peso representou a quantidade de fibra bruta. (IAL, 2008).

2.4.6 Cinzas

Pesou-se 1,5 g de pólen moído em cadinhos de porcelana e o teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla, a 550⁰C por, aproximadamente, 4h de acordo com a AOAC (2000) e IAL (2008).

2.4.7 Minerais

Os minerais foram determinados por digestão do pólen liofilizado, em béquer de 50 mL com 3mL de HNO₃ concentrado da JT Baker e 0,5mL de peróxido de hidrogênio PA, em torno de 4h em uma temperatura entre 90 e 100°C em placa de aquecimento. Digerida a amostra foi, então, avolumada para 10mL, com água pura tipo I – Mili-Q, Milipore – em tubos de polipropileno de fundo cônico graduado (Corning®). Foi necessário diluir as amostras para quantificar alguns minerais.

O Mn foi analisado por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Modelo AA240Z, GTA 120, Varian Inc.), enquanto os demais minerais (Ca, Mg, Zn, Cu e Fe) foram determinados por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (SpectrAA 55B, Varian Inc.) no laboratório de toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFBA.

A determinação dos minerais procedeu com o uso de matéria de referência.

2.5 Análise Estatística

Para correlacionar as técnicas de desidratação entre as análises físico-químicas, os resultados dos experimentos selecionados foram analisados por ANOVA através do software R, sendo determinada a homogeneidade de dados pelo teste de Levene; a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov, e utilizou-se o teste de Breusch–Pagan para designar a variância constante dos erros ou homoscedasticidade entre os dados de cada análise. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se que (T1), (T2), (T3) correspondem, respectivamente, aos tratamentos de desidratação (liofilização, corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*), os resultados apresentados foram:

3.1 Umidade

A umidade para o conjunto de amostras do pólen analisadas apresentou média de 51,73% para o pólen *in natura*.

Após o uso das técnicas, os resultados da umidade foram: 17,16% para o pólen liofilizado, 19,82% para o pólen submetido à desidratação por corrente de ar frio e 18,29% para o pólen desidratado utilizando-se refrigerador *frost-free*. (Figura 12).

Se compararmos os resultados de umidade do pólen analisado *in natura* e submetido aos diferentes processos de desidratação com o pólen da *Apis mellífera*, verificamos que estão acima dos limites especificados na legislação nacional, onde estabelece que o pólen apícola, para ser comercializado no Brasil, deve ter umidade máxima de 30% para o pólen fresco e umidade máxima de 4% para o pólen seco de *Apis mellifera*.

De acordo com a interpretação da Figura 12, podemos verificar que a liofilização (T1) se mostrou mais eficiente na retirada de água da amostra que as outras duas técnicas (T2) e (T3). Quando comparou-se (T3) - (T2), o samburá apresentou uma menor porcentagem de umidade na amostra desidratada por refrigerador *frost-free*. O Figura 13 demonstra que os resultados comparados pelas diferentes técnicas possuem diferença significativa.

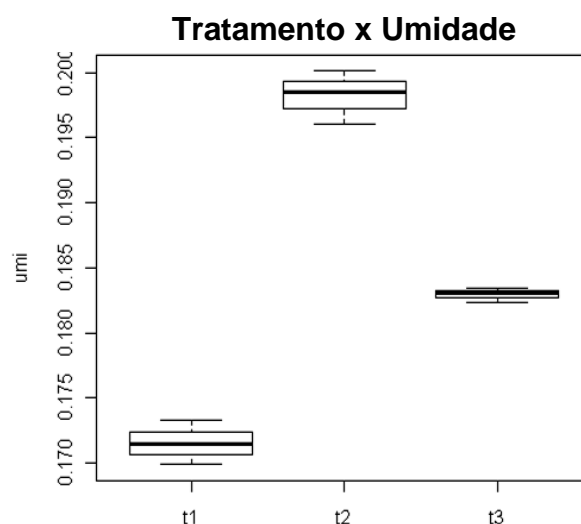


Figura 12 Tratamento x Umidade Mín. 1° Qd. Mediana Média 3° Qd Max. 0.1699 0.1733 0.1831 0.1842 0.1960 0.2001 med desvp t1 0.1715667 0.0017009801 t2 0.1982000 0.0020663978 t3 0.1829333 0.0005686241

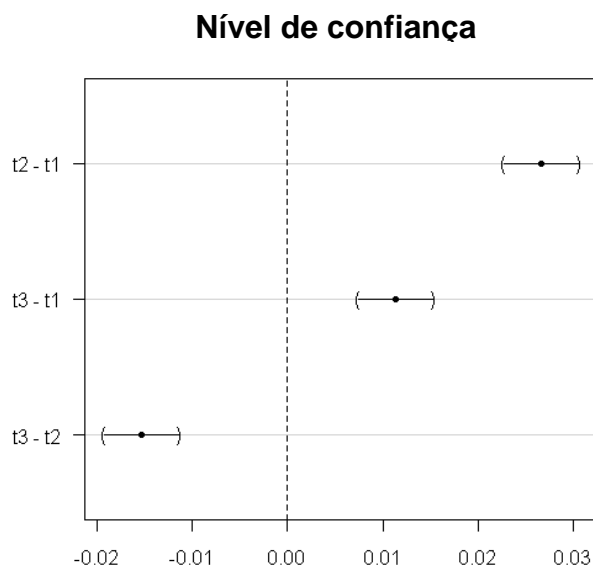


Figura 13 Nível de confiança - Umidade

O pólen da *Melipona scutellaris* L. apresenta uma quantidade superior de água comparado ao pólen apícola, mesmo após ser submetido a diferentes e eficientes processos de desidratação. Não podendo os valores de umidade para este produto ser comparados aos valores do pólen apícola, pois é necessário o estabelecimento de valores de umidade para pólen obtido das abelhas sem-ferrão.

Ferreira et al. (2011a), encontrou teores de umidade de 53,57%, 53,92%, 53,68% e 53,06%, no pólen da abelhas *Melipona scutellaris* L. produzido no município de Camaçari-BA . Uma avaliação das características físico-químicas do pólen da *Melipona quadrifasciata anthidioides* produzido no município de Conceição do Coité (BA) apresentou percentuais de umidade de 43,19, 41,16, 40,63 (FERREIRA et al, 2011b).

De acordo com os dados obtidos por (SOUZA, 2007), observa-se que os polens das espécies sem ferrão apresentam valores de umidade acima dos encontrados para *A. mellifera*, que varia entre 15 a 25%. Comparando o teor de água em pólen armazenado por outras espécies de abelhas sem ferrão, foram encontrados valores de 52, 2% para o pólen de *Melipona seminigra*, 24,1% para *Trigona dallatorreana* e 13,9% para *Ptilotrigona lúrida* (CAMARGO, 1992). Segundo (SOUZA et al., 2004), amostras de pólen de abelhas sem ferrão apresentaram umidade média de $36,9 \pm 11,1\%$ com uma variação de $22,3 \pm 0,2\%$ a $49,2 \pm 0,09\%$

3.2 Proteínas

A média de proteínas para o pólen apícola considerado de qualidade é de, no mínimo, 8,0% (BRASIL, 2001). As médias encontradas em trabalhos apresentados por RIBEIRO e SILVA (2007) são superiores a 20%, o que demonstra a riqueza desse alimento em material proteico. Valores semelhantes para *Apis* foram obtidos em trabalhos anteriores como: 13,84% - 27,84% (SAMPAIO, 1991); 21,25% (MARCHINI, REIS & MORETI, 2006); 17,75% - 23,26% (LEGLER, 2002) e 20% (MURADIAN, 2005).

Os teores de proteína encontrados nas análises foram 19,67% para o pólen *in natura*. Após secagem, 34,32% para o pólen liofilizado, 32,89% para o pólen desidratado via corrente de ar frio e 33,47% para o pólen desidratado via refrigerador *frost-free* (Figura 14).

De acordo com a interpretação da Figura 15, verifica-se que o pólen no (T1) apresenta uma maior porcentagem final de proteína comparado ao pólen desidratado por corrente de ar frio e/ou submetido ao (T3). O (T3) apresentou o produto com melhores teores de proteínas que o (T2). Desta forma, (T1) mostrou melhor desempenho quando se pretende obter maiores teores de proteína neste alimento. O pólen concentra-se pela retirada de água e, conseqüentemente, há um aumento relativo dos nutrientes. Sendo assim, o pólen liofilizado concentrou um maior teor de proteína após a desidratação.

