

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS OURICURI
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

BÁRBARA ELIZABETH ALVES DE MAGALHÃES

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA COMERCIAL

**Ouricuri - PE,
2015**

BÁRBARA ELIZABETH ALVES DE MAGALHÃES

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA COMERCIAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura Plena em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Ouricuri, para a obtenção do título de Licenciada em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. M. Sc. Paulo Alvacely Alves Ribeiro Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Tarsio Thiago Lopes Alves

Ouricuri - PE,

2015

M188e MAGAHLÃES, Bárbara Elizabeth Alves de

Estudo da Composição de Pólen Apícola Comercial./ Bárbara Elizabeth
Alves de Magalhães - 2015

38f.: Il.

TCC (Licenciatura Plena em Química) – Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano – Campus Ouricuri, 2015.

Orientação – Professor MSc. Paulo Alvacely Alves Ribeiro Júnior

1. Compostos Bioativos. 2. Fenólicos. 3. Pólen Apícola. I Título

CDD 638.1

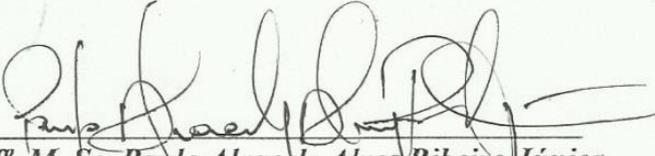
Bárbara Elizabeth Alves de Magalhães

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA COMERCIAL

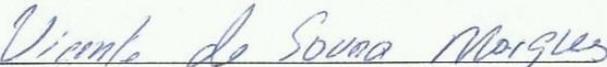
Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Coordenação do Curso de Licenciatura em Química/Campus Ouricuri – Departamento de Ensino do Instituto Federal do Sertão Pernambucano, como parte dos requisitos necessários e obrigatórios à obtenção do grau de Licenciada em Química.

Ouricuri, 12 de novembro de 2015

Aprovado por:


Prof. M. Sc. Paulo Alvacely Alves Ribeiro Júnior
IF Sertão PE – Campus Ouricuri
(Orientador/Presidente)


Prof. M. Sc. Ana Danielle de Queiroz Melo
Instituto Federal do Ceará
(Examinadora Externa)


Prof. M. Sc. Vicente de Sousa Marques
IF Sertão PE – Campus Ouricuri
(Examinador Interno)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado discernimento, paciência e perseverança para desenvolver este trabalho.

Ao professor Alcidênio Pessoa, pela orientação, apoio e paciência.

Ao professor Tarsio Alves, pela colaboração no estudo do pólen.

Ao professor Paulo Alvacely, por sua disponibilidade, atenção e apoio.

Ao professor Tiago Silva, pela oportunidade de participação do projeto de iniciação científica que antecedeu e deu aporte a realização deste trabalho.

Ao professor Jackson Roberto, pela disponibilização do laboratório de Bioquímica da UNIVASF para a execução de procedimentos experimentais deste trabalho.

Aos colegas Fernanda Granja, Ana Paula Oliveira e Marinaldo Júnior, pela disponibilidade, presteza e colaboração na parte experimental.

A todos dos laboratórios de Bioquímica da UNIVASF e de Química do IF Sertão Pernambucano, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao IF Sertão Pernambucano *Campus* Ouricuri, pelas inúmeras oportunidades de crescimento acadêmico, profissional e pessoal proporcionadas ao longo do curso.

Aos professores do IF Sertão Pernambucano *Campus* Ouricuri, pelos muitos ensinamentos, e aos colegas de estudo, pelos momentos de descontração, parceria e aprendizado.

Aos meus familiares pelo carinho, apoio e incentivo, principalmente aos meus amados pais Cleone e Francisco, minha maravilhosa avó Maria Elizabeth, meus queridos irmãos Francisco Júnior e Pablo, e meus estimados tio Irineu e Jasiel. Especialmente, agradeço a meu sobrinho João Lucas, por todo amor e carinho.

*“Não é digno de saborear o mel
aquele que se afasta da colmeia
por medo das picadas das abelhas.”
(William Shakespeare)*

SUMÁRIO

LISTAS DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 - INTRODUÇÃO	10
2 - REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 - Compostos bioativos	13
2.2 - Antioxidantes	13
2.3 - Compostos fenólicos	15
2.4 - Pólen	16
2.5 - Pólen apícola	16
2.6 - Pólen apícola na alimentação humana	18
2.7 - Pólen apícola na saúde humana	19
2.8 - Qualidade do pólen apícola comercial	19
3 - OBJETIVOS	21
3.1 - Objetivo geral	21
3.2 - Objetivos específicos	21
4 - MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 - Triagem fitoquímica qualitativa	22
4.2 - Extratos etanólicos de pólen apícola	23
4.3 - Compostos fenólicos totais	25
4.4 - Avaliação de qualidade	26
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 - Triagem fitoquímica qualitativa	29
5.2 - Extratos etanólicos de pólen apícola	30
5.3 - Compostos fenólicos totais	31
5.4 - Avaliação de qualidade	34
6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Abelha africanizada e pólen apícola	17
FIGURA 2: Amostras de pólen apícola comercial desidratado: a) P1, b) P2, c) P3 e d) P4.....	22
FIGURA 3: Esquema de métodos testados para obtenção de EEP	24
FIGURA 4: Esquema do método extrativo por repouso no escuro.....	25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Parâmetros físico-químicos de qualidade para o pólen apícola comercial desidratado.....	20
TABELA 2: Sistemas de eluição e reveladores utilizados na triagem fitoquímica das amostras de pólen apícola por cromatografia em camada delgada.....	23
TABELA 3: Triagem fitoquímica qualitativa de pólen apícola comercial desidratado, por cromatografia em camada delgada.....	29
TABELA 4: Propriedades físico-químicas qualitativas das amostras de pólen apícola comercial desidratado.....	34

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Curva padrão de ácido gálico.....	31
GRÁFICO 2: Quantidade de compostos fenólicos em mg GAE/g pólen apícola	32

RESUMO

O pólen apícola surge quando as abelhas recolhem os grãos de pólen das anteras e agregam-no com o auxílio de néctar e saliva. A composição química e o valor nutricional dos grãos dependem principalmente das espécies florais polinizadas pelas abelhas e de fatores ambientais. A presença de compostos bioativos justifica o uso do pólen apícola e seus extratos para tratamentos medicinais. Este trabalho surge da necessidade de obter informações referentes às características do pólen apícola comercializado, devido ao crescente consumo desse produto. Para investigar a presença de compostos bioativos no pólen apícola comercial foi realizada uma triagem qualitativa através do método de cromatografia em camada delgada. A determinação das concentrações de compostos fenólicos totais nas amostras foi realizada com os extratos preparados, adotando-se o método espectrofotométrico. A avaliação dos parâmetros de qualidade do pólen apícola comercial foi realizada através de análises físico-químicas (pH, umidade, acidez livre, cinzas e açúcares totais). Os resultados obtidos na triagem indicaram em todas as amostras analisadas a presença de compostos fenólicos, principalmente flavonoides, e de derivados antracênicos, especialmente iridoides. O teor de compostos fenólicos totais nas amostras variaram entre 5,194 e 19,083 mg GAE/g pólen apícola. Dentre os requisitos físico-químicos avaliados, apenas a umidade das amostras foi identificada fora dos parâmetros, em valores superiores ao máximo estabelecido.

Palavras-chave: compostos bioativos, fenólicos, pólen apícola.

