

Jeane Denise de Souza Menezes

Compostos bioativos do Pólen apícola

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria P. Spinola Miranda
Co-orientadora: Prof^ª. Dra. Janice Izabel Druzian

Salvador, 2009

Jeane Denise de Souza Menezes

Compostos bioativos do pólen apícola

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

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria P. Spinola Miranda
Co-orientadora: Prof^ª. Dra. Janice Izabel Druzian

Salvador, 2009

Jeane Denise de Souza Menezes

Compostos bioativos do pólen apícola

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 Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, pela comissão formada pelos professores:

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª: Dra Maria Spínola Miranda (Orientadora)

Pós-Doutorado pela Universidad Miguel Hernández.

Doutorado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo

Universidade Federal da Bahia, UFBA, Brasil.

Prof^ª: Dra Maria Eugênia de Oliveira Mamede

Doutorado em Ciência de Alimentos

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil.

Prof^ª: Dra Gracineide Selma Santos de Almeida

Doutorado em Botânica

Universidade Federal de Viçosa, UFV, Brasil.

DEDICO

À minha filhinha Helena, que tem deixado
minha vida mais colorida.

AGRADECIMENTOS

O trabalho apresentado contou com a colaboração de inúmeras pessoas e instituições. Sem menosprezar todas as outras contribuições, queria referir-me àquelas que considero mais substanciais:

Ao Prof. **Msc. Luis E. R. Figueroa** e a **Prof. Dra. Luciene Cristina**, por todo auxílio concedido, por cada momento, pela atenção, correções e sugestões e pela amizade construída.

À minha orientadora, **Prof. Dra. Maria Spínola Miranda**, pela amizade e apoio durante a elaboração das análises e da dissertação.

À minha co-orientadora, **Prof. Dra. Janice Izabel Druzian**, que ouviu com interesse todas as questões, dúvidas e problemas que surgiram durante a elaboração da dissertação, bem como, toda a sua equipe que me acolheu e me ajudou em seu laboratório: Carol, Jaff e Luciana.

In memoriam, gostaria de agradecer à **Prof. Dra. Sandra Regina da Silva** pela simpatia e pelo afeto com que me tratou, sendo a primeira pessoa a me incentivar no estudo sobre carotenóides.

Agradeço ao **Técnico Msc Leonardo Maciel**, pelo seu apoio a este trabalho, pelas muitas informações e em particular, aquelas que se referem às análises.

As minhas alunas e amigas, **Camila Cardoso Araujo, Tereza Cristina Rebouças e Yumi de Oliveira Fujiki**, pela amizade e por ter compartilhado interesses comuns.

Aos **apicultores locais**, que muito contribuíram para a realização deste trabalho, em especial a **Gilmar Costa**, pelo empenho no desenvolvimento da apicultura regional.

A todos os amigos do **LEA** (Laboratório de Estudo das Abelhas), pela amizade e pelo ambiente descontraído e saudável encontrado diariamente.

À **minha família e em especial à minha mãe**, pelo paciente e metuculoso trabalho de correção deste texto e pelo seu constante apoio, para a realização desta dissertação.

A **Marcelo**, como companheiro querido, por partilhar comigo todo o processo de produção da dissertação, sendo minha mais importante fonte de apoio afetivo, sem o qual, certamente, esta dissertação não chegaria ao fim.

A todos que, de alguma forma, ajudaram e incentivaram este trabalho,

Muito Obrigada!!!

Jeane Denise de Souza Menezes

Salvador, junho de 2009.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1. Revisão de literatura

Figura 1. Estames com anteras evidentes, carregadas de pólen.....	07
Figura 2. Abelha <i>Apis mellifera</i> L.	09
Figura 3. Pólen Apícola.....	11
Figura 4. Estrutura química dos flavonóides, composto por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C).....	15

Capítulo 2. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola coletados por Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) no município de Alagoinhas-BA

Figura 1. Apiário do <i>Campus</i> II da Universidade do Estado da Bahia.....	31
Figura 2. Coletor de pólen colocado na frente do alvado.....	32

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1. Revisão de literatura

Tabela 1. Parâmetros indicados pela Legislação Brasileira para o controle de qualidade do pólen apícola.....	07
---	----

Capítulo 2. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola coletados por Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) no município de Alagoinhas-BA

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais dos extratos de pólen apícola.....	38
--	----

Tabela 2. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais com a frequência dos tipos polínicos da família Asteraceae, Leguminosae (mimosoideae), Myrtaceae e Solanaceae	39
---	----

Tabela 3. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais com a frequência dos tipos polínicos <i>Mimosa pudica</i> e <i>Eucalyptus</i>	40
---	----

Tabela 4. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais.....	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LAPAAC: Laboratório de Pesquisa e Avaliação de Alimentos Aditivos e Contaminantes

UNEB: Universidade do Estado da Bahia

GAE/g: equivalente em ácido gálico por grama de amostra de pólen apícola

AIDS: acquired Immunodeficiency Syndrome

DNA: ácido desoxirribonucleico

DPPH: radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazina

EC50: concentração mínima da substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH•

BA: Bahia

rpm: rotações por minuto

UV/VIS: ultravioleta e visível

ppm: parte por milhão

DP: desvio padrão

EPE: extrato etanólico do pólen

EROS: espécies reativas ao oxigênio

Abs: absorvância

LISTA DE SÍMBOLOS

- mg** : miligramas
- µg**: microgramas ($1 \mu\text{g} = 10^{-6} \text{ g}$)
- µL**: microlitros ($1 \mu\text{L} = 10^{-6} \text{ L}$)
- mL**: mililitros
- %**: porcentagem
- micras**: plural de micrômetro
- mm**: milímetros
- m/m**: massa por massa
- v/v**: volume por volume
- OH**: radical hidroxil
- B**: beta
- α**: alfa
- S**: sul
- W**: oeste
- m**: metros
- nm**: nanômetros
- ppm**: parte por milhão
- g**: gramas
- L**: litro
- °C**: graus centígrados
- A**: Massa
- V**: Volume
- $e^{1\%}_{1\text{cm}}$: Coeficiente de extinção
- %AA**: atividade antioxidante (%)
- M**: molaridade
- mEq/Kg**: miliequivalente por kilograma
- N**: número de amostras
- R_s**: coeficiente de correlação de postos
- P**: probabilidade associada ao teste

ÍNDICE GERAL

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	V
ÍNDICE DE TABELAS.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	VII
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VIII
RESUMO GERAL.....	01
ABSTRACT.....	02
INTRODUÇÃO GERAL.....	03
OBJETIVO GERAL.....	04
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	04
Capítulo 1. Revisão de literatura.....	05
1. A APICULTURA.....	06
1.1 <i>Apis mellifera</i> no Brasil.....	06
1.2 Produção e comercialização do pólen apícola.....	08
1.3 As abelhas e o pólen.....	09
1.4 Legislação do pólen apícola.....	11
2. COMPOSIÇÃO E BENEFÍCIOS DO PÓLEN APÍCOLA.....	12
2.1 Compostos bioativos em pólen apícola.....	13
2.1.1 Compostos fenólicos totais	13
Flavonóides totais.....	14
2.3.2 Carotenóides totais.....	16
2.2 Benefícios do Pólen apícola.....	17
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
4. REFERÊNCIAS.....	20
Capítulo 2. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola coletados por Abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i> L.) no município de Alagoinhas-BA.....	27
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. MATERIAL E MÉTODO.....	31
2.1 Amostragem.....	31
2.2 Identificação Palinológica.....	32
2.3 Preparo do Extrato Etanólico do Pólen (EEP).....	33
2.4 Determinação de compostos fenólicos totais... ..	33
2.5 Determinação de flavonóides totais.....	34
2.6 Determinação de carotenóides totais.....	34
2.6.1 Extração de carotenóides totais.....	34
Leitura da Absorbância e cálculos	35
2.8 Determinações da atividade antioxidante, através do sistema DPPH.....	35
2.9A Análise Estatística.....	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.1 Compostos fenólicos totais	37