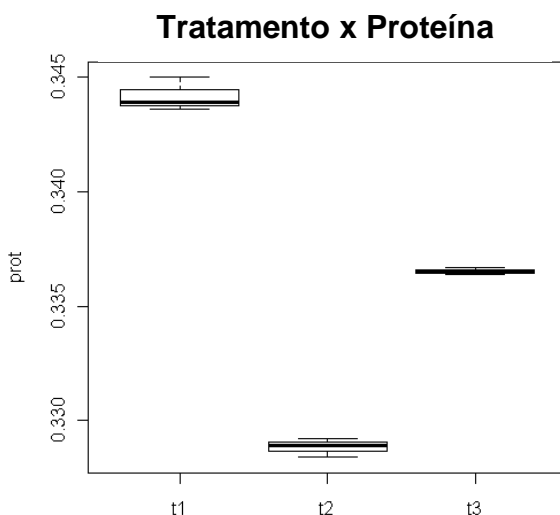


Figura 14 Min. 1º Qu. Mediana Média 3º Qu. Máx. 0.3284 0.3292 0.3365 0.3365 0.3436 0.3450 med desvp t1 0.3441667 0.0007371115 t2 0.3288333 0.0004041452 t3 0.3365333 0.0001527525

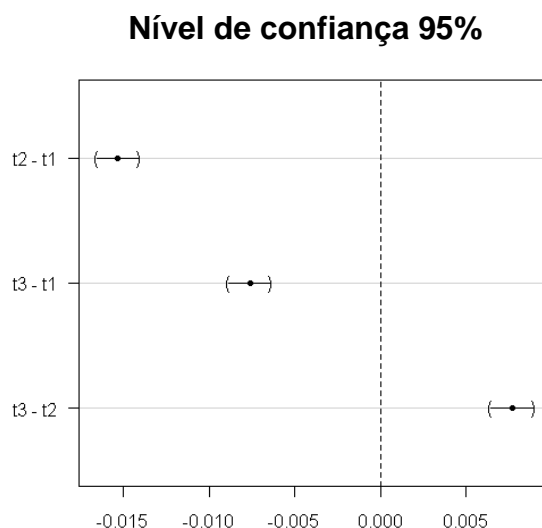


Figura 15: Nível de confiança – Proteínas

Palma (1992) obteve 15,8 a 16,7% de proteína em pólen apícola. Enquanto que Marchini, Reis e Moreti (2006) encontraram as porcentagens de proteína em amostras de pólen coletadas por *Apis mellifera* valor médio de (21,58), Barreto e colaboradores (2000) verificaram em Taubaté, SP, nos meses de maio e junho, que o pólen apícola apresentou valores de 20,3% e 20,0%, de proteína, respectivamente. Muradian e colaboradores (2004) também encontraram teor de 20% de proteína no pólen apícola produzido na região sul do Brasil. Teor de proteína do pólen apícola mais próximo ao pólen desidratado de *Melipona scutellaris* L. foi citado por Costa et al. (2000), na região de Maringá, PR, contendo 30,4%. Outras espécies de *Melipona* apresentaram concentração média de proteína no pólen in natura de 19,5% (SOUZA, 2004).

De acordo com resultados obtidos por (ORSI et al, 2011), ao analisar o perfil bromatológico do pólen apícola, encontrou-se valores de proteínas variando-se de (20,49%) a (22,68%) nas amostras. Entretanto, em relação aos constituintes nutricionais do pólen, resultados demonstraram uma concentração média substancial de proteína $19,5 \pm 3,3$ %, particularmente na espécie *Melipona. seminigra* com $23,8 \pm 0,3$ %.

Souza et al., (2004) demonstraram que, apesar da ausência de informações em relação à composição centesimal do pólen dessas abelhas

sem ferrão, alguns resultados permitiram concluir que a espécie *M.seminigra* apresenta no pólen concentrações substanciais de proteína.

Quando comparado com alguns alimentos da região amazônica, como castanha do Amazonas (20,7%), peixes de um modo geral como tambaqui, sardinha, pacu e tucunaré com uma concentração média em torno de (20%), não se pode negar a riqueza deste componente protéico no pólen de abelhas sem ferrão (SOUZA *et al.*, 2004).

Produtos considerados como principais alimentos na alimentação nordestina como a carne assada (caprina, ovina, bovina, suína e de aves) apresentaram os teores de proteínas por conteúdo de 100g respectivamente (23,0%, 22,0%, 23,0%, 21,0%, 21,0%), (SOBRINHO & GONZAGA NETO, 2001). Quando se compara os teores de proteínas destes produtos com os teores encontrados do pólen da *Melipona scutellaris* L., 34,32% para o pólen liofilizado, 32,89% para o pólen desidratado via corrente de ar frio e 33,47% para o pólen desidratado por refrigerador *frost-free*. Verifica-se o alto teor de proteína encontrado no pólen desidratado da *Melipona scutellaris* L.

3.3 Lipídeos

É previsto pela Instrução Normativa nº 3 do MAPA o valor mínimo de 1,8% para lipídios em pólen apícola. Em determinação bromatológica e do pólen coletado por *Apis mellifera* no Brasil (Botucatu), no período de agosto a novembro de 1996, FUNARI *et al.* (2003) encontraram 5,1% de lipídeos, Lengler (2002) em pólen fresco (3,44%) e Sampaio (1994) em pólen comercial e recém-processado (2,17% - 5,63%). A média obtida por Muradian (2005) para pólen recém-processado foi de (6%). Alguns estudos no pólen de espécies sem ferrão mostraram que a espécie *M. compressipes* apresentou bom teor de energia (SOUZA *et al.*, 2004).

O percentual de lipídios encontrado no pólen da *Melipona scutellaris* L. para a amostra *in natura* foi (2,5). As amostras (liofilizada, desidratada por corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*) foram respectivamente (5,9) (4,5) e (4,0).

O samburá desidratado por liofilização (T1), quando submetido à extração de lipídios, permite um maior rendimento na extração destes comparado ao pólen seco pelos outros dois processos (T2) e (T3) (Figura 16). Os resultados permitem observar que as técnicas comparadas de desidratação do pólen de abelha sem ferrão possuem diferença significativa entre si (Figura 17).

Tratamento x lipídios

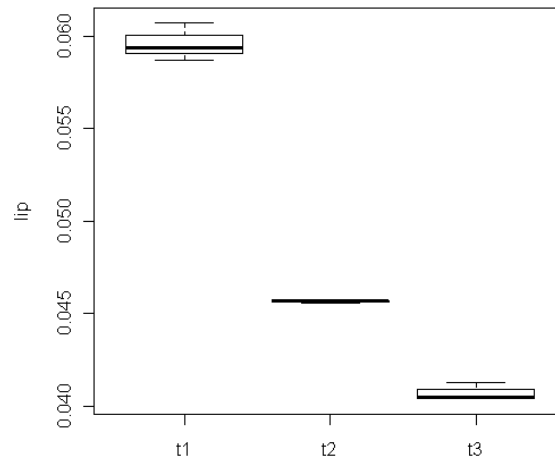


Figura 16 Min. 1º Qd. Mediana Média 3º Qd. Máx. 0.04040 0.04130 0.04570 0.04867 0.05870 0.06070 med
100 1.014889e-03 t2 0.04566667 5.773503e-05 t3 0.04073333 4.932883e-04

Nível de confiança 95%

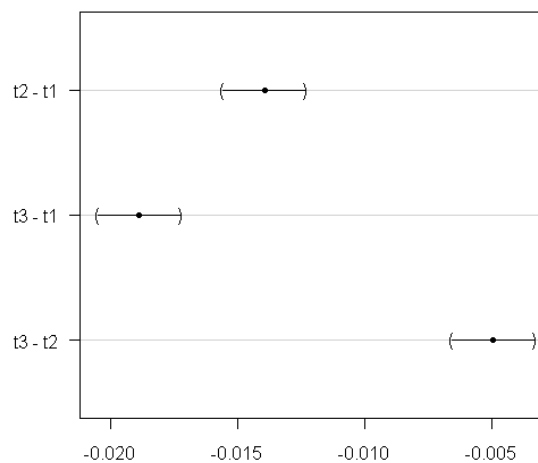


Figura 17 Nível de confiança - Lipídios

3.4 Fibra bruta

A fibra alimentar é uma fração complexa, composta por um conjunto de componentes, presentes nos alimentos vegetais, representados pela soma de lignina e polissacarídeos (celulose, hemicelulose, pectina, mucilagem e goma),

sendo estes classificados, segundo sua solubilidade em água, como solúveis e insolúveis (UCHOA, 2008). Atualmente, a fibra alimentar é considerada alimento funcional, pois desempenha no organismo funções importantes como intervir no metabolismo dos lipídios e carboidratos e na fisiologia do trato gastrointestinal, além de assegurar uma absorção mais lenta dos nutrientes e promover a sensação de saciedade (UCHOA, 2008).

O regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade de pólen apícola estabelece um percentual mínimo de dois, para fibras.

No Brasil, Sampaio (1991) verificou que o pólen apícola brasileiro, comercializado no Estado do Paraná continha: 2,9 a 6,9% de fibras.

Os percentuais de fibras encontrados no pólen da *Melipona scutellaris* L. foram (2,76%) *in natura*. Para as amostras liofilizadas, desidratadas por corrente de ar frio, e *frost-free* foram, respectivamente, 4,03%; 3,27% e 3,20%, (Gráfico 8). Esses resultados revelam que o pólen pode ser considerado como um produto de fonte de fibra.

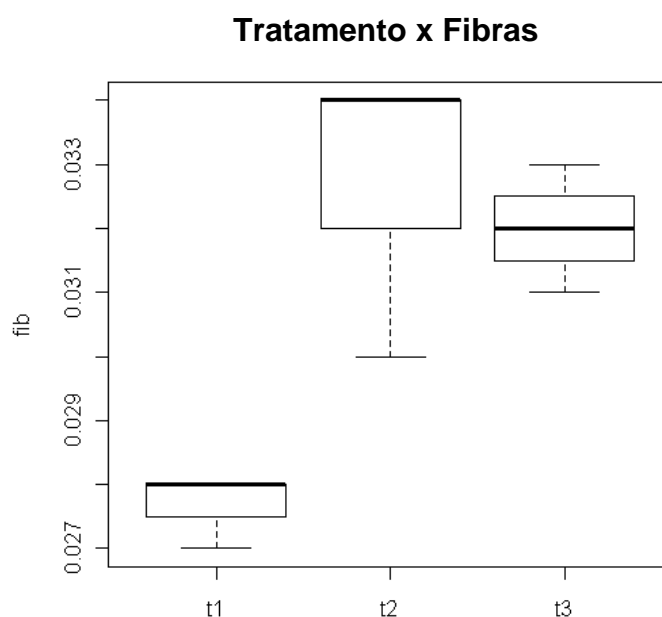


Figura 18 Min. 1º Qd. Mediana Média 3º Qd. Máx. 0.02700 0.02800 0.03100 0.03078 0.03300 0.03400 med desvp t1 0.02766667 0.0005773503 t2 0.03266667 0.0023094011 t3 0.03200000 0.0010000000

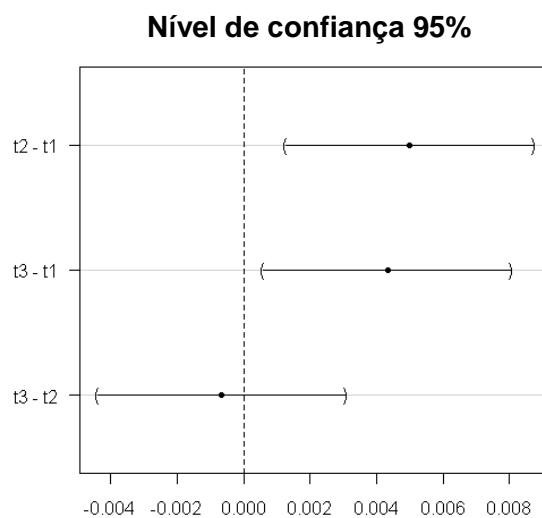


Figura 19 Nível de confiança - Fibra

De acordo com a interpretação da figura 18, que compara (T2-T1), foi averiguado que a desidratação por (T2) apresenta o pólen desidratado com maior porcentagem de fibras em relação a (T1). O tratamento (T3) também proporcionou à amostra um maior teor de fibras em relação a (T1). Quando comparamos (T3-T2), não houve diferença estatística significativa.

3.5 pH e Acidez

O pH é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer, cuja determinação é feita eletrometricamente com a utilização de um potenciômetro e eletrodos (SOUZA, 2010).

O pH e a acidez titulável total tem sido determinada com frequência em trabalhos que realizam análises físico-químicas para avaliar a qualidade de alimentos de origem vegetal bem como os de origem animal (SOUZA, 2010).

Os ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade. A determinação da acidez total em alimentos é bastante importante, haja vista que, através dela, podem-se obter dados valiosos na apreciação do processamento e do estado de conservação dos alimentos. A acidez é resultante dos ácidos orgânicos existentes no alimento, dos adicionados propositadamente e também daqueles provenientes das alterações químicas dos mesmos (SOUZA, 2010).

O pH é considerado um importante fator antimicrobiano, embora exista discussão a este respeito; o fator relevante é que grande parte dos microorganismos patogênicos necessita para seu crescimento de um pH ótimo na faixa de 7,2 a 7,4 (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Considerando-se que produtos mais ácidos são naturalmente mais estáveis quanto à deterioração (SOUZA, 2010), pode-se entender que a elevada acidez seja proveniente dos processos fermentativos ocorridos na preparação e conservação do samburá.

Foram encontrados os valores de acidez para o saburá *in natura* de 1738.641mEq/Kg. Após as diferentes técnicas de desidratação apresentaram valores de 1531.840mEq/Kg no (T1), 1217.014mEq/Kg em (T2) e 1556.742 mEq/Kg para o (T3), (Figura 20).

De acordo com o (Figura 21), quando comparamos os diferentes tratamentos de desidratação, verifica-se que o pólen no (T1) comparado ao (T2) apresenta uma maior acidez. A comparação entre T3 e T2 mostrou que o pólen submetido ao (T3) apresenta uma maior acidez que em (T2). Quando se compara (T3 -T1), não há diferença estatística entre os dois tratamentos.

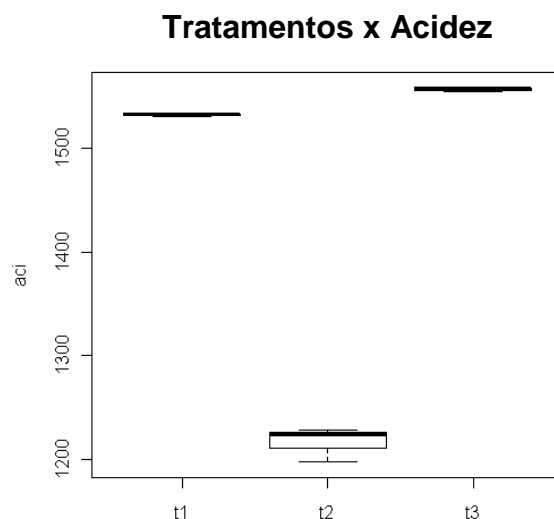


Figura 20 Min. 1º Qd. Mediana Média 3º Qd. Máx. 1198 1229 1532 1435 1554 1558 med desvp t1 1531.840 0.9728671 t2 1217.014 16.8205856 t3 1556.742 2.2291244

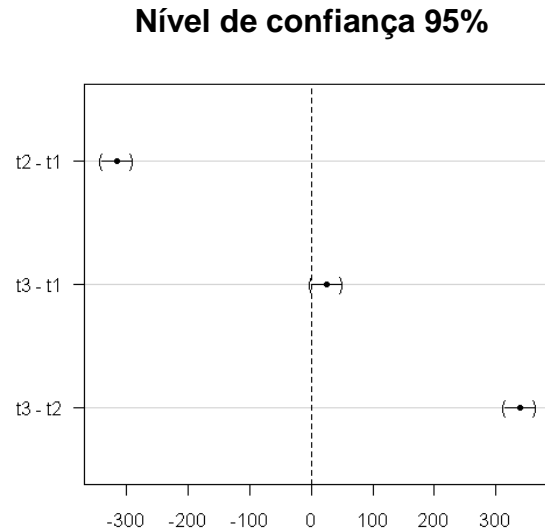


Figura 21 Nível de confiança

Foi encontrado no pólen *in natura* da *Melipona scutellaris* L. valor de pH 3.80. As amostras desidratadas por (liofilização, corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*) apresentaram valores de pH, respectivamente, 4.14 , 4.28 e 4.00 (Figura 22).

De acordo com o (Figura 22), existe diferença estatística entre os três tratamentos. Comparando-se as diferenças entre os tratamentos de desidratação, constata-se que (T1), quando comparado a (T2), apresentou um pH menor. A comparação entre T3 e T1 mostrou que o pólen submetido ao tratamento 3 apresentou um pH menor que em T2. Quando se compara (T3-T2), observa-se que o valor de pH no (T3) é menor que em (T2) .