ABSTRACT

The bee pollen occurs when bees collect the pollen from the anthers and add it with the aid of nectar and saliva. The chemical composition and nutritional value of the grains depend mainly of floral species pollinated by bees and environmental factors. The presence of bioactive compounds justifies the use of bee pollen and its extracts for medicinal treatments. This paper arises from the need to obtain information regarding the characteristics of bee pollen sold due to the increasing consumption of this product. To investigate the presence of bioactive compounds in commercial bee pollen a qualitative screening was performed by chromatography on thin layer method. The determination of the concentrations of phenolic compounds in the samples was carried out with prepared statements, adopting spectrophotometric method. The evaluation of the commercial bee pollen quality parameters was performed by physical and chemical analysis (pH, moisture, free acidity, ash and total sugars). The results of the screening indicated in all samples analyzed the presence of phenolic compounds, especially flavonoids, and anthracene derivatives, especially iridoid. The content of phenolic compounds in the samples ranged between 5.194 and 19.083 mg GAE/g bee pollen. Among the physicochemical requirements evaluated, only the humidity of the samples was identified outside these parameters, for values greater than the maximum established.

Keywords: bioactive compounds, phenolics, bee pollen.

1 - INTRODUÇÃO

O Brasil é um país privilegiado por sua rica biodiversidade e tem se destacado devido à existência de diversas espécies de frutas e plantas ricas em antioxidantes, substâncias com capacidade de ação contra danos normais causados pelos efeitos do processo fisiológico de oxidação (FINLAYS TEA SOLUTIONS, 2009).

Os antioxidantes são substâncias capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (SOUSA, *et al.*, 2007). Os radicais livres são compostos oxidantes produzidos pelo metabolismo normal do corpo (MELO, *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, muitas evidências têm indicado o papel dos oxidantes como responsáveis pelo envelhecimento e pelo desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas associadas a esse fator (ROESLER, *et al.*, 2007). A produção de radicais livres pode ser controlada por compostos antioxidantes (MELO, *et al.*, 2006).

Quando incorporados à alimentação humana, os antioxidantes conservam a qualidade do alimento, além de reduzir os efeitos danosos causados pela ação dos radicais livres. Os antioxidantes podem ser de origem endógena ou proveniente da dieta alimentar. Tendo em vista que antioxidantes sintéticos podem representar riscos à saúde humana, tem se tornado crescente a busca por antioxidantes naturais (ANDREO e JORGE, 2006).

Neste contexto, existe uma tendência mundial de busca por produtos naturais, favorável ao consumo de produtos como suplemento para dietas e com fins terapêuticos. O pólen apícola tem se destacado nesse mercado de produtos naturais devido às suas excelentes propriedades (VASCONCELOS, DUARTE e LÓPEZ, 2011).

Pólen é o gameta masculino das flores das plantas, produzido pelas anteras e atraído pelo ovário para garantir a fecundação e reprodução da planta. O pólen apícola surge quando as abelhas recolhem os grãos de pólen das anteras e agregam-no com auxílio de néctar e saliva (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

Para produção do pólen apícola, as abelhas podem visitar uma ou várias espécies florais (MORETI, *et al.*, 2002). A composição química e o valor nutricional dos grãos de pólen apícola são variáveis, sendo determinados por vários fatores. Em especial, dependem da origem das espécies polinizadas pelas abelhas e de fatores ambientais, como condições climáticas e tipo de solo (VASCONCELOS, DUARTE e LÓPEZ, 2011).

Por suas características terapêuticas e dietéticas benéficas para a saúde humana, o pólen apícola tem sido considerado um alimento diferenciado (KERR, CARVALHO e NASCIMENTO, 1996), amplamente consumido. Este produto é um alimento completo, pois é fonte de energia, rico em nutrientes e em substâncias bioativas (MEDEIROS, 2006).

O pólen apícola e seus extratos têm sido usados de forma medicinal (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011) devido à presença de substâncias bioativas com atividade antioxidante e altos teores de compostos fenólicos (ALMEIDA-MURADIAN, *et al.*, 2005; MEDEIROS, 2006; CARPES, *et al.*, 2008).

Os compostos fenólicos são aqueles que apresentam ao menos uma hidroxila ligada a um anel aromático, nas formas simples ou de polímeros (ANGELO e JORGE, 2007). Esses compostos apresentam muitas propriedades fisiológicas (ANDREO e JORGE, 2006), que podem justificar o uso terapêutico do pólen apícola, já que este produto contém tais compostos.

Pela crescente importância, torna-se necessária a identificação das características do pólen apícola produzido e comercializado em cada região. A obtenção de informações a cerca das características do produto possibilita a avaliação de qualidade do mesmo. Por outro lado, devido à esparsa, com dados relativos ao perfil de compostos bioativos, este trabalho torna-se significativo.

Neste sentido, este trabalho relata o estudo de amostras de pólen apícola produzido por abelhas africanizadas, comercializadas na forma desidratada em diferentes cidades brasileiras. Através de cromatografia em camada delgada realizou-se a triagem fitoquímica para a identificação dos

principais compostos bioativos contidos nas amostras. A determinação de compostos fenólicos foi realizada com os extratos etanólicos das amostras através de método espectrofotométrico. Por meio de análises físico-químicas das amostras foram avaliados os requisitos físico-químicos de qualidade para o produto.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Compostos bioativos

Quando a produção de radicais livres está além das defesas do corpo pode ocorrer o estresse oxidativo, que tem sido associado ao envelhecimento e ao desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas (ROESLER, *et al.*, 2007). Os chamados compostos bioativos atuam em alvos fisiológicos específicos e interferem nos processos patogênicos de doenças crônicas não transmissíveis (BASTOS, ROGERO e ARÊAS, 2009).

Através do processo fisiológico de oxidação, os radicais livres (compostos com um ou mais elétrons desemparelhados e altamente instáveis produzidos pelo metabolismo normal do corpo), buscam se apropriar ou doar elétrons, podendo reagir com DNA, RNA, proteínas ou outras substâncias oxidáveis (MELO, *et al.*, 2006). Para evitar os efeitos danosos desse processo, é importante incorporar compostos bioativos à alimentação.

Os compostos bioativos estão naturalmente presentes em diversos alimentos, cuja ingestão promove a manutenção da saúde. Existem vários desses compostos, que podem atuar de formas diferentes, em relação aos alvos fisiológicos e aos mecanismos de ação (BASTOS, ROGERO e ARÊAS, 2009).

2.2 - Antioxidantes

Durante e após o período da I Guerra Mundial, os pesquisadores Moureu e Dufraise realizaram testes da atividade antioxidante de mais de 500 compostos. Essa pesquisa desencadeou a busca por aditivos químicos para controlar a oxidação, proporcionando o começo do atual conhecimento das propriedades de vários produtos químicos para prevenir a oxidação de gorduras e alimentos (FINLAYS TEA SOLUTIONS, 2009).

Uma conceituação geral para antioxidantes os define como “substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato” (SOUSA, *et al.*, 2007, p. 351).

A partir de antioxidantes são formados radicais menos reativos, assim não há propagação da reação em cadeia e os radicais podem ser neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou que possam ser reciclados por outro antioxidante (SOUSA, *et al.*, 2007).

Há duas classes de compostos antioxidantes, classificados de acordo com sua atividade enzimática. Uma classe inclui compostos que apresentam essa atividade, são enzimas capazes de bloquear a iniciação da oxidação removendo as espécies reativas ao oxigênio. A outra classe engloba moléculas que não tem atividade enzimática, mas que reagem com as espécies radicalares, sendo consumidas durante a reação (ANGELO e JORGE, 2007).