3.1.1 Flavonóides totais	40
3.2 Determinação de carotenóides totais.....	41
3.3 Atividade antioxidante.....	42
4. CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS.....	45
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	48
APÊNDICE.....	50
APÊNDICE A – Percentual dos tipos polínicos observados nas amostras de pólen apícola.....	51
APÊNDICE B – Percentual dos tipos polínicos observados nas amostras de pólen apícola (continuação).....	52
APÊNDICE C – Imagens dos polens.....	53

RESUMO GERAL

O pólen apícola, resultado da aglutinação do pólen das flores efetuada pelas abelhas, mediante acréscimo de substâncias salivares e pequenas quantidades de néctar ou mel, tem se destacado tanto por conter substâncias nutricionais como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas, minerais e traços de micronutrientes, como pelas suas propriedades terapêuticas, tais como atividade antioxidante e pela possibilidade de aplicação na indústria alimentícia, na forma de alimentos. A literatura apresenta dados que mostra grande diversidade quanto à presença de compostos bioativos no pólen apícola. Demonstra também a interferência de fatores climáticos e ambientais na composição e qualidade do pólen apícola. Entretanto, as investigações citadas representam apenas uma pequena parte da real composição, pois como a composição do pólen apícola irá variar em função da origem botânica, cada pólen produzido em cada localidade, terá uma composição diferente e conseqüentemente propriedades terapêuticas únicas. Este estudo teve como objetivo avaliar os compostos bioativos e atividade antioxidante do pólen apícola e averiguar sua correlação com os tipos polínicos procedentes de um fragmento de mata ombrófila densa em estágio avançado de regeneração. Neste estudo, os maiores teores de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante foram encontrados nas amostras provenientes do tipo polínico *Eucalyptus*. Para o Coeficiente de Correlação de Spearman, apresentaram correlação positiva os valores de compostos fenólicos e flavonóides com Myrtaceae, atividade antioxidante com Leguminosae-mimosoideae; apresentaram correlação negativa os valores de compostos fenólicos e flavonóides com Leguminosae-mimosoideae, flavonóides com carotenóides. Através dos resultados apresentados neste estudo, pode-se observar que o teor de compostos fenólicos e flavonóides, carotenóides e atividade antioxidante variam de acordo com os tipos polínicos.

Palavras chave: pólen apícola, atividade antioxidante, compostos fenólicos, flavonóides, carotenóides.

ABSTRACT

The bee pollen, a result of the binding of pollen carried by bees from flowers by increased salivary substances and small quantities of nectar or honey, has been highlighted by both contain nutritional substances such as carbohydrates, proteins, amino acids, lipids, vitamins, minerals and trace of micronutrients and their therapeutic properties, such as antioxidant activity and the possibility of application in the food industry in the form of food. The literature presents data that shows great diversity in the presence of bioactive compounds in bee pollen. It also shows the interference of climatic and environmental factors on the composition and quality of bee pollen. However, the investigations cited represent only a small part of the actual composition because, as the composition of bee pollen will vary depending on the botanical origin, each pollen produced in each locality will have a different composition and consequently therapeutic properties only. This study aimed to assess the bioactive compounds and antioxidant activity of bee pollen and investigate its correlation with type growth from a dense rain forest remnant in advanced stages of regeneration. In this study, higher levels of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity were found in samples from type growth Eucalyptus. For the Spearman correlation coefficient showed a positive correlation values of phenolic compounds and flavonoids with Myrtaceae, with antioxidant activity Mimosoideae-Leguminosae; negative correlation values of phenolic compounds and flavonoids with Leguminosae-Mimosoideae, flavonoids with carotenoids. The results presented in this study, it can be observed that the content of phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and antioxidant activity, vary with the pollen types.

Keywords: bee pollen, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids, carotenoids

INTRODUÇÃO GERAL

O pólen é o elemento masculino das flores e apresenta a forma de grãos microscópicos contidos nas anteras que é recolhido pelas abelhas quando estão a criar larvas para obtenção de nutrízes ou de rainhas. É a partir do pólen que as abelhas vão produzir geléia real para alimentar as larvas nos dois primeiros dias e a rainha por toda a vida.

O pólen tem sido utilizado há muito tempo, principalmente entre adeptos da alimentação natural, como um suplemento da dieta humana, provavelmente pela riqueza em compostos bioativos.

Tradicionalmente, o pólen vem sendo utilizado em diversas culturas como alimento ou complemento alimentar que potencializa a saúde atuando como tônico, antibacteriano, antifúngico e retardador do envelhecimento. O que há muito tempo era considerado como conhecimento popular começa a ser referendado pelas pesquisas demonstrando o potencial do pólen, principalmente no que se refere as atividades antioxidantes.

O Brasil é reconhecido pelo seu potencial na exploração apícola em função da sua extensa área territorial e diversidade de plantas nectaríferas, poliníferas e propoliníferas. Entretanto, o Brasil está iniciando a exploração do pólen apícola e é insuficiente para atender a demanda potencial estimada em 150 toneladas ao ano.

Além do mercado brasileiro, a demanda por pólen apícola, tem aumentado na Europa e em outros continentes, devido ao crescimento do consumo de produtos fitoterapêuticos utilizados pela medicina tradicional.

Atualmente, o mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, vem estimulando a cadeia de produtos apícolas. Se, por um lado, a procura e o consumo pelo produto vêm aumentando, por outro, há necessidade de pesquisas científica, brasileira sobre o tema, poucos trabalhos fazem uma abordagem sobre os compostos bioativos, sobretudo quanto ao teor de compostos bioativos em pólen apícola originários da Bahia.

Muitos estudos sobre pólen apícola têm sido feito do ponto de vista químico, bioquímico ou microbiológico, mas poucos trabalhos fazem uma abordagem sobre os compostos bioativos. Neste sentido, muitas pesquisas ainda necessitam ser realizadas.

OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo avaliar os compostos bioativos (fenólicos totais, carotenóides totais) e o potencial antioxidante do pólen apícola produzido em um fragmento de mata ombrófila densa em estágio avançado de regeneração e verificar a sua correlação com os tipos polínicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Compilar estudos sobre o pólen, enfocando sua composição em compostos bioativos (compostos fenólicos, flavonóides e carotenóides), ressaltando seus benefícios à saúde humana;
- ❖ Determinar o teor de compostos fenólicos totais e fração de flavonóides;
- ❖ Determinar os carotenóides totais do pólen apícola;
- ❖ Determinar o potencial antioxidante, através do sistema DPPH;
- ❖ Correlacionar os resultados obtidos a com os tipos polínicos do pólen apícola.

CAPÍTULO 1: Revisão de literatura

1. A APICULTURA

Apicultura é a arte de criar abelhas. A apicultura não é uma ciência recente, pois já em 5.000 A.C., acharam-se referências sobre ela, na Espanha numa rocha paleolítica. Os gregos em 750 A.C. criavam abelhas em colméias. Desta época até os dias de hoje, a apicultura sofreu inúmeras transformações, desde a criação de abelhas em troncos ocos, cestos de vime até as colméias racionais usadas hoje (VIANA, 1983).