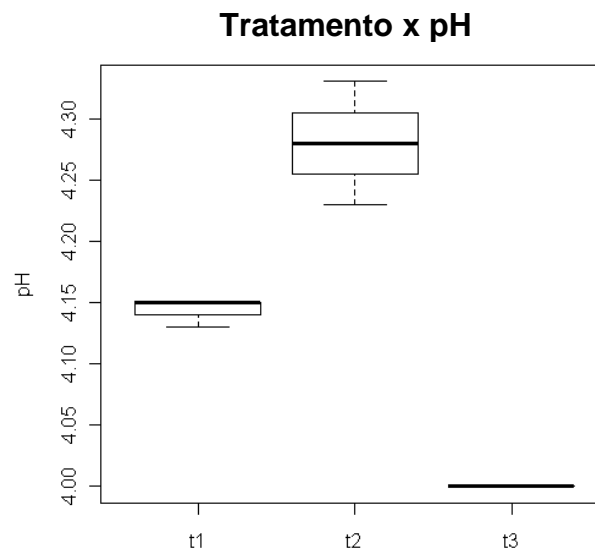


Figura 22 Min. 1º Qd. Mediana Média 3º Qd Máx. 4.000 4.000 4.150 4.141 4.230 4.330 med desvp
t1 4.143333 0.01154701 t2 4.280000 0.05000000 t3 4.000000 0.00000000

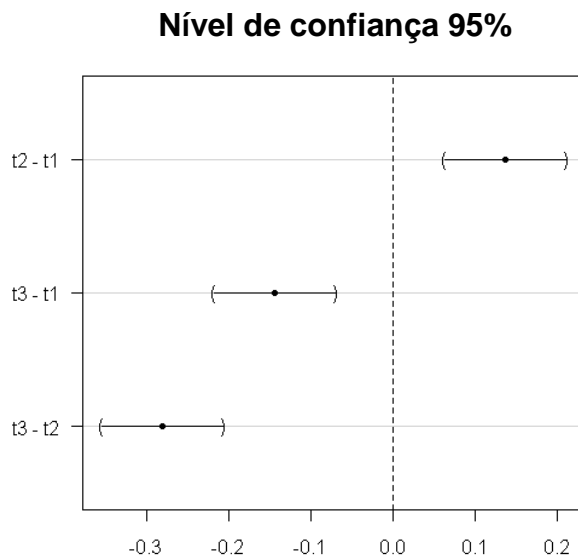


Figura 23 Nível de confiança - Cinzas

3.6 Cinzas

O percentual de cinzas encontrado no pólen da *Melipona scutellaris* L. foi (2,40) para a amostra *in natura*. As amostras desidratadas por (liofilização, corrente de ar frio e refrigerador *frost-free*) apresentaram, respectivamente, (3,92) (4,31) (3,61) (Figura 24). Esses resultados revelam o pólen um produto com considerável teor de minerais.

No Brasil, o pólen da espécie *A. mellifera* da região de Piracicaba, SP apresentou teor de cinzas $2,18 \pm 0,65\%$ (SOUZA et. al., 2004). Sampaio (1991) verificou que o pólen brasileiro, comercializado no Estado do Paraná, continha 2,9 a 6,9% de cinzas.

Outros estudos com o pólen de diferentes espécies de abelhas sem ferrão do estado de Amazonas mostraram valores de cinzas variando de 1,7 a 2,6% (SOUZA et. al., 2004).

A interpretação do (Figura 25) evidencia que os tratamentos apresentam significância estatística entre si. Ao se comparar as técnicas, observa-se que a amostra em (T2) apresentou um maior teor de cinzas em relação a (T1) e a (T3). Ao se comparar (T3-T1), encontra-se um maior teor de cinzas na amostra processada em (T1).

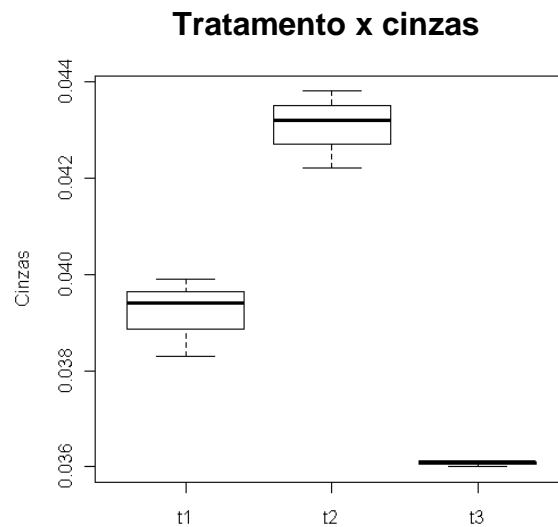


Figura 24 Min. 1^o Qd. Mediana Média 3^o Qd. Máx. 0.03600 0.03610 0.03940 0.03944 0.04220 0.04380
 med desvp t1 0.03920000 8.185353e-04 t2 0.04306667 8.082904e-04 t3 0.03606667 5.773503e-05

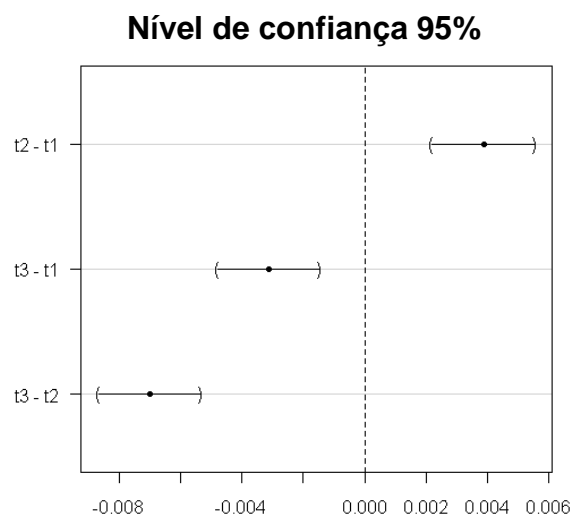


Figura 25 Nível de confiança - Cinzas

3.7 Minerais

Os minerais analisados no pólen coletado em Cazajeiras de Abrantes, Camaçari, Bahia, apresentaram os seguintes resultados (Tabela 1):

Tabela 1 Composição mineral encontrada no pólen da *Melipona scutellaris* L.

MINERAL	CONCENTRAÇÃO (mg/Kg)
Mn	45,3 ± 1,52
Zn	53,7 ± 6,98
Cu	23,4 ± 1,44
Mg	2499,8 ± 74,60
Ca	1800,0 ± 0,10
Fe	108,1 ± 16,44

3.7.1 Manganês (Mn)

Devido ao conteúdo natural de Mn na dieta, a via oral é geralmente considerada como fonte primária de exposição a este metal. As necessidades diárias de Mn (2,0 - 5,0 mg) não são bem conhecidas mas são, supostamente, cobertas por uma alimentação diversificada.

Segundo Carpes (2008) amostras de pólen apícola do Sul do país apresentaram o conteúdo mineral de Mn de 64,19±39,74 mg/kg .Funari (2003) encontrou 32,4 mg/kg de Mn.

Foi encontrado teor de 45,3 ± 1,52 mg/kg de Mn no pólen da *Melipona scutellaris* L. Os valores encontrados na determinação de Mn apresentaram 88% de exatidão.

3.7.2 Zinco (Zn)

Apesar da grande importância do bom funcionamento do metabolismo, o consumo de Zn costuma ser pequeno em diversos grupos populacionais. Nos alimentos, o Zn está presente em maiores quantidades nas carnes vermelhas e nas ostras, consideradas a fonte mais rica deste mineral

Os elementos Fe e Zn encontrados no pólen perfazem 5% da dose diária recomendada (RDA). A ingestão diária recomendada para o Zn é

aproximadamente 15,0 mg. Sendo que o teor de zinco chega a se apresentar em maior proporção do que em outros produtos apícolas. A presença de zinco, cobre, ferro e uma alta taxa de potássio/sódio tornam o pólen apícola um alimento interessante para dietas com um balanço eletrolítico definido (CARPES, 2008).

A média de Zn encontrada no samburá foi de $53,7 \pm 6,98$ mg/kg com 85% de exatidão.

Foram encontrados 88,4 mg/kg do mineral Zn em amostras pólen apícola (FUNARI, 2003). Segundo (Carpes, 2008), o pólen apícola do sul do país apresentou média de Zn nas amostras $50,63 \pm 16,25$ mg/kg .