Compostos que possuem atividade antioxidante incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolípidios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (ROESLER, *et al.*, 2007). Os carotenoides também apresentam propriedades antioxidantes (SOUSA, *et al.*, 2007; OLIVEIRA, *et al.*, 2011).

A origem das substâncias antioxidantes pode ser sintética ou natural (ANDREO e JORGE, 2006). Centenas de compostos têm sido propostas para inibir a deterioração oxidativa das substâncias oxidáveis, no entanto apenas alguns desses podem ser usados em produtos destinados ao consumo humano (FINLAYS TEA SOLUTIONS, 2009).

Os antioxidantes sintéticos são usados para diminuir a fase de propagação da reação de oxidação, mas o consumo dessas substâncias está associado a riscos à saúde humana, por isso é crescente a busca de antioxidantes naturais para substituí-los (ANDREO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de vegetais e plantas por meio diversos métodos extrativos. Esses antioxidantes podem ser incorporados à alimentação humana, para conservar a qualidade do alimento, além de reduzir o risco de desenvolvimento de patologias (ANGELO e JORGE, 2007).

Neste contexto destaca-se o pólen apícola, por se tratar de um produto natural que apresenta substâncias bioativas com atividade antioxidante, principalmente altos teores de compostos fenólicos (ALMEIDA-MURADIAN, *et al.*, 2005), flavonoides (CARPES, *et al.*, 2008; NOGUEIRA, 2012) e carotenoides (MENEZES, *et al.*, 2010).

2.3 - Compostos fenólicos

Quimicamente, os compostos fenólicos apresentam hidroxilas em anéis aromáticos, na forma simples ou de polímeros. Estima-se a existência de cinco mil fenóis que, por possuírem uma estrutura variável, são multifuncionais (ANGELO e JORGE, 2007).

A atividade antioxidante desses compostos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química, características que desempenham importante papel na neutralização ou sequestro de radicais livres, com ação nas etapas de iniciação e de propagação do processo oxidativo (SOUSA, *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo secundário das plantas (ANGELO e JORGE, 2007). O grupo dos polifenóis é dividido em subgrupos, que incluem substâncias comumente encontradas em frutas, vegetais e grãos (FINLAYS TEA SOLUTIONS, 2009).

Nas plantas os fenóis atuam como pigmentos, protetor solar, repelente para insetos, antioxidantes e antimicrobianos (FINLAYS TEA SOLUTIONS, 2009). Nos alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis por características como cor, aroma, adstringência e estabilidade oxidativa (ANGELO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos apresentam grande quantidade de propriedades fisiológicas, tais como antialergênica, antiarteriogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora (ANDREO e JORGE, 2006).

A quantificação de compostos fenólicos pode ser realizada através de várias técnicas espectrométricas, sendo mais empregada a que utiliza o

reagente de Folin-Ciocalteu. Este método permite quantificar compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas presentes nas amostras (ALMEIDA e BENASSI, 2011).

A técnica da espectrofotometria fundamenta-se na lei de Lambert-Beer, através da qual fica estabelecido que a absorvância é diretamente proporcional à concentração da solução de amostra (HARRIS, 2012). Os compostos fenólicos em solução respeitam a Lei de Lambert-Beer dentro da faixa de concentração utilizada neste trabalho.

Para quantificar a concentração de compostos fenólicos totais presentes em pólen apícola comumente é adotado o método espectrofotométrico com reagente Folin-Ciocalteu (CARPES, *et al.*, 2008; MENEZES, *et al.*, 2010; NOGUEIRA, 2012).

2.4 - Pólen

Pólen é o gameta masculino produzido pelas anteras das flores. A polinização consiste na transferência de grãos de pólen para o estigma, receptor feminino da flor. Há espécies vegetais capazes de realizar autopolinização, mas a maioria depende de agentes externos para que a fecundação e a reprodução da planta aconteçam (RIZZARDO, FREITAS e MILFONT, 2011). Estima-se que 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo são polinizadas por abelhas (FAO, 2015).

A importância do pólen é irrefutável, tanto para a colônia quanto para os derivados da colmeia (MARCHINI, REIS e MORETI, 2006). O pólen tem alto valor nutritivo, por isso é usado para a preparação do alimento das larvas jovens (SEELEY, 2006). O pólen é a principal fonte alimentar de proteínas, vitaminas, lipídeos e minerais para as abelhas (PEREIRA, *et al.*, 2011).

2.5 - Pólen apícola

Quando as abelhas operárias visitam as flores para recolher o pólen, utilizam saliva e néctar para agregar os grãos ao corpo, transferindo-os posteriormente para as corbículas das patas traseiras, como mostra a figura 1. Assim surge o pólen apícola (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

FIGURA 1: Abelha africanizada e pólen apícola.

FONTE: <http://www.redeprofauna.pr.gov.br>

O excesso de pólen carregado pelas abelhas é coletado antes da entrada na colmeia por armadilhas, conhecidas como caça-pólen. Esse produto é limpo, desidratado e comercializado como pólen apícola, um excelente suplemento nutricional (DUARTE, VASCONCELOS e LÓPEZ, 2011).

Quando transportado para o interior das colmeias, as abelhas armazenam os grãos de pólen nos alvéolos dos favos e as operárias compactam a mistura com a cabeça, dando origem ao chamado pão de abelha (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

As abelhas visitam uma ou várias espécies florais para a obtenção de um pólen apícola completo. As características específicas (composição química e valor nutricional) dependem das espécies polinizadas pelas abelhas, pois a origem botânica interfere na quantidade de vitaminas, proteínas, carboidratos, minerais e açúcares (MORETI, *et al.*, 2002).

A composição do pólen apícola é muito variável entre as espécies vegetais e o ambiente exerce influência sobre sua produção (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011). Origem geográfica, condições climáticas, tipo de solo e manejo apícola também são fatores que interferem na composição do pólen (VASCONCELOS, DUARTE e LÓPEZ, 2011).

A produção de pólen de um apiário sofre influências do meio ambiente de tal maneira que dificilmente haverá uma semelhança entre o conteúdo de pólen apícola de dois apiários com distâncias superiores a quatro quilômetros (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011, p. 20).

2.6 - Pólen apícola na alimentação humana

O pólen apícola tem se destacado no mercado de produtos naturais, que é favorável ao consumo de produtos complementares a dietas ou com efeitos terapêuticos (VASCONCELOS, DUARTE e LÓPEZ, 2011). Trata-se de um excelente suplemento nutricional para os seres humanos (DUARTE, VASCONCELOS e LÓPEZ, 2011).

São componentes do pólen proteínas (10% a 33%), carboidratos (20% a 40%), lipídeos (1% a 14%), sais minerais (2,5% a 3,5%), fibras (3% a 5%), aminoácidos livres (10% a 13%), açúcares redutores (24% a 36%) e não redutores (2% a 4%) (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

Os elementos minerais predominantes em pólen apícola são potássio, fósforo, cálcio, magnésio e silício, enquanto são encontrados em menores proporções sódio, ferro, manganês, zinco, cobre e cloro. Muitos desses elementos desempenham importantes funções no organismo humano (KROYER e HEGEDUS, 2001; MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011), fazendo deste um produto atraente para a alimentação.

A elevada razão potássio/sódio torna o pólen apícola interessante para dietas com balanço eletrolítico definido. A presença de cobre e zinco, considerados nutrientes antioxidantes (KROYER e HEGEDUS, 2001), torna esse produto ainda mais instigante para o consumo humano.