A importância dada à atividade também mudou, hoje a atividade apícola é vista como essencialmente ecológica, comprovadamente rentável, que pode ser desenvolvida em, praticamente, todo o espaço geográfico, não é destrutiva como a maioria das atividades rurais e é uma das poucas atividades agropecuárias que preenche todos os requisitos do tripé da sustentabilidade: o econômico porque gera renda para os agricultores; o social porque utiliza a mão-de-obra familiar no campo, diminuindo o êxodo rural; e o ecológico porque não se desmata para criar abelhas (LIMA, 2005).

A apicultura é considerada uma das grandes opções de trabalho para as regiões do Semiárido Nordeste, podendo ser considerada a que melhor remunera o produtor mesmo em anos de adversidades climáticas tão comuns nesta região. A grande diversidade de floradas e de microclimas, aliados às vastas extensões ainda inexploradas e isentas de atividade agropecuária tecnificadas fazem desta região a de maior potencial para a produção de mel, pólen e própolis (SEBRAE, 2005).

A apicultura nacional tem apresentado crescente desenvolvimento, graças a extensão de sua área, floradas diversificadas e seu clima propício possibilitam o manejo durante todo o ano (CAMARGO, 1972; COUTO; COUTO, 2002).

1.1 *Apis mellifera* no Brasil

No Brasil, antes de 1840, não havia a abelha *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Figura 1), as abelhas criadas no Brasil eram as nativas, conhecidas por abelhas indígenas sem ferrão, pois possuem o ferrão atrofiado, não sendo capaz de picar (CAMPOS, 1983). Depois dessa época, as abelhas européias *Apis mellifera* foram trazidas para o Brasil por padres jesuítas. Entre os anos de 1845 e 1880 os imigrantes italianos, alemães e austríacos trouxeram outras

subespécies: *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera mellifera* e *Apis mellifera caucásica* que se estabeleceram no sul e sudeste do país (SEBRAE, 2006).



Figura 1. Abelha *Apis mellifera* Linnaeus, 1758

Por serem originárias de países que apresentam inverno rigoroso, tais abelhas tinham o hábito de estocar alimento em quantidade para hibernar durante as estações mais frias do ano. Elas se adaptaram muito bem ao clima brasileiro e por se tratarem de abelhas dóceis e de fácil manejo o seu desenvolvimento se deu de forma acelerada, produzindo ótimos resultados (CAMARGO, 1972).

Em 1956, o Dr. Warwick Estevam Kerr com o intuito de desenvolver um estudo comparado entre as abelhas européias predominantes no Brasil naquela época e as africanas, trouxe da África a subespécie *Apis mellifera scutellata*. Acidentalmente houve uma fuga dessas abelhas que acabaram cruzando com as européias já existentes no país. Em relação à abelha européia, a abelha africana é mais agressiva, mais produtiva, apresenta ciclo reprodutivo mais curto, maior capacidade de enxamear e, acima de tudo, maior resistência aos ácaros, importante praga que acometia as colméias naquela época (KERR, 1967).

Rapidamente, essas abelhas se espalharam por todo Brasil e surgiram, então, populações poli-híbridas, denominadas africanizadas, com predominância de características de abelhas africanas, tais como a grande capacidade de enxamear, a rusticidade, dotadas de grande adaptabilidade às condições climáticas do Brasil, agressivas, porém menos que as abelhas africanas, alta produtividade, resistência às pragas e doenças e grande variabilidade

genética (KERR, 1967). Em função do rápido processo de africanização das abelhas presentes no Brasil e da ampla substituição das abelhas europeias pelas africanizadas não existe mais linhagens puras dessa raça no País (FUNARI et al., 2003; BARRETO et al., 2006).

1.2 Produção e comercialização do pólen apícola

A produção do pólen apícola no Brasil representa uma atividade recente que teve início no final da década de 80. Segundo vários autores, o país tem potencial para ser um grande produtor de pólen, devido principalmente à riqueza e a diversidade da flora aliada ao clima tropical e a eficiência das abelhas africanizadas (BARRETO et al, 2006), porém não existem dados sobre a produção e comercialização mundial desse produto (EMBRAPA, 2003).

Na Europa e em outros continentes, existe um largo mercado para produtos fitoterapêuticos baseados na aplicação da medicina tradicional. Por exemplo, na França, o pólen apícola está disponível nas farmácias, para venda ao público sob a forma de cápsulas. Na Europa e na Ásia é corrente o pólen ser comercializado como tônico apelando essencialmente ao efeito como retardador do envelhecimento celular. A procura deste produto pelos consumidores é uma das razões para a indústria farmacêutica e dietética ter aumentado as formulações com esta matéria-prima (SEBRAE, 2006).

O mercado do pólen no Brasil, com produção ainda em desenvolvimento tem o seu consumo dependente de um maior incentivo promocional de sua importância na alimentação humana e animal. Em âmbito internacional, há muita oferta e os compradores são muito exigentes quanto à qualidade orgânica, ou seja, sem resíduos tóxicos nos produto apícolas (EMBRAPA, 2003).

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

1.3 As abelhas e o pólen

As plantas e as abelhas vêm evoluindo e adaptando-se mutuamente desde o Período Cretáceo, entre 60 e 100 milhões de anos atrás. Este relacionamento benéfico, que persiste até os dias de hoje, levou uma interação tal que as abelhas depende das flores como sua principal fonte de alimentos (néctar e pólen) e muitas espécies vegetais dependem inteiramente delas como agentes polinizadores (GIORGINI; GUSMAN, 1972; MARTIN, 1979; MORETI *et al.*, 2006).

O pólen é o gameta masculino das flores, pequeno grânulo de dimensões microscópicas, produzido pelas anteras situadas no extremo dos estames (MCLELLAN, 1994) (Figura 2). Uma flor pode produzir quase quatro milhões de grãos de pólen. O tamanho de cada grão de pólen pode variar de 10 a 140 micras. Dependendo da origem floral, o tamanho, a forma e a coloração dos grãos de pólen podem variar muito (MORETI, 2006) e sua coloração pode variar do amarelo (a maioria), vermelho, castanho, verde e até cinza (COUTO; COUTO, 2006).



Figura 2. Estames com anteras evidentes, carregadas de pólen.

Fonte: Simões (2001)

O pólen é praticamente a única fonte de proteínas para as abelhas tendo grande quantidade de aminoácidos essenciais, substâncias graxas, fibras vegetais, minerais e vitaminas (LOPES; CAMARGO; VILELA, 2001) que são necessários durante a produção de alimento larval para o desenvolvimento de abelhas recém-nascidas e os seus primeiros

tecidos, sem os quais as abelhas não teriam condições de desenvolver satisfatoriamente seus órgãos e glândulas, tão importantes na produção de cera, geléia real e feromônios (COUTO; COUTO, 2002; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006). Assim, o pólen é consumido em maior quantidade quanto maior o número de crias presentes e quanto mais jovens forem as abelhas (CRAILSHEIM et al., 1992).

O pólen apícola é diferente do pólen das plantas porque a abelha aglutina-o com a saliva, formando pequenos grãos que são fixados nas corbículas (cestas das patas traseiras) para que possa ser transportado até a colméia. Como a saliva da abelha é rica em enzimas, aminoácidos e vitaminas, quando misturada ao pólen, faz com que este passe a possuir uma qualidade e quantidade de substância diferente da do pólen contido nas flores (PCHELOVODSTVO, 1999).