3.7.3 Cobre (Cu)

O teor de Cu encontrado no pólen da *Melipona scutellaris* L. foi de $23,4 \pm 1,44$ mg/kg com 88% de exatidão.

Estudos mostram $11,4 \pm 2,97$ mg/kg de Cu em pólen apícola. A recomendação para o cobre situa-se na faixa de 1,5 a 3,0 mg/dia para um adulto sendo satisfatória a quantia de 1,5 mg/dia (CARPES, 2008).

Comparando-se o teor de Cu encontrado no pólen com o de outros alimentos (Tabela 2), quantidades maiores de Cu são encontradas apenas no fígado bovino e no cacau em pó (PROCOBRE, 2011).

Tabela 2 Alimentos que contem cobre (Cu)

Alimento	Conteúdo Médio de Cobre [mg/kg]
Carne bovina	1,1
Carne de cordeiro	1,6
Fígado bovino	39
Rim bovino	3,7
Maçãs	0,25
Bananas	0,95
Batatas	0,96
Genouras	0,61
Alface	0,72
Bacalhau	0,19
Farinha	1,5
Cacau em pó	36,4
Leite de vaca	0,06

Fonte: PROCOBRE, 2011.

3.7.4 Magnésio (Mg)

A ingestão diária recomendada para Mg é de 350,0 mg (BRASIL, 1998). No pólen de *Melipona scutellaris* L., a média de Mg encontrada na amostra foi de $2499,8 \pm 74,60$ mg/kg com 113% de exatidão, esse valor foi superior ao encontrado no pólen apícola do sul que apresentou teores de $764,62 \pm 24,40$ mg/kg (CARPES, 2008).

3.7.5 Cálcio (Ca)

A média de Ca encontrada na amostra foi de $1800,0 \pm 0,10$ mg/kg com 95% de exatidão. Superior à encontrada no pólen apícola do sul, que apresentou teores de 1031,96 mg/kg (CARPES, 2008). Segundo Brasil (1998), a ingestão diária recomendada para Ca é 800,0 mg.

3.7.6 Ferro (Fe)

A concentração média de Fe no samburá é; 108,1 mg/kg com 84% de exatidão, também superior ao pólen apícola do Sul do país que obteve 79,71 mg/kg.

Em outro estudo foi encontrado teor de Fe em pólen apícola de 114,2mg/kg (FUNARI, 2003).

As quantidades médias necessárias diariamente para os homens adultos e para as mulheres em idade fértil são cerca de 1,0mg e 1,5mg de ferro, respectivamente. Na gestação, principalmente no segundo e terceiro trimestres, para se preservar o balanço de ferro, são necessários 4 a 5mg de ferro, diariamente. A IDA de Fe recomendada para adultos é de 10,0 - 15,0 mg (WILLIAMS, 2002).

4 CONCLUSÃO

O pólen da espécie *Melipona scutellaris* L. coletado na região de Cazajeiros de Abrantes, Camaçari, estado da Bahia, Brasil, após desidratação, apresentou elevado teor de proteína, baixo teor de gordura, além de ser considerado boa fonte de fibras e minerais como cálcio e magnésio, os quais foram encontrados em elevadas concentrações. Contudo, devido a elevada acidez e alta concentração de Magnésio presente, recomenda-se que a utilização deste produto deve ser feita com restrições.

De acordo com os resultados apresentados na desidratação a técnica de liofilização mostrou-se mais eficiente. Entretanto, o alto custo de aquisição do equipamento pode ser um entrave na utilização deste pelos produtores. Dessa forma, estudos de custo-benefício são necessários para a eleição da técnica mais adequada no beneficiamento do pólen.

5 REFERÊNCIAS

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

SOUZA, R. C. da S.; Lucia YUYAMA, K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA F. P. M. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 2, p. 333 – 336. 2004.

MURADIAN, L. B. A. Controle de qualidade dos produtos apícolas com vistas a exportação. In: X Congresso Ibero-latinoamericano de Apicultura, 2010, Natal. X Congresso Ibero-latinoamericano de Apicultura, 2010.

FOOD Chemicals Codex. 7th ed. United States Pharmacopeial Conv. 2011. 1768p

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC . International*. 17a. ed. Gaithersburg: AOAC International.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 2008. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*. 4ed. São Paulo: IAL. Vol. 1, 533 p.

FERREIRA, A. F. ; ALVES, R. M. O. ; SODRÉ, Geni da Silva; CONCEICAO, P. J. ; PEREIRA, J. M. . Teores de umidade, atividade de água e cinzas do pólen da abelha *M. scutellaris* produzido em Camaçari. In: Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen, 2011, Ilhéus-Itabuna. Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen. Cruz das Almas : UFRB, 2011. v. 23. p. 32-32a.

FERREIRA, FREITAS ADAILTON, CARVALHO, CARLOS ALFREDO LOPES DE; ALVES; ROGÉRIO MARCOS DE OLIVEIRA, SODRÉ; GENI DA SILVA, MAIARA JANINE MACHADO CALDAS; JAQUELINE MACENA PEREIRA. Avaliação das características físico-químicas do pólen da *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) produzido no município de Conceição do Coité-BA., Magistra , Cruz das Almas, v. 23, número especial, outubro, 2011b.

SOUZA, D. C. Org. Apicultura: manual do agente de desenvolvimento rural/organizado por Darcet Costa Souza. 2º ed.rev. Brasília: Sebrae, 2007. 186p.

CAMARGO, J. M. F.; GARCIA, M. V. B.; Q JUNIOR, E. R.; CARTRILLON, A. Notas prévias sobre bionomia de *Ptilotrigona lúrida* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae): Associação de leveduras em pólen estocado. **Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. sér. Zool.**, v.8, n. 2, p. 391 – 391, 1992.

SOUZA R. C. S., YUYAMA L. K. O., AGUIAR, J. P. L., OLIVEIRA.F. P. M., **Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica**, Vol. 34(2): 333 - 336 • 2004.

SOUZA, L. M. ; CORREIA, K. C. ; SANTOS, A. M. G. ; BARRETO, L.P. ; BEZERRA NETO, E. . Comparação de metodologias de análise de pH e acidez total titulável em polpa de melão. In: X Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2010, Recife. X Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2010.

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera L.* da região Sul do Brasil**. 2008. 245f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa no 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola. Diário Oficial da União [da] Republica Federativa do Brasil, Brasília, D.F. 23 de jan 2001, Seção 16-I, 18-23.

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, março 2007.

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

LENGLER, S. Pólen apícola. Universidade Federal de Santa Maria. Porto Alegre RS, 2 ed., 2002. Disponível em: <www.brasilapicola.com.br/node/106>. Acesso em: 20 dez 2011.

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

MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A. dos e MORETI, A. C. de C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Cienc. Rural** [online]. 2006, vol.36, n.3, pp. 949-953. ISSN 0103-8478. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000300034>

BARRETO, L. M. R. C. ; RABELO, P. C. ; BELEZIA, C. O. . Perfil Protéico do Pólen Coletado po *Apis mellifera* (Híbrida Africanizada) no Período -Outono-Inverno no Apiário do Centro de Estudos Apícola da Universidade de Taubaté. In: XIII Congresso Brasileiro de Apicultura, 2000, Florianópolis. XIII Congresso

Brasileiro de apicultura. Florianópolis : Congresso Brasileiro de Apicultura, 2000. p. cdrom.

ORSI, R. O.; NEGRÃO, A.F. ; BARRETO, L. M. R. C. . PERFIL BROMATOLÓGICO DO PÓLEN APÍCOLA EM FUNÇÃO DE SUA GRANULOMETRIA. In: Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen, 2011, ILÉUS. Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen, 2011. v. 23. p. 34

FCC - Food Chemicals Codex (7ª Edição). (2010). The United States Pharmacopeial Convention. Online, Disponível em: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=3812&VerticalID=0> Acesso em: 10.09.2011.

PALMA, M.S. Composition of freshly harvested brazilian royal jelly: identification of carbohydrates from the sugar fraction. *Journal of Apicultural Research*, v.31, n.1, p.42-44, 1992.

MURADIAN, L. B. A.; PAMPLONA, L. ; COIMBRA, S. ; BARTH, O. M. . Chemical Composition and Botanical Evaluation of dried Bee Pollen pellets.. *Journal of Food Composition and Analysis*, Roma, v. 18, n. 1, p. 105-111, 2005.

COSTA, F.M. et al. Características produtivas e reprodutivas de colônias de *Apis mellifera* submetidas a alimentação natural na região de Maringá-PR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, 2000, Florianópolis. Anais... Florianópolis: CBA, 2000. (Compact disc).