Diversas vitaminas podem ser encontradas no pólen apícola, dentre elas: biotina, colina, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, inositol, ácido fólico, ácido ascórbico, vitaminas D, tocoferol, vitamina P e β -caroteno (KROYER e HEGEDUS, 2001; MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

O pólen apícola apresenta também outros componentes, como compostos biativos, principalmente fenólicos, substâncias antibióticas, enzimas e resinas. É ainda particularmente rico nos ácidos graxos linoleico e linolênico (KROYER e HEGEDUS, 2001). Portanto, além de se apresentar como um suplemento alimentar, contém substâncias interessantes para a manutenção da saúde.

2.7 - Pólen apícola na saúde humana

O pólen apícola e seus extratos têm sido utilizados de forma medicinal em tratamentos alternativos (ALMEIDA-MURADIAN, *et al.*, 2005; MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011), em virtude da presença de substâncias bioativas, com atividade antioxidante (MEDEIROS, 2006; CARPES, *et al.*, 2008) e antimicrobiana (SULZBACH, *et al.*, 2009).

Os extratos de pólen atuam como sequestradores de radicais livres e inibidores de peroxidação lipídica. A propriedade antioxidante do extrato de pólen está associada com efeitos radioprotetores, detoxificantes e anti-inflamatórios, além de ser importante no retardo do envelhecimento, na prevenção e tratamento de várias doenças (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Tem sido descrito o emprego de pólen apícola e seus extratos na medicina tradicional para o tratamento de doenças como prostatite, síndrome da dor crônica pélvica, úlceras de estômago, doenças hemorrágicas infecciosas (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011), câncer, doenças cardiovasculares e diabetes (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

2.8 - Qualidade do pólen apícola comercial

O pólen apícola destinado ao comércio, nacional ou internacional, deve atender a requisitos mínimos de qualidade, estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, através do Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Pólen Apícola (BRASIL, 2001). Os parâmetros físico-químicos de qualidade para o pólen apícola comercial desidratado são apresentados na tabela a seguir.

TABELA 1: Parâmetros físico-químicos de qualidade para o pólen apícola comercial desidratado.

Requisitos	Parâmetro
pH	4 a 6
Umidade	Máximo de 4%
Acidez livre	Máximo de 300 mEq/Kg
Cinzas	Máximo de 4% (m/m na base seca)
Lipídios	Mínimo de 1,8% (m/m na base seca)
Proteínas	Mínimo de 8% (m/m na base seca)
Fibra bruta	2% (m/m na base seca)
Açúcares totais	14,5 a 55% (m/m na base seca)

FONTE: BRASIL, 2001.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Geral

Investigar a composição do pólen apícola comercial, a partir de amostras produzidas por abelhas africanizadas e comercializadas na forma desidratada em diferentes cidades brasileiras.

3.2 - Objetivos Específicos

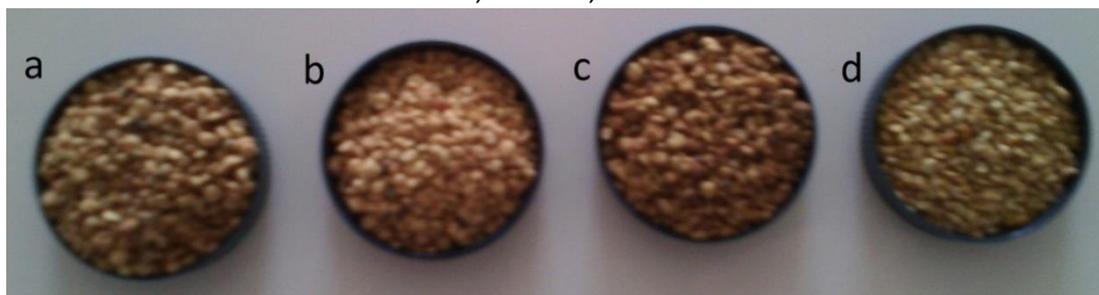
- Verificar a presença de compostos bioativos nas amostras comerciais de pólen apícola.
- Analisar o método extrativo de compostos fenólicos mais adequado para as amostras de pólen apícola comercial.
- Quantificar a concentração de compostos fenólicos presentes nas amostras comerciais de pólen apícola.
- Avaliar os requisitos físico-químicos de qualidade das amostras de pólen apícola comercial.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas quatro amostras de pólen apícola comercial desidratado, produzidos por abelhas africanizadas. Em lojas virtuais de produtos apícolas foram adquiridas duas amostras, comercializadas nas cidades Nova Friburgo-RJ e Itabaiana-SE. As outras duas amostras, comercializadas nas cidades Exu-PE e Petrolina-PE, foram adquiridas diretamente com os fornecedores.

Para a realização dos procedimentos experimentais, as amostras de pólen apícola foram denominadas P1, P2, P3 e P4, respectivamente comercializadas nas cidades Itabaiana-SE, Exu-PE, Nova Friburgo-RJ e Petrolina-PE. As amostras tiveram o mesmo tempo de análise, ocorrida dentro do prazo de validade estabelecido pelos fornecedores.

FIGURA 2: Amostras de pólen apícola comercial desidratado: a) P1, b) P2, c) P3 e d) P4.



FONTE: Próprio autor, 2015.

4.1 - Triagem fitoquímica qualitativa

Para a identificação dos compostos bioativos contidos nas amostras foi realizada uma triagem fitoquímica qualitativa, de acordo com metodologia descrita por Wagner e Bladt (1996), no laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), em Petrolina-PE.

Adicionou-se um pouco de metanol 10% (v/v) a uma pequena quantidade de cada amostra, mantendo-as por dois minutos a 25° C em um sonificador para melhor solubilização. Em seguida as amostras foram submetidas às análises cromatográficas em camada delgada, com sílica gel 60 F254, com suporte de alumínio, aplicados com micropipeta e eluídos com diferentes sistemas de solventes, de acordo com a tabela 2.

TABELA 2: Sistemas de eluição e reveladores utilizados na triagem fitoquímica das amostras de pólen apícola por cromatografia em camada delgada.

Metabólitos Secundários	Sistemas de eluição	Reveladores
Alcaloides gerais	Tolueno: acetato de etila: dietilamina (70:20:10, v/v)	Reagente de Dragendorff
Antocianinas	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26, v/v)	Anisaldeido-sulfúrico
Antraquinonas e agliconas	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1, v/v)	Ácido fosfomolibdico
Compostos fenólicos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26, v/v)	Reagente PEG
Cumarinas	Tolueno: etil éter (1:1 saturado com ácido acético 10%, v/v)	KOH etanólico 10%
Derivados antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10, v/v)	Vanilina sulfúrica
Lignan	Clorofórmio: metanol: água (70:30:4, v/v)	Vanilina fosfórica
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7, v/v)	Vanilina sulfúrica
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (99:1, v/v)	KOH etanólico 10%
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8, v/v)	Anisaldeido-sulfúrico
Taninos condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26, v/v)	Vanilina clorídrica
Taninos hidrolisáveis	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10, v/v)	Sulfato de ferro amoniacal (1%)
Triterpenos e esteroides	Tolueno: clorofórmio: etanol (40:40:10, v/v)	Reagente de Lieberman-Burchard
Xantinas	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10, v/v)	-

FONTE: WAGNER e BLADT, 1996.