É através da busca pelo alimento que as abelhas realizam a polinização que consiste na transferência dos grãos de pólen das anteras (parte masculina) para o estigma (parte feminina) das flores, possibilitando a fecundação da flor e posterior desenvolvimento do fruto (MORIYA, 1996). A função das abelhas como polinizadora é a de fecundar as flores. Esta é uma das tarefas que a abelha contribui muito para a polinização de pomares de frutíferas e outras plantas de importância econômica (EARDLEY et al., 2006).

A abelha coleta o pólen das flores, que adere aos pelos do seu corpo quando em contato com os estames, escovando-se com os "pentes tibiais" e aglutinando os grãos em "bolotas" ou grânulos, que são transportados nas corbículas das patas posteriores. Transporta-o para a colméia, onde é depositado nos alvéolos dos favos, sendo comprimido pela cabeça das abelhas operárias, para obter uma massa compacta (WINSTON, 1991). Essa massa sofre transformações, não só pelo alto índice de umidade e temperatura interna da colméia, que fica em torno de 35°C, mas também pela ação de secreções salivares das abelhas, ricas em enzimas e misturadas com néctar.

Geralmente oriundo de pólen de várias espécies de plantas, sua composição química varia com a origem floral, condições ambientais, climáticas, geográficas, beneficiamento e todos esses fatores influenciam os efeitos terapêuticos atribuídos ao pólen apícola (KROYER; HEGEDUS, 2001; LEJA et al., 2007).

A experiência tem demonstrado que é trabalhoso coletar o pólen depois de armazenado nos alvéolos. É mais fácil retirá-lo da abelha no momento de sua entrada na colméia. Para isso, existem hoje no mercado vários tipos de coletores de pólen que, instalados no alvado da colméia, coletam as cargas de pólen das abelhas, armazenando-as em local protegido. Esses extratores de pólen possuem orifícios de 4,5 a 5,0 mm de diâmetro e, quando

colocados na entrada da colméia, removem o pólen das campeiras, quando essas passam por eles (COUTO; COUTO, 2006).

1.4 Legislação do pólen apícola

No Brasil, os produtos apícolas são registrados no Ministério da Agricultura e apresentam legislações específicas como o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel (BRASIL, 2000) e o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade dos outros Produtos Apícolas (BRASIL, 2001).

Mediante a Normativa n.º 03 de 19 de Janeiro de 2001 do Ministério de Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2001), o pólen apícola (Figura 3) é definido como um resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, com o néctar e substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colméia.



Figura 3. Pólen Apícola

Embora seja um produto totalmente natural e de grande valor nutricional são necessários cuidados de manipulação na colheita e beneficiamento dos grãos para uma maior garantia da qualidade do produto final. 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 consequente perda do mercado europeu (BARRETO et al, 2005).

Dentre os compostos de importância que compõe o pólen apícola estão compostos fenólicos e os carotenóides. Contudo, tais compostos não são considerados, como parâmetro de identidade e qualidade, na regulamentação dada pela Legislação Brasileira. A tabela 1 expressa essa realidade trazendo os principais parâmetros físico-químicos recomendados pela Legislação para o pólen apícola (BRASIL, 2001), assim como os métodos das determinações mais utilizados na literatura.

Tabela 1: Parâmetros indicados pela Legislação Brasileira para o controle de qualidade do pólen apícola

Requisitos	Legislação	Métodos para análise
Umidade	Fresco: máximo 30%	Gravimetria
	Desidratado: máximo 4%	
Cinzas	Máximo de 4% m/m – base seca	Gravimetria
Lipídios	Mínimo de 1,8% m/m – base seca	Gravimetria
Proteínas	Mínimo de 8% m/m – base seca	Titulometria
Açúcares totais	14,5% a 55,0% m/m – base seca	Titulometria
Fibra bruta	Mínimo de 2% m/m – base seca	Enzimático
Acidez livre	Máximo de 300 mEq/Kg	Titulometria
pH	4 a 6	pHmetro

Fonte: Brasil (2001).

2. COMPOSIÇÃO E BENEFÍCIOS DO PÓLEN APÍCOLA

O pólen apícola tem se destacado tanto por conter substâncias nutricionais como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas, minerais e traços de micronutrientes, como pelas suas propriedades terapêuticas, tais como, atividade antioxidante (SOMERVILLE, 2005; ALMARAZ-ABARCA et al, 2007) e pela possibilidade de aplicação na indústria alimentícia, na forma de alimentos funcionais (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006).

Além do material protéico, o pólen contém 30% a 40% de três tipos de açúcares: glicose, frutose e dextrina. Sendo açúcares simples, têm digestão rápida e o organismo os

absorve imediatamente. Por isso são excelentes para os que necessitam de energia prontamente disponível. A dextrina, por sua vez, embora sofra digestão no intestino tem, também, assimilação rápida. O pólen tem ainda celulose, a fibra com estrutura química de carboidrato que estimula o funcionamento intestinal. Seu conteúdo em gorduras é de 5% a 14% e os teores de vitaminas e minerais são expressivos (HANSSEN, 2000). Podendo conter cálcio, cloro, cobre, ferro, magnésio, iodo, molibdênio, selênio, estrôncio, estanho, boro, flúor, vanádio, cromo, fósforo, potássio, enxofre, alumínio, ferro, manganês, e zinco e as vitaminas A, B, C, D e E (PROS, 2002; MARCHINI et al., 2006).

2.1 Compostos bioativos em pólen apícola

Entre os compostos bioativos que apresentam atividade antioxidante incluem-se os carotenóides, tocoferóis, compostos fenólicos e alguns aminoácidos (ZHENG; WANG, 2001; SELLAPPAN; AROH; KREWER, 2002).

Estudos como o de Bogdanov (2004), Neves et al (2009) e Carpes et al. (2008), têm demonstrado que a ação biológica do pólen é devida à presença de carotenóides e de compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos e diterpenos fenólicos, que dentre outras propriedades biológicas possuem ação antioxidante.

2.1.1 Compostos fenólicos totais

Em termos de proteção dos sistemas biológicos, as principais classes de bioativos encontradas no pólen apícola são os compostos fenólicos. Estes compostos abrangem mais de 8000 estruturas conhecidas e incluem, desde moléculas simples, até outras com alto grau de polimerização (ROSS; KASUM, 2002).

Atividade bacteriana e antioxidante observada por Carpes et al, (2007) em pólen procedente de dois diferentes estados estava diretamente correlacionada com elevada concentração de compostos fenólicos presentes nos extratos etanólicos avaliados.

Estudos epidemiológicos têm mostrado correlação entre o aumento do consumo de compostos fenólicos com ação antioxidante (JAVANMARDI et al., 2003) e a redução do risco de doenças cardiovasculares e de certos tipos de câncer (RICE-EVANS et al., 1996;

COOK; SAMMAN, 1996).

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal (SOARES, 2002) onde são essenciais no crescimento e reprodução, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação (ANGELO; JORGE, 2007). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004; MAMEDE et al 2009).

Os compostos fenólicos de fontes vegetais segundo Burns et al, (2001) podem ser divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides. Os denominados de flavonóides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6.

Flavonóides totais

Os flavonóides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural (Figura 4), cuja síntese não ocorre na espécie humana. Entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuarem sobre os sistemas biológicos (LOPES, et al., 2000), por exemplo, como antioxidantes.