SILVA SOBRINHO, A. G.; GONZAGA NETO, S. Produção de carne caprina e cortes da carcaça. In: 5º Encontro de Caprinocultores do Sul de Minas e Média Mogiana, 2001, Espírito Santo do Pinhal, SP, 2001.

FUNARI, S.R.C. et al. Composições bromatológica e mineral do pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.11, n.2, p.88- 93, 2003.

SAMPAIO, E. A. B. Pólen apícola: caracterização e processamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1994.

UCHOA, A. M. A.; COSTA, J. M. C.; MAIA, G. A.; SILVA, E. M. C. CARVALHO, A. F. F. U. MEIRA, T. R. Parâmetros Físico-Químicos, Teor de Fibra Bruta e Alimentar de Pós Alimentícios Obtidos de Resíduos de Frutas Tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 15, n. 2, p. 58-65, 2008

PROCOBRE, International Copper Association Ltd. New York, NY Alimentos que contêm cobre. **Sobre cobre/ Principais usos do cobre/ Saúde**. 2011, Online. Disponível em: <http://www.procobre.org/pr/sobre_o_cobre/pu_saude_07.html> Acesso em: 23.05.2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n º 33, de 13 de janeiro de 1998. Adotar os valores constantes das seguintes Tabelas do anexo desta portaria, como níveis de IDR para as vitaminas, minerais e proteínas Online, Brasília, Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm> Acesso em: 07.05.2011.

WILLIAMS, M. H. **Nutrição para saúde, condicionamento físico & desempenho esportivo.** 5ª Ed. Chicago:manole, 2002. 500p.

**CAPÍTULO 3: Avaliação microbiológica das amostras do pólen da
Melipona scutellaris L. submetido a diferentes processos de desidratação**

1 INTRODUÇÃO

O pólen coletado das plantas pelas abelhas é transportado nas patas, mais precisamente nas corbículas (cestas), recebe a “ensalivação”, momento em que é enriquecido com enzimas e vitaminas, sendo desta maneira estocado nos potes, passando a ser chamado “pão das abelhas” (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Avaliando o conteúdo dos nutrientes existentes no pólen, uma grande variedade de microrganismos poderia crescer neste substrato. Neste contexto, deve-se ressaltar a importância dos contaminantes naturais, como as micotoxinas, que são produtos tóxicos do metabolismo secundário de fungos que podem colonizar os alimentos durante a colheita, o transporte e, principalmente, durante o armazenamento, sendo capazes de causar danos à saúde humana (GONZÁLEZ et al., 2005 APUD RODRIGUES., 2008).

Apesar de ser reconhecido como benéfico para a saúde humana (Linskens & Jorde, 1997), o consumo do pólen exige cautela, por ser suscetível aos contaminantes ambientais e ao crescimento de microrganismos, sendo necessário rigor em seu processamento. Estudos alertam e discutem sobre a qualidade nutricional do pólen (Roulston & Cane, 2002; Cook et al., 2003). A inocuidade alimentar é um aspecto extremamente relevante a ser considerado em um alimento. A avaliação da qualidade microbiológica de um produto fornece informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e potencial de risco à saúde da população, isto é, potencial de ser um veículo de transmissão de doenças de origem alimentar (FRANCO & LANDGRAF, 1996a).

Durante as últimas três décadas, a atividade de água (A_w) tem sido um dos mais importantes parâmetros para avaliação da preservação dos alimentos e seu processamento (GARCIA, 2004).

A atividade de água (A_w) de uma solução ou alimento pode ser definida como a relação entre a pressão de vapor da água no alimento (P) e a pressão de vapor da água pura (P_0). Quando não existe água disponível, a medida da A_w será igual a zero sendo o máximo de A_w igual a 1,000 (teor encontrado em amostras constituídas em sua totalidade por água) (CORREIA-OLIVEIRA, 2008).

Nos alimentos, a água existe sob duas formas: água livre e água combinada (DITCHFIELD, C., 2000).

a) água livre, que está simplesmente contida no material, é a mais abundante e é perdida facilmente;

b) água combinada, que faz parte da estrutura do material, ligada a proteínas, açúcares e adsorvida na superfície de partículas coloidais, necessita de níveis elevados de temperatura para sua remoção (CÓRDOVA, K. R.V., 2006).

A atividade de água é uma forma de expressar a quantidade de água que se encontra disponível para reagir e/ou promover o desenvolvimento de microrganismos e reações químicas deteriorativas. Durante a estocagem, o estudo de deterioração de produtos alimentícios desidratados envolve o conhecimento da velocidade de reações específicas, em função da temperatura e da atividade de água (Figura 1) (PADULA; OLIVEIRA, 1987).(SANTOS, 2004).

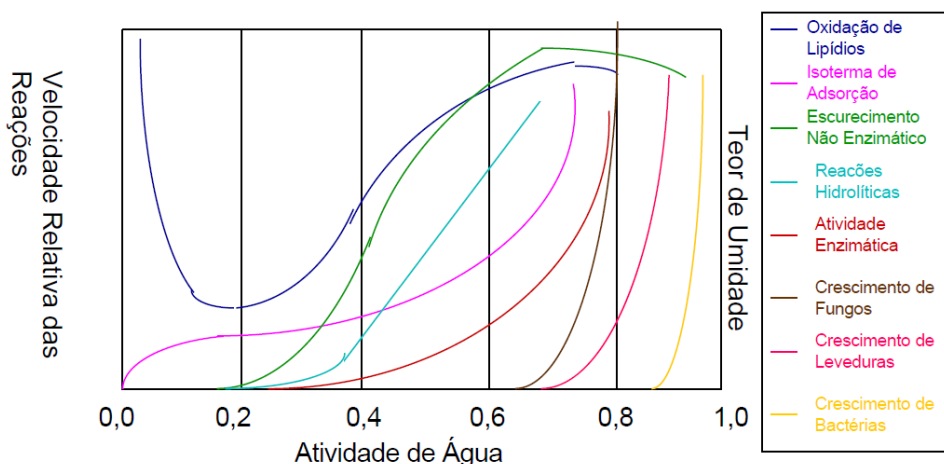


Figura 1 Cheftel & Cheftel (adaptada),

A atividade de água (A_w) não é um parâmetro estabelecido na legislação, porém indica a possibilidade de desenvolvimento microbiano (SCHLABTIZ, 2010). A maioria dos microrganismos que causam deterioração em alimentos possui dificuldade em desenvolver-se em produtos com A_w inferiores a 0,90. O crescimento de leveduras e fungos cessa em A_w abaixo de 0,85 e 0,70, respectivamente. Pode-se considerar um alimento estável

geralmente, quando a atividade de água é inferior a 0,60 sendo esses alimentos classificados como desidratados (CORREIA-OLIVEIRA, 2008).

Os microrganismos toleram diferentes teores mínimos de A_w , porém, quando se alcança o limite individual de A_w de um produto, os respectivos microrganismos não têm condições para se desenvolverem. Por isso, a A_w pode ser utilizado como parâmetro para avaliar a qualidade de um produto (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Os dados a respeito das condições higiênico-sanitárias de pólen de meliponíneos produzido no Brasil e de sua composição são escassos. Assim, o presente trabalho apresenta uma pesquisa, onde se objetivou mensurar a (A_w) e verificar a microbiota relevante do pólen da *Melipona scutellaris* L. *in natura* e desidratado por diferentes técnicas.

A determinação da microbiota é de grande importância ao trazer informações sobre as condições microbiológicas do alimento, informando os potenciais riscos de se consumir o produto.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Cargas de pólen de 10 colônias, aproximadamente 2 kg, foram coletadas e armazenadas em potes de vidro hermeticamente fechados, posteriormente acondicionados em caixa de isopor, com material congelante reutilizável para conservação até o laboratório. O material coletado foi homogeneizado e congelado em freezer *frost-free* a aproximadamente (-24°C) para eliminação de ácaros. Em seguida, foi descongelado lentamente e armazenado em geladeira *frost-free* (4°C) até o momento da desidratação pelas diferentes técnicas (Liofilização, por corrente de ar frio e refrigerador do tipo *frost-free*).

Para a avaliação da atividade de água, operou-se o aparelho AQUALAB LITE, modelo DECAGON / BRAS EQ, que utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medir a atividade de água de um produto. Foi colocado aproximadamente 1g de pólen no aparelho.