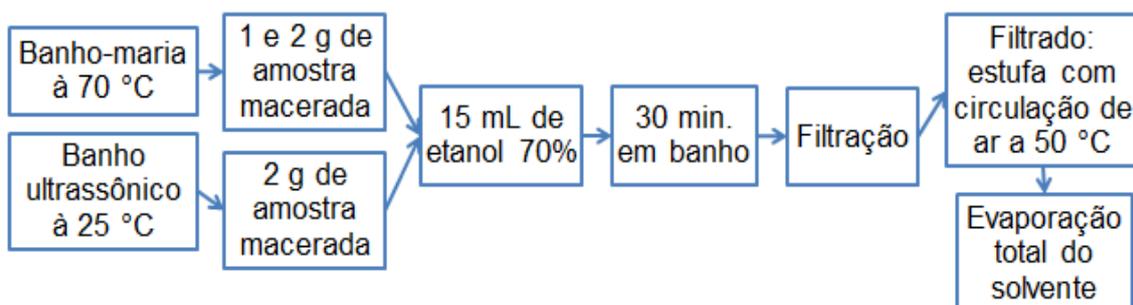
4.2 - Extratos etanólicos de pólen apícola

Para o procedimento de quantificação dos compostos fenólicos totais foram preparados extratos etanólicos de pólen (EEP) de cada amostra comercial. Neste trabalho, para a produção dos EEP exploramos diferentes metodologias.

Geralmente, nos estudos que envolvem a identificação de compostos fenólicos em pólen apícola adota-se o método de banho-maria, a 70 °C, utilizando-se pequenas quantidades de amostra macerada (um ou dois gramas) e 15 mL de etanol 70% (v/v) para a preparação do extrato (CARPES, *et al.*, 2008; MENEZES, *et al.*, 2010).

Também testamos a extração de compostos fenólicos pelo método de banho ultrassônico, adaptando a metodologia descrita por Zhang, *et al.* (2011) para o uso de pólen apícola, para tanto utilizamos dois gramas de amostra macerada e 15 mL de etanol 70% (v/v), à temperatura ambiente. Os métodos de banho-maria e de banho ultrassônico testados para a produção dos EEP são descritos no esquema da figura a seguir.

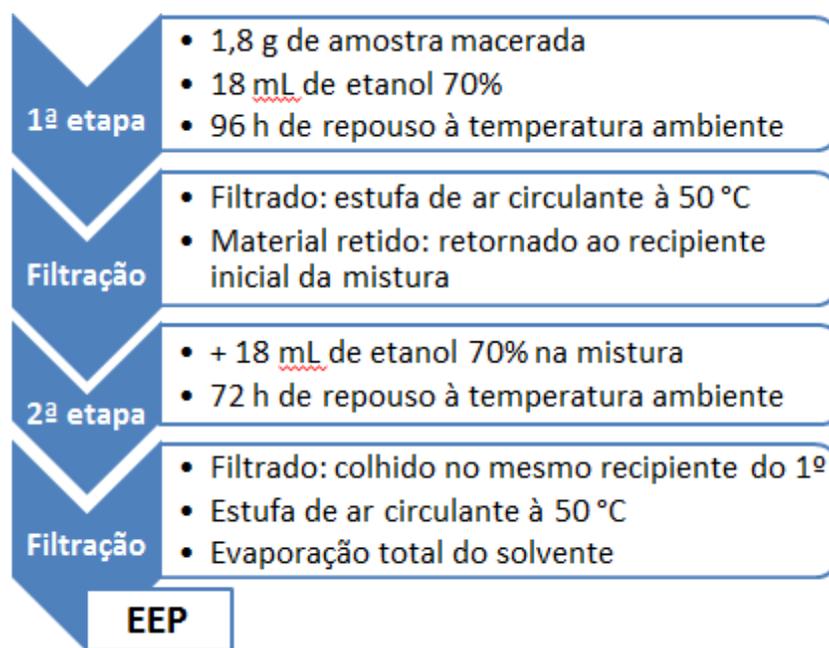
FIGURA 3: Esquema de métodos testados para obtenção de EEP.



FONTE: próprio autor, 2015.

Os EEP utilizados para o procedimento de quantificação dos compostos fenólicos totais foram preparados com base na metodologia descrita por Nogueira (2012), que emprega dois períodos de repouso no escuro à temperatura ambiente. Para tanto foram utilizados 1,8 gramas de amostra macerada e 18 mL de etanol 70% (v/v).

O procedimento adotado para a preparação dos EEP através do método de repouso no escuro é apresentado no esquema da figura 4. Os EEP obtidos por meio deste método foram armazenados à temperatura ambiente e no escuro, para posterior utilização.

FIGURA 4: Esquema do método extrativo por repouso no escuro.

FONTE: próprio autor, 2015.

4.3 - Compostos fenólicos totais

A quantificação da concentração dos compostos fenólicos totais presentes nas amostras foi realizada no laboratório de Bioquímica da UNIVASF Campus Petrolina, utilizando os EEP preparados previamente. Adotou-se para tanto o método espectrométrico que emprega o reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Slinkard e Singleton (1977), utilizando o ácido gálico como padrão de referência (NOGUEIRA, 2012).

A solução mãe do padrão, de concentração 5 mg/mL, foi preparada pesando-se 0,006 gramas de ácido gálico e adicionando 120 µL de etanol 10% e 1080 µL de água destilada. Foram feitas diluições para obter soluções de concentrações, em mg/mL, 50, 100, 150, 250, 500 e 1000.

Para preparar a solução mãe de cada EEP, de concentração 15 mg/mL, pesou-se aproximadamente 0,018 gramas de cada extrato, adicionou-se 120 µL de etanol 10% e 1080 µL de água destilada. As soluções foram mantidas por dois minutos a 25°C no sonicador, para melhor solubilização. Foram realizados testes para verificar a melhor condição e feitas diluições para obter soluções de concentrações 1, 2 e 3 mg/mL, cujas absorvâncias respeitam a Lei de Lambert-Beer.

Em cubetas de vidro adicionou-se 40 μ L da fração diluída, 3,16 mL de água destilada, 200 μ L do reagente de Folin-Cicalteu e, após o intervalo de cinco minutos, 600 μ L de solução supersaturada de carbonato de sódio (20% m/v), misturando bem ao final. O mesmo foi feito com o padrão ácido gálico, com o branco (substituindo a fração diluída por água destilada), e com as soluções mãe dos EEP (solução mãe em substituição à fração diluída). Tal procedimento foi realizado em triplicata.

Em meio alcalino ocorre a redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos das amostras, produzindo um complexo de coloração azul, cuja intensidade aumenta linearmente a 760 nm (ALMEIDA e BENASSI, 2011). O número de grupos hidroxilas ou de grupos potencialmente oxidáveis controla a intensidade da cor formada (ANGELO e JORGE, 2007).

Após duas horas de repouso no escuro, à temperatura ambiente, as absorvâncias das soluções foram lidas a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis. A quantidade total de compostos fenólicos de cada extrato, expressa como equivalentes de ácido gálico, é quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico (ALMEIDA e BENASSI, 2011).

4.4 - Avaliação de qualidade

Por se tratar de um produto alimentício comercializado, devem ser seguidos parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação vigente. Para a avaliação dos requisitos de qualidade do pólen apícola são adotadas análises físico-químicas propostas no Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Pólen Apícola (BRASIL, 2001).

Devido às limitações materiais e instrumentais, avaliamos apenas os seguintes requisitos físico-químicos: pH, umidade, acidez livre, cinzas e açúcares totais. Tais análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, nos laboratórios de Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF Sertão), *Campi Ouricuri* e *Petrolina*.

Para a determinação de pH foi utilizado aproximadamente dois gramas de cada amostra, adicionando-se 20 mL de água destilada as mesmas. Após

agitar, até que as partículas ficassem uniformemente dispersas, fez-se a leitura no potenciômetro, com o aparelho previamente calibrado.