A palavra flavonóide tem origem “flavus”, que significa amarelo, e incluía no início somente grupos de compostos que apresentavam a cor amarela e um núcleo flavona. Hoje este termo é usado para ampla classe de substâncias de origem natural (RICE-EVANS, 2004).

A distribuição dos flavonóides nos vegetais depende de diversos fatores de acordo com a fila/ordem/família do vegetal, bem como da variação das espécies. Os flavonóides são formados da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico) e ácido acético. Os padrões de distribuição dependem do grau de acesso à luminosidade, especialmente raios ultravioleta B, pois a formação dos flavonóides é acelerada pela luz. Conseqüentemente, plantas cultivadas em estufas, onde os raios ultravioleta são bloqueados, o conteúdo de flavonóides é reduzido (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

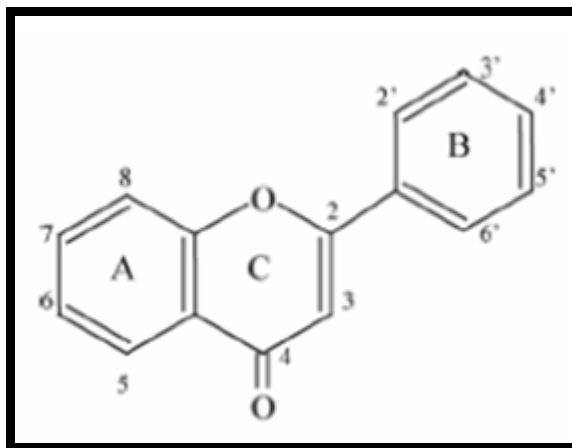


Figura 4. Estrutura química dos flavonóides, composto por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C). Fonte: Oldoni (2007).

O grupo dos flavonóides geralmente ocorre em plantas na forma de glucídios, sendo uma das substâncias responsáveis pela atribuição do perfil sensorial de frutas, atribuindo-lhes o gosto característico (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Nos produtos apícolas os flavonóides comumente encontrados são o canferol, a miricetina, a quercetina, isoramnetina e a galangina que são flavonóis; a rutina, canferide, a apigenina, a acetina e crisina que são exemplos de flavonas; a naringenina, naringina, pinocebrina e sakuranetina que são flavononas (SERRA BONVEHI et al., 2001).

A maioria dos flavonóides existente no pólen está na forma glicosilada, ou seja, um açúcar é ligado em uma ligação semiacetal em um ou mais grupos hidroxílicos da molécula. Os compostos fenólicos livres são chamados de agliconas e aparecem “in vivo” pela ação das enzimas glicosidases (SERRA BONVEHI et al. 2001).

Na colméia, as bolotas de pólen são misturadas com mel e secreções glandulares hipofarigeanas das abelhas com a presença de enzimas hidrolíticas do tipo α e β -glicosidase. Desta forma, agliconas são encontradas no estado livre e o acúmulo de quercetina no pólen desidratado é evidentemente devido à atividade da glicosidase (CAMPOS, 1997).

A determinação quantitativa dos flavonóides glicosilados é difícil, pois a maioria dos padrões não está disponível comercialmente. A hidrólise de todos os glicosídeos agliconas oferece um procedimento prático para a determinação quantitativa dos flavonóides. No pólen apícola este procedimento não é necessário porque as secreções glandulares hipofarigeanas das abelhas hidrolizam os flavonóides heterosídeos a agliconas livres, aumentando assim a

possível atividade biológica do produto (CARPES et al, 2008).

Muitos autores relatam diferença significativa no teor de flavonóides totais entre as amostras analisadas. Estas diferenças muitas vezes podem estar relacionadas à origem botânica das amostras.

2.1.2 Carotenóides totais

Entre os compostos bioativos estão os carotenóides. Estes compostos são pigmentos naturais responsáveis pelas colorações do amarelo ao vermelho de flores, folhas, frutas, algumas raízes, gema de ovo, lagosta e outros crustáceos, peixes, pássaros (SILVA; MERCADANTE, 2002), de antioxidantes em algas (MIRANDA, et al., 2001) e leveduras (NASCIMENTO, 2006). A cor de um carotenóide se deve a um extenso sistema de duplas ligações conjugadas, assim sendo, a cor de um alimento carotenogênico depende dos carotenóides presentes, das suas concentrações e também do seu estado físico (SENTANIN; RODRIGUEZ-AMAYA, 2007).

Atualmente existem mais de 750 carotenóides identificados na natureza (BRITTON et al. 2004), dos quais apenas cerca de 50 possuem a habilidade de serem precursores da vitamina A (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004).

A vitamina A é essencial para a diferenciação celular, a visão, o crescimento ósseo, a reprodução e a integração do sistema imunológico e sua deficiência pode resultar em anemia (AZEVEDO-MELEIRO, 2003). A ingestão de pró-vitamina A tem a vantagem de esta só ser bioconvertida pelo organismo quando há carência, evitando-se assim a hipervitaminose A.

Os carotenóides também exercem outras ações não relacionadas com a atividade provitamínica, como a redução de radicais livres, observado por Miranda et al (1998), que encontraram uma relação direta entre os teores de β -caroteno e a redução de radicais livres no plasma de ratos que receberam extratos de *Spirulina maxima*.

O β -caroteno é o carotenóide mais ativo (100% de atividade), enquanto γ -caroteno, α -caroteno, β -zeacaroteno, β -criptoxantina e α -criptoxantina apresentam apenas 50% de atividade (SILVA; MERCADANTE, 2002).

Os carotenóides podem atuar também na prevenção da formação de catarata, redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento do risco de doenças coronárias (SILVA; MERCADANTE, 2002) e na diminuição do risco de câncer e de doenças

degenerativas. Experimentos com culturas de células “in vitro” demonstram que os carotenóides inibem a transformação e proliferação de células, assim como regulam a manifestação de certos genes, indicam o efeito protetor contra carcinogênese (COLLINS, 2001).

Cada grão de pólen, a depender da origem botânica, contém uma variedade enorme de nutrientes. Seu maior uso, hoje, é como suplemento alimentar, sendo indicado para o equilíbrio funcional e harmônico do organismo humano, produzindo bem-estar e vigor físico (LEJA et al., 2007).

Segundo Muniategui et al (1990) os carotenóides encontrados geralmente no pólen apícola são predominantemente o α -caroteno e β -caroteno e em menos quantidade criptoxantina, xantofilas e flavoxantina.

2.2 Benefícios do Pólen apícola

O pólen apícola tem sido utilizado há muitos anos tanto na medicina tradicional quanto na nutrição suplementar e em dietas alternativas, devido principalmente as suas propriedades benéficas à saúde humana (ISLA et al., 2001; KROYER e HEGEDUS, 2001; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005).

Muitos benefícios são popularmente atribuídos ao consumo do pólen apícola, 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; LEONG; SHUI, 2002; MISHRA et al., 2005). Previne o envelhecimento precoce; possui ação sobre o sistema digestório regulando o seu funcionamento e equilibrando a flora intestinal; apresenta efeitos preventivos contra hipertensão arterial. Atua também na regeneração das mucosas e pele; como antidepressivo; previne queda e embranquecimento precoce dos cabelos; indicado em estados de carência e suas conseqüências como: raquitismo, atraso de crescimento e má dentição, dentre outros (COUTO; COUTO, 2002).