As análises de controle microbiológico foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal

da Bahia. Foram feitas as contagens: *Bacillus cereus*, *Clostridium* sulfito redutor, bolores e leveduras; determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes 45°C, *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella sp*, segundo a metodologia preconizada pelo APHA - American Public Health Association - 4ª Edição, 2001. e os padrões microbiológicos para controle de alimentos de origem animal estabelecidos pela Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do MAPA (BRASIL, 2003).

2.1 Diluições decimais seriadas

As amostras foram submetidas às diluições seriadas decimais, pesando-se 25g de todas as amostras e adicionando-se 225 mL de água tamponada fosfatada, pH 7.2, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A diluição de 10^{-2} foi obtida, transferindo-se 1,0mL da diluição de 10^{-1} para um tubo contendo 9mL do mesmo diluente e assim, sucessivamente, para as demais diluições de 10^{-3} e 10^{-4} .

2.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes

2.2.1 Teste Presuntivo

A partir das diluições seriadas (conforme descrito no item acima), procede-se o teste presuntivo, inoculando-se 1,0 mL de cada diluição, em uma série de três tubos contendo 9,0mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLT), contendo tubos de fermentação de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a 35°C / 24 a 48 horas. Os tubos positivos no CLT foram reservados e prosseguiu-se a análise, para o teste confirmativo.

2.2.2 Teste Confirmativo

A partir dos tubos positivos com produção de gás em CLT, transferiu-se duas alçadas para tubos contendo Caldo EC e incubou-se durante 24 horas a temperatura de 45°C em banho-maria.

2.3 Contagem de *Bacillus cereus*

A partir das diluições seriadas (conforme descrito no item) transferiu-se 0,1 mL de cada diluição na superfície das placas de Petri contendo Ágar Gema

de Ovo Polimixina Vermelho de Fenol. Espalhou-se o inóculo com alças de Drigalski até absorção total e incubou-se a temperatura de 37°C por 24 horas.

As colônias típicas selecionadas foram submetidas aos testes bioquímicos de Gelatinase , Redução de Nitritos, Fermentação da glicose e Teste de Voges – Proskauer e ao método da coloração de gram.

2.4 Contagem de clostrídios sulfito redutor

A partir das diluições seriadas, conforme descrito acima, transferiu-se assepticamente 1 mL de cada diluição para as placas de petri previamente esterilizadas. Em seguida, foram vertidos sobre estas placas 15 a 20 mL do Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS), previamente fundido e resfriado a 45°C, homogeneizou-se através de movimentos suaves das placas. Aguardou-se a solidificação do Agar e verteu-se sobre o meio outra quantidade de 15 a 20mL do Agar SPS. Aguardou-se a completa solidificação da sobre camada e incubou-se a 46°C por 18-24hs, em atmosfera anaeróbia (Jarra de Gaspak com envelope gerador de anaerobiose).

2.5 Pesquisa de *Salmonella* spp

Para a pesquisa de *Salmonella* sp., foram seguidas as seguintes etapas:

Pré-enriquecimento:

Foram pesadas, de forma asséptica, 25g da amostra, adicionados 225mL de Caldo Lactosado com incubação a 35°C, durante 18 a 24h.

Enriquecimento:

Agitou-se delicadamente o frasco com o caldo de pré-enriquecimento e transferiu-se 1mL para tubo contendo 10mL do Caldo Tetrionato e 1,0 mL para tubo contendo 10,0 mL de Caldo Rappaport – Vassiliadis e incubou-se ambos os tubos a 35°C por 24h.

2.5.1 Semeadura seletiva diferencial:

Agitou-se os tubos de enriquecimento seletivo e estriou-se uma alçada de cada caldo de enriquecimento em placas contendo os seguintes meios: Agar Entérico de Hektoen (HE), Agar Sulfito de Bismulto (BS) e Agar Xilose

Lisina Desoxicolato (XLD). Em seguida, incubou-se todas as placas a 35°C para crescimento e observação das colônias.

2.5.2 Confirmação:

Inocularam-se as colônias típicas em um tubo contendo Ágar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI) e Ágar Lisina de Ferro (LIA). Incubada a 35°C, e observou-se a ocorrência de reação típica para *Salmonella*. As culturas típicas em TSI foram confirmadas através de testes bioquímicos de: urease; indol; fermentação do dulcitol, lactose e sacarose; vermelho de metila e vogues proskauer e submetidas aos testes sorológico somático e flagelar.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade de água

A atividade de água pode ser considerada um importante indicador de qualidade no que diz respeito à preservação de determinados produtos. Segundo (BARRETO et al, 2005), o pólen pode ser considerado desidratado quando possuir a atividade de água de até 0,57 (Aw).

No presente estudo, o pólen de *Melipona scutellaris* L. *in natura* analisado apresentou atividade de água média Aw 0,82. Em estudos realizados por (FERREIRA et al, 2011a; FERREIRA et al, 2011b) com pólen *in natura* de melíponas procedentes de municípios baianos, foram encontrados valores médios ainda mais elevados, a saber: atividade de água (Aw) de 0,95 no pólen *Melipona scutellaris* L. e 0,91 para *Melipona quadrifasciata anthidioides*.

Estes resultados demonstram claramente a necessidade de processos de secagem que venham a contribuir com a redução da (Aw) desses produtos.

Quando o pólen foi submetido a diferentes processos de desidratação (liofilização, em refrigerador *frost-free*, e por corrente de ar frio), os valores de atividade de água encontrados foram, respectivamente, 0,15, 0,22 e 0,56 Aw (Figura 2).

Comparando-se os processos de desidratação entre si, verificou-se que houve diferença estatística significativa. O processo de liofilização (T1), quando comparado aos outros dois processos de desidratação, mostrou-se mais eficiente na retirada de água do pólen (Figura 3).

A técnica de desidratação, utilizando-se o refrigerador *frost-free* (T3), reduziu a A_w da amostra de 0,82 para 0,22. Esse processo se caracterizou mais eficiente do que (T2), que utiliza desidratação por corrente de ar frio. A maior atividade de água (A_w) foi encontrada na amostra *in natura* e a menor na amostra liofilizada. A amostra de pólen *in natura* apresentou valores acima de $0,57A_w$. Portanto, esses valores evidenciam a necessidade de desidratação deste produto (BARRETO et al, 2005).

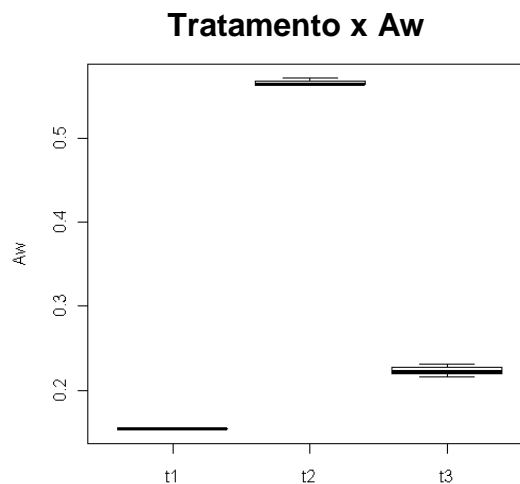


Figura 2 Min. 1º Qd. Mediana Média 3º Qd. Máx. 0.1540 0.1550 0.2230 0.3147 0.5640 0.5710 med desvp T1 0.1543333 0.0005773503 T2 0.5663333 0.0040414519 T3 0.2233333 0.0075055535

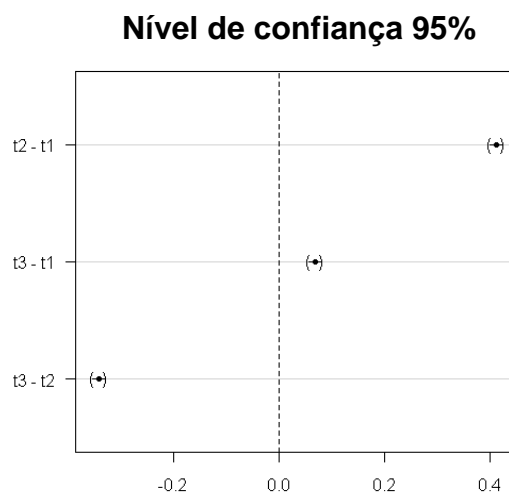


Figura 3 Nível de confiança – Atividade de água

A atividade de água em amostras do pólen *in natura* da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) não apresentou diferenças significativas; entretanto os valores são elevados e foram: mediana (0,776), máximo (0,811) e mínimo (0,715) RODRIGUES, et al (2008)

A legislação brasileira não estabelece parâmetros para a atividade de água em amostras de pólen, porém esse dado pode ser utilizado para avaliar a qualidade do produto (OLIVEIRA ET AL., 2008).