Para a determinação de umidade pesou-se aproximadamente um grama de cada amostra em cápsula de porcelana previamente aquecida em estufa por uma hora e pesada. As cápsulas com as amostras foram mantidas na estufa a 105° C durante 24 horas. Após esse período, as cápsulas foram colocadas em dessecador por 30 minutos e pesadas em seguida.

Para a determinação de acidez livre utilizou-se aproximadamente dois gramas de cada amostra, adicionando-se 20 mL de água destilada e três gotas de fenolftaleína. Fez-se a titulação com hidróxido de sódio 0,1 M até o surgimento da coloração rósea.

Na determinação de cinzas foi usado cadinho de porcelana, previamente aquecido em mufla a 600°C por uma hora, resfriado em dessecador e pesado, no qual pesou-se aproximadamente um grama de cada amostra. Os cadinhos com as amostras foram mantidos na mufla por quatro horas. Após esse período, foram colocados em dessecador por 30 minutos e pesados em seguida.

Para a determinação de açúcares totais foi usado aproximadamente dois gramas de cada amostra, adicionando-se 2 mL de ácido clorídrico concentrado e 50 mL de água destilada. Cada erlenmeyer com as amostras foi deixado em refluxo por uma hora após a ebulição. Depois de esfriar, adicionou-se hidróxido de sódio 40% para a neutralização, verificada com auxílio de papel indicador. As amostras foram transferidas para balões de 100 mL, sendo aferido o volume com água destilada, agitando e filtrando em seguida.

Em um erlenmeyer adicionou-se 4 mL de Fheling A, 4 mL de Fheling B e 16 mL de água destilada. A solução foi colocada para aquecer até ebulição, sendo titulada com os filtrados obtidos na etapa anterior. Na primeira mudança de coloração adicionou-se duas gotas de azul de metileno. Cada titulação prosseguiu até a viragem de cor para vermelho tijolo.

Para o preparo da solução de Fheling A foi utilizado exatamente 3,4639 gramas de sulfato de cobre penta hidratado, transferido para um balão de 100

mL com auxílio de água destilada, adicionada até o ponto de aferição, seguida da devida homogeneização.

Para preparar a solução de Fheling B foi utilizado exatamente 17,3 gramas de tartarato de sódio e potássio, ao qual adicionou-se 25 mL de água destilada, e 5 gramas de hidróxido de sódio, diluído em água destilada. As duas soluções foram transferidas para o mesmo balão de 100 mL, em seguida aferiu-se o volume com água destilada e fez-se a devida homogeneização.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Triagem fitoquímica qualitativa

A análise das placas cromatográficas utilizadas para a triagem fitoquímica indicou a presença de compostos fenólicos e derivados antracênicos em todas as amostras. A tabela 4 apresenta os resultados observados na análise das placas.

TABELA 3: Triagem fitoquímica qualitativa de pólen apícola comercial desidratado, por cromatografia em camada delgada.

Metabólitos Secundários	P1	P2	P3	P4
Alcaloides gerais	-	-	-	-
Antocianinas	-	-	-	-
Antraquinonas e agliconas	-	-	-	-
Compostos fenólicos	++	+	++	++
Cumarinas	-	-	-	-
Derivados antracênicos	++	++	+	+
Lignanais	-	-	-	-
Mono, sesqui e diterpenos	-	-	-	-
Naftoquinonas	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-
Taninos condensados	-	-	-	-
Taninos hidrolisáveis	-	-	-	-
Triterpenos e esteroides	-	-	-	-
Xantinas	-	-	-	-

(-) = Não detectado; (+) = Fracamente positivo; (++) = Moderadamente positivo.

A presença de manchas amareladas na placa de análise de fenólicos foi observada na câmara de luz UV a 365 nm para todas as amostras, indicando a presença de flavonoides nas mesmas. Tal afirmativa tem como referência o estudo de Wagner e Bladt (1996), que indica que manchas laranja e amarela na placa de análise de fenólicos, observadas em câmara de luz UV a 365 nm, detectam flavonoides na amostra analisada.

Estes resultados estão de acordo com vários estudos a cerca do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas em diversas regiões brasileiras, que indicam principalmente a presença de compostos fenólicos e flavonoides (ALMEIDA-MURADIAN, *et al.*, 2005; MEDEIROS, 2006; CARPES, *et al.*, 2008; NOGUEIRA, 2012).

Na análise da placa de derivados antracênicos foram observadas manchas cinza para todas as amostras, indicando a presença de iridoïdes nas mesmas. Tal resultado é corroborado pelo estudo de Wagner e Bladt (1996), que aponta a presença de manchas de cor cinza, marrom-vermelho e violeta, visíveis a olho nu na placa de derivados antracênicos, como indicativo da existência de iridoïdes na amostra analisada.

Alguns iridoïdes apresentam atividades farmacológicas. São conhecidos iridoïdes com comprovada ação anti-inflamatória, antibacteriana, antitumoral (POSER, *et al.*, 1996), antimicrobiana, antineoplástica e antiflogística (SILVA, *et al.*, 1998). Não foram encontrados na literatura científica estudos sobre a presença e a quantificação de iridoïdes em pólen apícola.

5.2 - Extratos etanólicos de pólen apícola

Os métodos extrativos propostos por Menezes *et al.* (2010) e Carpes *et al.* (2008) foram testados para o presente estudo, no entanto, nos EEP preparados de acordo os mesmos não foram identificados compostos fenólicos através do método espectrofotométrico adotado para quantifica-los. O método de extração por sonicação proporcionou EEP nos quais também não foram identificados compostos fenólicos pelo método espectrofotométrico adotado.

A não identificação dos compostos fenólicos contraria os resultados obtidos na triagem fitoquímica realizada anteriormente e descritos na literatura. Por esta razão, foi adotado mais um método extrativo, baseado no descrito por Nogueira (2012), em que há período de repouso e duas filtrações. Este método foi eficaz para a extração, sendo possível quantificar os compostos fenólicos presentes nas amostras usadas neste trabalho.

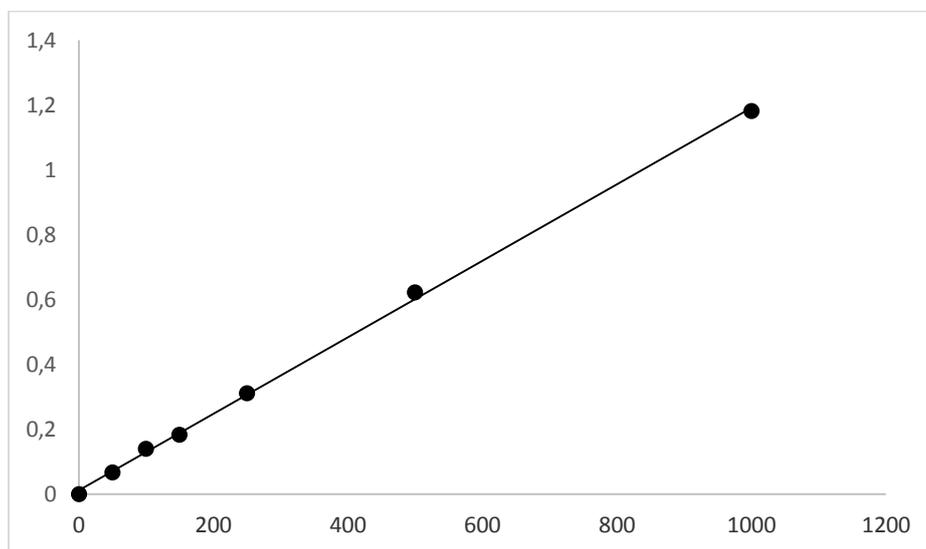
Vale destacar que no estudo realizado por Nogueira (2012) foram empregadas amostras comerciais de pólen apícola, da mesma forma que utilizamos para o presente trabalho. Nos estudos de Menezes *et al.* (2010) e de Carpes *et al.* (2008) não são utilizadas amostras comerciais de pólen, mas sim frescas, coletadas para estudo.