Diversos trabalhos acadêmicos confirmam as potencialidades e efeitos terapêuticos do pólen apícola podendo ser usado no tratamento de asma (MEDEIROS, 2006), atividade hepatoprotetora em camundongos (JUZWIAK, 1992), atividade imunomoduladora em coelhos (DUDOV et al., 1994), antioxidante (CAMPOS et al., 2003) e redução da

intensidade da placa aterosclerótica (WOJCICKI et al., 1986), dentre outros.

Além disso, o pólen também contém altos teores de carotenóides (ALMEIDA-MURADIAN, 2005) e de substâncias polifenólicas, principalmente flavonoides com atividade antioxidante (KROYER e HEGEDUS, 2001; CAMPOS et al., 2003; MEDEIROS, 2006; CARPES, 2008) e antimicrobiana (BASIM et al., 2006; GARCÍA et al., 2001; SULZBACH, 2009).

A atividade antioxidante presente no pólen apícola tem a propriedade de inibir a ação dos radicais livres os quais são produzidos continuamente no organismo saudável e tem sua produção aumentada durante o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, dos diversos tipos de câncer, das doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer, do diabetes mellitus, da cirrose hepática entre outras (DAGLIA et al., 2000).

A presença de substâncias antioxidantes no pólen apícola tem recebido, recentemente, atenção especial entre pesquisadores de todo devido principalmente devido às suas propriedades biológicas como atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, anticarcinogênica e imunodulatória (NEVES et al, 2009).

Segundo Castagnino (2002) as substâncias nutritivas do pólen vão estimular o metabolismo celular, a síntese dos produtos indispensáveis para nossas glândulas, reforçar a imunidade, neutralizar os radicais livres, diminuir os riscos de câncer e doenças cardiovasculares, esses elementos funcionais, tem papel importante na saúde.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente compilação de dados mostra a grande diversidade quanto à presença de compostos bioativos no pólen apícola. Entretanto, as investigações citadas representam apenas uma pequena parte da real composição, pois como a composição do pólen apícola irá variar em função da origem botânica, cada pólen produzido em cada localidade, terá uma composição diferente e conseqüentemente propriedades terapêuticas únicas. Estudos da incorporação destes produtos na dieta humana devem ser implementados, possibilitando uma nova fonte alternativa de alimento potencialmente nutritivo e saudável.

4. REFERÊNCIAS

- ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M. da G.; ÁVILA-REYES, J. A.; NARANJO-JIMÉNEZ, N.; HERRERA CORRAL, J; GONZÁLEZ-VALDEZ, L. S. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybeecollected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 119 - 124, 2007.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.105-111, 2005.
- ÂNGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Instituto Adolfo Lutz**, n. 66, v. 1, p.1-9, 2007.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H. **Análise de carotenóides em alimentos brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência: espectrometria de massas**. Campinas, SP: [s.n.], 2003.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.17, p. 385-396, 2004.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. **Boletim da Indústria Animal**, v.62, p.167-175, 2005.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. **Produção de pólen no Brasil**. Taubaté, SP, Cabral Editora e Livraria Universitária, 100p, 2006.
- BASIM, E.; BASIM, H.; ÖZCAN, M. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. **Journal of Food Engineering**, Oxon, v. 77, n. 4, p. 992-996, 2006.
- BOGDANOV, S. Quality and standards of pollen and beeswax. **Apiacta**, v. 38, p.334-341, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 11**, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, 2000.

BRASIL. **Instrução Normativa n.3** de 2001 de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade, de apitoxina, de cera de abelha, de geléia real, de geléia real liofilizada, de pólen apícola, de própolis, de extrato de própolis. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa>>. Acesso em: 12/08/2008.

BRITTON, G. **Carotenoids**. Handbook. G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (Eds.). Birkhauser, Basel, 2004.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Extraction of Phenolics and Changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5797-5898, 2001.

CAMARGO, J. M.F. **Manual de apicultura**. São Paulo: Ed. Agronômica. Ceres Ltda, 1972.

CAMPOS, L. A. de O. Abelhas indígenas sem ferrão. In: **Informe agropecuário**. Belo horizonte, v. 9, n. 106, 1983.

CAMPOS, M. da G. R. **Caracterização do pólen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algumas actividades biológicas**. Faculdade de Farmácia. Faculdade de Coimbra. Coimbra, 1997.

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

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil**. Curitiba, 2008. 248 f.

CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; ALENCAR, S. M. de; MASSON, M. L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na Região Sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, p. 1660-1664, 2008.

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

CASTAGNINO, G. L. B. **Efeito do fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de *Apis mellifera* L. causada pela cria ensacada brasileira**. Viçosa, 2002. 64f.

COLLINS, A. R. Carotenoids and genomic stability. **Mutation Research**, v. 475, p. 21-28, 2001.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutrition Biochemistry**, Woburn, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

COUTO, R. H. N. e COUTO, L. A. **Apicultura**: manejo e produtos. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 191 p., 2002.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. **Apicultura**: manejo e produtos. Jaboticabal: Unep, 2006, 193 p.

CRAILSHEIM, K.; SCHEIDER, L.H.W.; HRASSNIGG, N.; BÜHLMANN, U.; BROSCH, R.; GMEINBAUER, R.; SCHÖFFMANN, B. Pollen consumption and utilization worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. **Journal of Insect Physiology**, v.38, p.409-419, 1992.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTÈ, F.; GAZZANI, G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1449-1454, 2000.

DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Visão Acadêmica**, v. 5, p. 33-40, 2004.

DUDOV, I.A. et al. Immunomodulatory effect of honeybee flower pollen load. **Ukrains'ky biokhimichny zhurnal**, v. 66, n.6, p.91-93, 1994.

EARDLEY, C. ROTH, D.; CLARKE, J. BUCHMANN, S.; GEMMIL, B. **Pollinators and pollination**: a resource book for policy and practice. African Pollinators Initiative, 77 p., 2006.

EMBRAPA, Meio-Norte. **Sistema de Produção**. 3 ISSN 1678-8818 Versão Eletrônica Jul/2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/importancia.htm>> Acesso em: 05 de fevereiro de 2009.

FUNARI, S.R.C.; ORSI, R.O; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M.; CURI, P.R.; DIERCKX, S. M.A.G.; FUNARI, A.R.M. 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.

GARCÍA, M. et al. Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. **Food Science Technology International**, v.7, n.2, p.155-158, 2001.

GIORGINI, J. F.; GUSMAN, A. B. A importância das abelhas na polinização. In: CAMARGO, J. M. F. **Manual de apicultura**. São Paulo, Agronômica Ceres, p. 33-57, 1972.

HANSEN, Maurice. **The Healing Power of Pollen**. Fourth impression. Wel lington: Thorsons Publishers Limited. 263p., 2000.

ISLA, M. I.; MORENO, M. I. N.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 76, n. 2, p. 165-170, 2001.

JAVANMARDI, J.; STUSHNOFF, C.; LOCKE, E.; VIVANCO, J. M. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. **Food Chemistry**, Oxon, v. 83, n. 4, p. 547-550, 2003.

JUZWIAK, S. Pollen extracts reduce the of paracetamol in mice. **Phytotherapy research**, v. 6; p.141-145, 1992.

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

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

LEJA, M. et al. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, v.100, n.1, p.237-240, 2007.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. **Food Chemistry**, v. 76, p. 69-75, 2002.

LIMA, S. A. M. de. **A apicultura como alternativa social, econômica e ambiental para a XI mesorregião do noroeste do Paraná**. (dissertação). Curitiba – PR, 2005

LOPES, R. M. et al. Flavonóides. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.3, p.18-22, 2000.