3.2 Análises Microbiológicas

Os dados médios obtidos a partir da análise das amostras de pólen provenientes de 10 colônias de *M. scutellaris* encontram-se na (Tabela 1).

Visto então que o pólen é muitas vezes consumido “*in natura*”, em pequenas porções, utilizamos como limite de 10^2 UFC/ g para fins comparativos na determinação da qualidade higiênica do pólen.

Tabela 1. Avaliação microbiológica do pólen da *Melipona scutellaris* L.

AMOSTRA DE PÓLEN	Coliformes a 45° C NMP/g	<i>Escherichia coli</i> NMP/g	Bolores e leveduras UFC/g	<i>Bacillus cereus</i> UFC/g	Clostrídios sulfito redutor 46° C UFC/g	<i>Salmonella</i> sp.
IN NATURA	< 3,0	< 3,0	< $1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	AUSÊNCIA
CORRENTE AR FRIO	4,0	< 3,0	$1,4 \times 10^3$	$3,7 \times 10^3$	$2,4 \times 10^2$	AUSÊNCIA
FROST FREE	< 3,0	< 3,0	< $1,0 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	AUSÊNCIA
LIOFILIZADO	< 3,0	< 3,0	< $1,0 \times 10^2$	$2,2 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	AUSÊNCIA

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por grama

NMP/g - Número mais provável por grama

Metodologia: APHA - American Public Health Association - 4ª Edição, 2001.

A análise das amostras expõe algumas diferenças entre os parâmetros observados na análise do pólen de *M. scutellaris* em relação aos valores encontrados na literatura para abelhas *Apis mellifera*. Não existe no Brasil uma norma baseada nas características dos polens de meliponíneos brasileiros, sendo seguidos limites oriundos de outros países como a norma da Comunidade Econômica Européia e o “Codex Alimentarius”, cujos limites para a composição e qualidade do pólen são estabelecidos de acordo com as especificações da FAO, que entende como pólen um produto com características baseadas apenas na espécie *A. mellifera*, única espécie melífera originária do continente euro-africano.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen (BRASIL, 2001) não é específico na determinação dos critérios microbiológicos deste alimento (Tabela 2). A Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) fixa o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Entretanto, ocorre uma dificuldade prática de localização da melhor categoria que enquadre corretamente este produto.

Tabela 2: Parâmetros microbiológicos do pólen apícola

Micro-organismo	Critério de aceitação	Categoria I. C. M. S. F**	Metodo para análise
Coliformes a 45C/g	n=5 c=0 m=0	5	APHA 1992 c.24
<i>Salmonella</i> SSP I	n=5 c=0 m=0	10	FIL 93 ^A 1985
<i>Shigella</i> spp (25g)			
Fungos e leveduras	n=5 c=2 m=0	2	FIL 94B: 1990
UFC/g*	M=100		
<i>Paenibacillus larvae</i>	n=5 C=0 M=0	-	-

*UFC/g: Unidade formadora de colônia **Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. Fonte: BRASIL, 2001.

Em trabalho realizado por (HERVATIN, 2009), verificou-se que amostras analisadas de pólen apícola *in natura* e desidratadas mostraram-se isentas dos

principais patógenos como *Salmonella* sp e Estafilococos coagulase positiva, porém a população de bolores e leveduras foi relativamente elevada.

Em outros estudos a microbiota encontrada no pólen de meliponíneos inclui os principais gêneros toxígenos e/ou patogênicos para os animais e humanos. Foram isoladas cepas pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor* e *Curvularia*. De acordo com as normativas existentes, todas as amostras de pólen analisadas excederam o limite de 10^2 UFC/g. Ainda foi relatado em pólen de melípona os seguintes fungos: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*. As espécies encontradas com maior frequência foram: *Penicillium* sp. (100%), *Aspergillus niger* (67%) e *Cladosporium cladosporioides* (67%). Esses resultados identificaram baixa qualidade higiênica deste alimento e, portanto, uma necessidade da aplicação de melhores práticas de fabricação, em especial na manipulação, para prevenir a proliferação fúngica neste substrato (RODRIGUES, et al 2008).

A legislação para geléia real é a única que, explicitamente, limita em 100 UFC/ml de contaminação para fungos e leveduras no produto; o mesmo ocorre com a Farmacopéia Brasileira (1988), que estipula um limite de contaminação de até 100 UFC/ml para fungos e 300UFC/ml para bactérias em produtos não estéreis utilizados para manipulação farmacêutica (RODRIGUES, 2008).

4. CONCLUSÕES

Apesar da importância do pólen de meliponíneos, ainda pouco se sabe sobre a sua qualidade, especialmente sobre a presença de microrganismos.

Não há critérios microbiológicos específicos para este produto analisado, mas, de acordo com as normativas existentes, as amostras de pólen liofilizado e desidratado por corrente de ar frio excederam o limite de 10^2 UFC/g para *Bacillus cereus*.

A microbiota do pólen desidratado mostrou ser composta dos seguintes microrganismos: bolores e leveduras (fungos), seguidos das bactérias esporuladas *Bacillus cereus*, e clostrídios sulfito redutores. Sendo que os

microrganismos mais relevantes encontrados foram bolores e leveduras. A presença de *Salmonella* sp não foi detectada nas amostras analisadas.

Os resultados evidenciam a importância da desidratação deste produto, e, por outro lado, mostra que o mesmo requer embalagem adequada que permita assegurar a sua baixa atividade de água.

5. REFERÊNCIAS

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p

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

LINSKENS, H. F. & JORDE, W. Pollen as food and medicine. A review. **Economic Bot.**, 51:77-78, 1997.

ROULSTON, T. H. & CANE, J. H. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (*Hymenoptera:Apiformes*). **Evolution. Ecol.**, 16: 49-65, 2002.

COOK, S.M.; AWMACK, C.S.; MURRAY, D.A. & WILLIAMS, I.H. Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? **Ecol. Entomol.**, 28:622-627, 2003.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF.M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 215p.

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

OLIVEIRA, M. E.C. ; FERREIRA, A. F.; PODEROSO, J. C. M.; LESSA, A. C. V.; CARNELOSSI, M. A. G.; ARAUJO, E. D.; RIBEIRO, G. T. Atividade de água (aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do estado de Sergipe. **Revista da FAPES de Pesquisa e Extensão**, v. 04, p. 27-36, 2008.

BARRETO, L.M.R.C.; Funari, S.R.C.; Orsi, R.O. **Pólen apícola: perfil da produção no Brasil**. In: CONGRESSO DE APICULTURA DO MERCOSUL. Junho, 2005. Punta del Este. Uruguay

FERREIRA, A. F. ; ALVES, R. M. O. ; SODRÉ, Geni da Silva; CONCEICAO, P. J. ; PEREIRA, J. M. . Teores de umidade, atividade de água e cinzas do pólen da abelha *M. scutellaris* produzido em Camaçari. In: Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen, 2011, Ilhéus-Itabuna. **Seminário Brasileiro de Própolis e Pólen**. Cruz das Almas : UFRB, 2011. v. 23. p. 32-32a.

FERREIRA, F. A.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O.; SODRÉ, G.; SILVA, M. J. M.; CALDAS, J. M. P. Avaliação das características físico-químicas do

pólen da *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) produzido no município de Conceição do Coité-BA., **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, número especial, outubro, 2011b.

HERVATIN, H. L. **Avaliação microbiológica e físico-química de pólen apícola *in natura* e desidratado sob diferentes temperaturas.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2009.

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados apresentados no presente estudo demonstram que o pólen desidratado da *Melipona scutellaris* L. é um alimento que apresenta potencial nutritivo de alta relevância com destaque para os elevados teores de proteína e minerais, em especial cálcio e magnésio e baixo teor de lipídeos. O pólen desidratado pode ser considerado como boa fonte de fibra. No estudo realizou-se a comparação de três diferentes técnicas de desidratação e em relação à composição encontrou-se diferença significativa nas médias para os diferentes parâmetros estudados, com exceção dos teores de fibras. Quando comparado o processo de desidratação por *frost-free* com a técnica de corrente de ar frio, usualmente utilizada pelos apicultores não houve variação significativa nos resultados obtidos. A técnica de liofilização mostrou-se ser a mais eficiente na redução da A_w e umidade do pólen, e conseqüentemente apresentou maior concentração de proteínas, lipídios e fibras no produto. Por outro lado a técnica realizada, através do refrigerador *frost-free* também mostrou ser eficiente na desidratação do pólen da *Melipona scutellaris* L., bastante eficaz pelo baixo custo de aquisição do equipamento frente aos demais utilizados experimentalmente.