Fica evidente que há algum fator associado ao produto comercializado que dificulta a extração de compostos fenólicos. Sugere-se que tal fator está relacionado ao processo de desidratação pelo qual passa o pólen apícola para a comercialização, tendo em vista que com o aquecimento para a secagem do produto pode ocorrer a degradação dos compostos fenólicos.

5.3 - Compostos fenólicos totais

Para a determinação de compostos fenólicos totais nas amostras, foi adotado o método de Folin-Ciocalteu, utilizado o ácido gálico como padrão de referência. O gráfico a seguir apresenta a curva padrão que foi construída utilizando o ácido gálico, em concentrações (mg/mL) 0, 50, 100, 150, 250, 500 e 1000.

GRÁFICO 1: Curva padrão de ácido gálico.

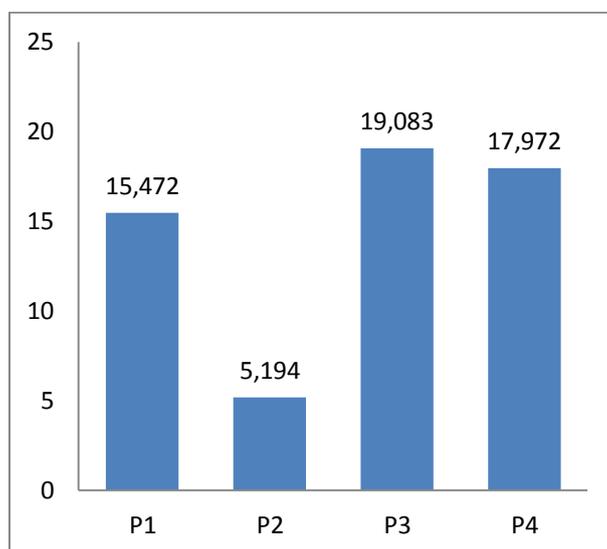


A partir das leituras da curva foi determinada, por regressão linear, a equação geral da reta, obtendo-se $R^2 = 0,9992$. Tal valor demonstra uma resposta linear do equipamento para a faixa de concentração utilizada, obedecendo-se a lei de Lambert-Beer.

Para que o resultado seja considerado confiável, é necessário que o R^2 da curva padrão esteja no intervalo de 0,95-1,0 (SLINKARD e SINGLETON, 1977). Como o valor obtido para R^2 foi 0,9992, o resultado do teor de compostos fenólicos, calculado por meio desta curva padrão, pode ser considerado confiável.

A quantidade total de compostos fenólicos de cada extrato, expressa como equivalentes de ácido gálico, é quantificada por meio da curva padrão preparada com ácido gálico (ALMEIDA e BENASSI, 2011). Os resultados obtidos para os compostos fenólicos nas amostras estão organizados no gráfico a seguir.

GRÁFICO 2: Quantidade de compostos fenólicos em mg GAE/g pólen apícola.



Os resultados obtidos para os compostos fenólicos variaram entre 5,194 e 19,083 mg GAE/g pólen apícola. A amostra que apresentou menor teor de compostos fenólicos foi P2, comercializada na cidade de Exu-PE. Tal resultado já era esperado, pois a triagem fitoquímica indicou um sinal fracamente positivo para a presença de compostos fenólicos na amostra P2.

Nas demais amostras foram verificados valores superiores para o teor de compostos fenólicos, o que corrobora os resultados obtidos através da triagem fitoquímica, que indicou sinais moderadamente positivo para fenólicos nessas amostras. A maior quantidade de fenólicos totais foi verificada na amostra P3, comercializada em Nova Friburgo-RJ.

É imprescindível considerar que diversos fatores estão associados a esses resultados, pois afetam a composição do pólen apícola. Se fossem comparadas outras amostras comercializadas no mesmo local, coletadas em diferentes períodos do ano, possivelmente não seriam obtidos resultados iguais, tendo em vista que a composição química do pólen apícola é influenciada por diversos fatores.

A composição química e nutricional dos grãos de pólen depende das espécies florais polinizadas, da origem apibotânica e geográfica, do solo e da sazonalidade (VASCONCELOS, DUARTE e LÓPEZ, 2011). Portanto, os valores obtidos para o teor de compostos fenólicos nas amostras podem diferir quando o pólen apícola analisado for coletado em outro período do ano.

Desse modo, não é definitiva a hipótese de que o pólen apícola comercializado na cidade de Exu-PE tenha quantidades pouco expressivas de compostos fenólicos. O mesmo cabe às demais amostras, pois tais compostos podem se apresentar em valores maiores ou menores quando produzidos em outro momento.

Justificam-se os diferentes valores obtidos para compostos fenólicos nas amostras pelo fato de serem oriundas de diferentes regiões. A composição do pólen apícola é muito variável entre as espécies vegetais, características em cada região, e a produção de pólen de um apiário sofre influências de fatores ambientais (MILFONT, FREITAS e ALVES, 2011).

Em um estudo mais abrangente acerca do pólen apícola comercial de diferentes regiões brasileiras foram encontrados valores para o teor de compostos fenólicos variantes de 16,079 a 45,953 mg GAE/g de pólen apícola (NOGUEIRA, 2012).

É importante destacar que o método adotado para a quantificação dos compostos fenólicos totais não é específico e substâncias reductoras adicionadas ou naturalmente presentes nas amostras podem interferir nos resultados (ANDREO e JORGE, 2006).

5.4 - Avaliação de qualidade

O resultado da avaliação dos requisitos físico-químicos de qualidade (pH, umidade, acidez livre, cinzas e açúcares totais) das amostras de pólen apícola é apresentado na tabela a seguir.

TABELA 4: Propriedades físico-químicas qualitativas das amostras de pólen apícola comercial desidratado.

Requisitos	P1	P2	P3	P4
pH	4,313	4,575	4,245	4,927
Umidade	14,708%	13,836%	13,770%	12,832%
Acidez livre	105,565 mEq/Kg	91,234 mEq/Kg	79,162 mEq/Kg	34,930 mEq/Kg
Cinzas	2,383%	1,399%	1,296%	2,089%
Açúcares totais	35,049%	30,150%	16,097%	37,289%

A partir dos dados obtidos foi verificado que, dentre os requisitos físico-químicos analisados, todas as amostras estão dentro dos parâmetros de qualidade para pH, acidez livre, cinzas e açúcares totais, estabelecidos no Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Pólen Apícola (BRASIL, 2001).

Apenas a umidade das amostras foi verificada fora dos parâmetros, que estabelece um valor máximo de 4% (BRASIL, 2001). Não é possível definir com precisão a razão da umidade superior ao permitido, pois para tanto seria necessário conhecer todas as etapas pelas quais passaram as amostras de pólen apícola, desde a coleta até a embalagem e transporte para comercialização, informações não disponibilizadas pelos fornecedores.

O sucesso da conservação do pólen depende principalmente do período, temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento, do grau de umidade do grão e do estágio fisiológico da flor (VIEIRA, *et al.*, 2012). Portanto, a elevada umidade das amostras analisadas pode ser decorrente de fatores como o processo inadequado de desidratação, o longo tempo de armazenamento, o local e o modo incorreto de armazenagem.