LOPES, M. T. do R.; CAMARGO, R. C. R. de; VILELA, S. L. de O. **Apicultura**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. 1.

MAMEDE, M. E. O; MIRANDA, M. P. S. ; RITZINGER, R. ; GODOY, R. C. B. ; VELOZO, E. S. Physico-chemical and sensorial evaluation of new varieties of acerola. **British Food Journal**, v. 111, p. 387-395, 2009.

MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A. dos; 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. **Revista Ciência Rural**, v.36, n.3, mai-jun, p. 949-953, 2006.

MARTIN, E. C. The use of bees croup pollination. In: HAMILTON, D. **The hive and the honeybee**. 4 ed. p. 579-614, 1979

McLELLAN, A. R. Some effects of pollen traps on colonies of honeybees. **Jornal of Apicultural Research**, v. 13, n. 2, p. 114-143, 1994.

MEDEIROS, K. C. de 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. 96 p.

MIRANDA, M. S. Cintra, R. G. BARROS, S. B. M. MANCINI-FILHO, J. Antioxidant Activity of the microalga *Spirulina maxima*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n 8, p. 1075-1079, 1998.

MIRANDA, M. S. SATO, S.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Chlorella vulgaris* cultured on special conditions. **Boll. Chim. Farmac**, Itália:, v.140, n.03, p.165 - 168, 2001

MISHRA, B. et al. Pulse radiolysis studies of mangiferin: A C-glycosyl xanthone isolated from *Mangifera indica*. **Radiation Physics and Chemistry**, in press, 2005.

MORETI, A. C. de C. C.; FONSECA, T. C.; RODRIGUEZ, A.P.M.; MONTEIRO-HARA, A.C.B.A.; BARTH, O. M. Pólen das Principais Plantas da Família Fabaceae com Aptidão Forrageira e Interesse Apícola. In: 57 Congresso Nacional de Botânica, 2006, Gramado. **Anais do 57 Congresso Nacional de Botânica**. Gramado: Sociedade Brasileira de Botânica, v. 57, 2006.

MORIYA, K. **Effects of pollen traps on numbers of pollen foragers in honeybee colony**. Jap. J. Ecol., v. 16, n. 3, p. 105-109, 1996.

MUNIATEGUI, S. Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, v. 29, n. 3, p. 147-150, 1990.

NACZK, M; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, 2004; 1054 (1/2): 95-111.

NASCIMENTO, P. **Avaliação da retenção de carotenóides de abóbora, mandioca e batata doce**. São José do Rio Preto: [s.n.], 2006 67 f.; 30 cm.

NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**. Preprint Serie, v. 15, p. 107-110, 2009.

OLDONI, T. L. C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera***. Piracicaba, 2007. 104 p.: il.

PAULA NETO, F. L. ALMEIDA NETO, R. M. **Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2006. 78 p. (Série Documentos do ETENE, n. 12).

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

PROS, J. S. **Virtudes Curativas de la Miel y Polen**. Barcelona: Ediciones Cedel, 2002.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996.

RICE-EVANS, C. Flavonoids and Isoflavones (Phytoestrogens): Absorption, Metabolism, and Bioactivity. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 36, n. 7, p. 827-828, 2004.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 19-34, 2002.

SEBRAE Nacional, gestão orientada para resultados – A experiência da rede apis, 2005.

SEBRAE Nacional – Relatório Completo. Informações de mercado sobre mel e derivados da colméia. **Série Mercado**, 2006.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G.; Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2432 – 2438, 2002.

SENTANIN, M. A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 787-792, 2007.

SERRA BONVEHI et al. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.9, n.4, p.1848-1853, 2001.

SILVA, S. R.; MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) In Natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 254-258; set.-dez.; Campinas/SP; 2002.

SIMÕES, C. M. C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre /Florianópolis: Ed. UFSC/ Ed. UFRGS, 2001. 833p.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes, **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 71-81, 2002.

SOMERVILLE, D. C. Lipid content of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.45, p.1659-1661, 2005

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. **Higiene Alimentar**, v. 23, p. 81-82, 2009.

VIANA, L. de S. O que é apicultura. In: **Informe agropecuário**. Belo horizonte, v. 9, n. 106, 1983.

WINSTON, M. L. **The Biology of the Honey Bee**. Harvard University Press, 1991. 281p.

WOJCICKI, J. et al. Effect of pollen extract on the development of experimental atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**, v. 62, p. 39-45, 1986.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.49, n.11, p. 5165-5170, 2001.

CAPÍTULO 2: Potencial antioxidante do Pólen Coletado por Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Alagoinhas-BA

Compostos bioativos e Potencial antioxidante do Pólen Apícola coletados por Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) no município de Alagoinhas-BA

RESUMO

Os compostos bioativos presentes no pólen apícola, devido as suas propriedades biológicas tem sido objeto de vários estudos, principalmente sobre as atividades antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, anticarcinogênica, e imunomodulatória. No presente estudo, 34 amostras de pólen apícola produzidos por *Apis mellifera* L em um fragmento de mata ombrófila densa em estágio avançado de regeneração foram analisadas em relação aos teores de compostos fenólicos, flavonóides, carotenóides e atividade antioxidante. O teor dos compostos fenólicos das amostras de pólen variou de 14,31 mg a 132,39 mg em GAE/g de pólen. O teor de flavonóides totais variou de 0,62 mg a 2,51mg. Foi feita a correlação dos tipos polínicos com os parâmetros avaliados. Os maiores teores de compostos fenólicos, flavonóides e potencial de atividade antioxidante foram encontrados nas amostras provenientes do tipo polínico *Eucalyptus*. O teor de carotenóides totais variou de 3,02 µg/g a 764,37 µg/g sendo que para o tipo polínico *Mimosa pudica* a média de carotenóides foi de 244,71 ± 1,14 µg/g e para o tipo polínico *Eucalyptus* a média foi de 26,88 ± 0,45µg/g. Atividade antioxidante variou de 37,94% a 93,21%. Apresentaram correlação positiva pelo Coeficiente de Correlação de Spearman os valores de compostos fenólicos e flavonóides com Myrtaceae; atividade antioxidante com Leguminosae-mimosoideae; flavonóides com atividade antioxidante; fenólicos com flavonóides totais. Apresentaram correlação negativa os valores de compostos fenólicos, flavonóides com Leguminosae-mimosoideae; flavonóides e carotenóides. Através dos resultados apresentados neste estudo, pode-se constatar que o teor de compostos fenólicos, flavonóides, carotenóides e atividade antioxidante sofrem influência do tipo polínico.

Palavras chave: pólen apícola, atividade antioxidante, compostos fenólicos, flavonóides, carotenóides.