6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos estudos realizados com amostras de pólen apícola produzido por abelhas africanizadas, comercializadas na forma desidratada em diferentes cidades brasileiras, podemos inferir as seguintes considerações:

- A triagem fitoquímica realizada indicou a presença de compostos fenólicos, principalmente flavonoides, e de derivados antracênicos, especialmente iridoides, em todas as amostras de pólen apícola comercial.
- O pólen apícola comercial requer um método extrativo de compostos fenólicos específico para este produto.
- O teor de compostos fenólicos totais nas amostras comerciais variaram entre 5,194 e 19,083 mg GAE/g pólen apícola. A amostra comercializada na cidade de Exu-PE apresentou o menor valor, enquanto o maior foi verificado na amostra comercializada em Nova Friburgo-RJ.
- Dentre os requisitos físico-químicos avaliados, pH, acidez livre, cinzas e açúcares totais foram verificados em todas as amostras dentro dos parâmetros de qualidade estabelecidos para os mesmos. Apenas o requisito umidade das amostras foi identificado fora dos parâmetros, em valores superiores ao máximo estabelecido.

Alguns aspectos verificados neste trabalho podem subsidiar futuros estudos, como a presença de iridoides em pólen apícola, tendo em vista que não há dados a respeito na literatura científica, e o método extrativo de fenólicos para pólen apícola comercial, já que não há um método específico para o produto.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. B.; BENASSI, M. D. T. Atividades antioxidantes e estimativa de teor de meloidianas em cafés torrados comerciais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, suplemento 1, 2011. p. 1893-1900.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BERA, A.; FELSNER, M. L.; CANO, C. B. Produtos Apícolas. In: ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PENTEADO, M. D. V. C. *Vigilância sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos*. Editora Guanabara, 2005. p. 183–198.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração. *B.CEPPA*, Curitiba, v. 24, n. 2, 2006. p. 319-336.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. *Revista Inst. Adolfo Lutz*, v.66, n. 1, 2007. p. 232-240.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arq. Bras. Endocrinol Metab.*, 2009. p. 646-656.

BRASIL (País). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - Secretaria de Defesa Agropecuária - Ministério da Agricultura. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Pólen Apícola. Brasília: DIPOA, 2001.

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

DUARTE, A. W. F.; VASCONCELOS, M. R. S.; LÓPEZ, A. M. Q. Mel, pólen, própolis e geleia real – produtos nutracêuticos dependentes de sua origem apibotânica. In: XIMENES, L.J.F.; COSTA, L. S. A.; NASCIMENTO, J. L. S. *Manejo racional de abelhas africanizadas e de meliponíneos no Nordeste do Brasil*. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2011. p. 263-321.

FAO (Food and Agricultural Organization) - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, Biodiversidade para um mundo sem fome. Polinizadores. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/biodiversity/componentes/polinizadores/es/>>. Acessado em 16/06/2015.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v.43, n.1, 1997. p.61-68.

FINLAYS TEA SOLUTIONS. Dossiê antioxidantes. *Food Ingredients Brasil*, n. 6, 2009. p. 16-30.

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 8. ed. LTC: Rio de Janeiro, 2012.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. Abelha uruçu: biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: Editora liber liber, 1996.

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, 2001. p. 171-174.

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*, n. 36, 2006. p. 949–953.

MEDEIROS, K. C. P. Extrato Fenólico do Pólen Apícola da *Apis mellifera* inibe hipersensibilidade do tipo I em modelo experimental de asma e relaxa músculo liso de traquéia. João Pessoa, 2006.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 3, 2006. p. 639-644.

MENEZES, J. D. S.; MACIEL, L. F.; MIRANDA, M. S.; DRUZIAN, J. I. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). *Rev Inst Adolfo Lutz*, v. 69, n. 2, 2010. p. 233-242.

MILFONT, M. O.; FREITAS, B. M.; ALVES, J.E. Pólen apícola: manejo para a produção de pólen no Brasil. 1. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2011.

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

NOGUEIRA, C. M. P. Estudo do pólen apícola comercial. Dissertação de mestrado. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Bragança, 2012.

OLIVEIRA, D.S.; AQUINO, P.P.; RIBEIRO, S.M.R.; PROENÇA, R.P.C.; SANT'ANA, H.M.P. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, v. 33, n. 1, 2011. p. 89-98.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VIEIRA-NETO, J. M.; SOUZA, B. A.; ROCHA, R. S.; SILVA-NETO, E. Alternativas de alimentação para abelhas *Apis mellifera*. In: XIMENES, L.J.F.; COSTA, L. S. A.; NASCIMENTO, J. L. S. Manejo racional de abelhas africanizadas e de meliponíneos no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2011. p. 147-170.

POSER, G. L. V.; HENRIQUES, A. T.; SCHRIPSEMA, J.; JENSEN, S. R. Iridóides e fenilpropanóides glicosilados de *Agalinis communis* (Cham. & Schlecht.) D' Arcy e *Scoparia ericacea* Cham. (Scrophulariaceae). *Rev. Bras. Farm.*, v. 77, n. 4, 1996. p. 134-136.

RIZZARDO, R. A. G.; FREITAS, B. M.; MILFONT, M. O. Incremento de produção da mamoneira (*Ricinus communis* L.): o papel da polinização por abelhas. In: XIMENES, L.J.F.; COSTA, L. S. A.; NASCIMENTO, J. L. S. Manejo racional de abelhas africanizadas e de meliponíneos no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2011. p. 37-56.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidantes de frutas do cerrado. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 27, n. 1, 2007. p. 53-60.

SEELEY, T.D. Ecologia da abelha, um estudo de adaptação na vida social. Porto alegre: Editora Paixão, 2006.

SILVA, J. R. A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C.; PINHEIRO, M. L. B.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; YOUNG, C. M.; BOLZANI, V. S. Ésteres triterpênicos de *himatanthus succuba* (spruce) woodson. Química Nova, v. 21, n. 6, 1998. p. 702-704.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of enology and viticulture. v. 28, n. 1, 1977. p. 49-55

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-Jr., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química Nova, v. 30, n. 2, 2007. p. 351-355.

SULZBACH, G.L.; PUSCH, B.; ALENCAR, S.M.; BEUX, S.; CARPES, S.T. Atividade antioxidante e antimicrobiana do pólen apícola de algumas regiões do nordeste brasileiro. Revista Higiene Alimentar, v. 23, 2009. p. 81-82.

VASCONCELOS, M. R. S.; DUARTE, A. W. F.; LÓPEZ, A. M. Q. Interferentes da qualidade de produtos de colmeias: prevenção e controle. In: XIMENES, L.J.F.; COSTA, L. S. A.; NASCIMENTO, J. L. S. Manejo racional de abelhas africanizadas e de meliponíneos no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2011. p. 323-358.

VIEIRA, L. J.; SANTANA, J. R. F.; SILVEIRA, T. C.; CUNHA, A. A. A.; SOUZA, F. V. D. Conservação e longevidade de pólen de acessos *Manihot esculenta*. Repositório Acesso Livre à informação da Embrapa (ALICE), 2012. Disponível em: <www.alice.cnptia.embrapa.br> Acessado em: 06/10/2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Berlim Heidelberg: Springer Verlag., 1996, p. 384.

ZHANG, Q.; ZHOU, M. M.; CHEN, P. L.; CAO, Y.Y.; TAN, X. L. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis for the extraction of luteolin and apigenin from celery. Journal of Food Science, v. 76, n. 5, 2011, p. 680-685.