Bioactive compounds and Antioxidant potential of the pollen apicola produced by Africanized bee (*Apis mellifera* L.) in municipal Alagoinhas - BA

ABSTRACT

The bioactive compounds present in bee pollen, due to its biological properties have been object of several studies, mainly on the antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, anticarcinogen and immunomodulator activities. In this study, 34 samples of bee pollen produced by *Apis mellifera* L. in a fragment of dense rain forest in an advanced stage of regeneration were analyzed for levels of phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and antioxidant activity. The amount of phenolic compounds from pollen samples ranged from 14.31 mg to 132.39 mg in Gae/g of pollen. The amount of total flavonoids ranged from 0.62 mg to 2.51 mg. The date was verify its correlation with the pollen types. The highest levels of phenolic compounds, flavonoids, and the potential for antioxidant activity were found in samples from type growth *Eucalyptus*. The content of total carotenoids varied from 3.02 $\mu\text{g/g}$ a 764.37 $\mu\text{g/g}$ while for the type *Mimosa pudica* the average growth of carotenoids was 244.71 ± 1.14 g/g for the average type growth *Eucalyptus* was 26.88 ± 0.45 g/g. Antioxidant activity ranged from 37.94% to 93.21%. Showed a positive correlation by Spearman correlation coefficient values of phenolic compounds, flavonoids with Myrtaceae; antioxidant activity with Leguminosae-Mimosoideae, flavonoids with and antioxidant activity, total phenolics with flavonoids. Negative correlation values of phenolic compounds, flavonoids with Leguminosae-Mimosoideae, flavonoids with carotenoids. The results presented in this study, can be observed that the amount of phenolic and flavonoids compounds, antioxidant activity and carotenoids, vary with the pollen types.

Keywords: bee pollen, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids, carotenoids

1. INTRODUÇÃO

O pólen apícola é o produto obtido da aglutinação de diferentes grãos de pólen de várias fontes vegetais colhidos pelas abelhas, os quais são misturados com néctar e secreções das glândulas hipofaríngeas, como as enzimas α e β -glicosidase, o que o torna diferente daqueles colhidos diretamente das plantas.

O valor nutritivo do pólen varia de acordo com a espécie vegetal, as condições ambientais, a idade e o estado nutricional da planta e varia, inclusive, com as condições de secagem, temperatura e duração do tempo de armazenamento. Contêm nutrientes como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas e minerais, além de carotenóides, flavonóides e fitosteróis (ALMEIDA-MURADIAN, 2005), sendo este o motivo da sua utilização como alimento alternativo e/ou suplemento alimentar (SOMERVILLE, 2005; 2006).

O pólen tem recentemente recebido atenção especial entre os pesquisadores de todo o mundo, devido, principalmente, às suas propriedades bioativas, como atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, imunomodulatória e anticariogênica.

O extrato de pólen tem sido utilizado no tratamento de alguns casos de prostatite benigna e na redução da sensibilidade oral em crianças que têm alergia a pólen. Exerce um papel antioxidante inibindo a ação lesiva dos radicais livres, prevenindo, desta forma, diversas enfermidades que adviriam com essa lesão celular (KROYER; HEGEDUS, 2001). Melhora o desempenho de atletas devido a um efeito positivo no consumo de oxigênio e na recuperação pós-exercício. Auxilia em problemas de memória e no tratamento de bronquite (GREENBERGER, et al., 2001; SHOSKES; MANICKAM, 2003; ZORBAS, 2003).

Este trabalho teve como objetivo determinar o teor de compostos fenólicos, flavonóides, a atividade antioxidante e os carotenóides totais do pólen apícola produzido em um fragmento de mata ombrófila densa em estágio avançado de regeneração e verificar a sua correlação com a origem botânica.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 Amostragem

O material experimental compreendeu 34 amostras de pólen apícola coletadas de setembro de 2007 a outubro de 2008, provenientes do apiário localizado no *Campus II* da Universidade do Estado da Bahia (Figura 1), situado no território do Litoral Norte da Bahia e Agreste do Município de Alagoinhas ($12^{\circ} 08' S$, $38^{\circ} 26' W$; altitude 150 m).



Figura 1. Apiário do *Campus II* da Universidade do Estado da Bahia

O pólen apícola foi coletado através de um caça pólen, uma estrutura que apresenta uma grade de retenção com orifícios de 4 mm de diâmetro por onde as abelhas passam e como esse orifício é muito estreito, as abelhas passam e as bolotas de pólen são depositados em um recipiente coletor (Figura 2).

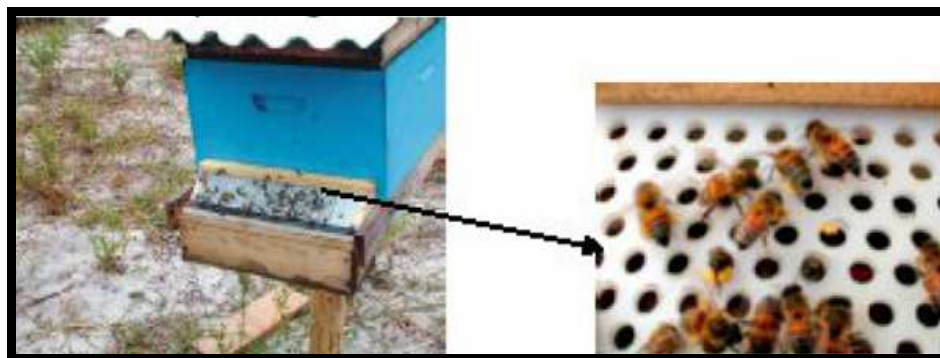


Figura 2. Coletor de pólen colocado na frente do alvado.

Fonte: Magalhães (2005)

O pólen coletado foi transferido para vasilhames de polietileno hermeticamente fechados, e congelados a -18°C , onde permaneceu por no mínimo 48 horas. O pólen foi descongelado gradativamente em geladeira e foi feita uma limpeza manual para a retirada de eventuais matérias estranhas e sujidades como, asas e pernas de abelhas, larvas secas, bolotas de própolis.

Depois da limpeza, o pólen foi desidratado em estufa elétrica a uma temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, como recomendado pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Todas as amostras foram trituradas e armazenadas em vasilhames de plástico e guardadas em freezer a -18°C para posterior análise.

2.2 Identificação Palinológica

Os grãos de pólen foram identificados a partir da palinoteca da Universidade do Estado da Bahia (UNEB)/Campus II - Alagoinhas por Tereza Cristina Rebouças e Yumi de Oliveira Fugiki, sob a supervisão da Prof. Dra Luciene Lima e Lima. As indicações palinológicas de Barth (1971; 1989), Moncada e Salas (1983), Carvalho e Marchini (1999), de Carvalho et al. (2001) e de outros autores foram importantes para a identificação botânica dos grãos de pólen. Todos os tipos polínicos foram fotografados em microscópio óptico.

Cada amostra foi homogeneizada, 2 g de pólen foram dissolvidos em 20 mL de água morna; a mistura foi centrifugada (2500 rpm durante 15 minutos) e o líquido sobrenadante descartado. O sedimento polínico foi submetido ao processo de acetólise de Erdtman (1960), que consiste na hidrólise ácida aplicada aos grãos de pólen através de uma mistura de anidrido

acético e ácido sulfúrico com proporção de 9:1. O sedimento resultante foi montado em lâminas com gelatina glicerinada.

Para cada amostra foram montadas 5 lâminas e ao todo foram contados 500 grãos de pólen por amostra, os quais foram identificados através de laminários de referência. Na avaliação percentual, atribuiu-se o valor de 100% ao total de grãos de pólen contado por amostra, sendo que o pólen de cada espécie, ou cada tipo polínico, ocupa uma porção deste total expresso em porcentagem.

2.3 Preparo do Extrato Etanólico do Pólen (EEP)

No Laboratório de Pesquisa e Avaliação de Alimentos Aditivos e Contaminantes (LAPAAC) da Faculdade de Farmácia/UFBA o extrato etanólico foi preparado com aproximadamente 1 grama de pólen de cada amostra e 15 mL de etanol a 70% (v/v), a extração foi feita a 70°C em banho de água termostaticado, por 30 min, sob agitação constante. Depois de centrifugados a 4000 rpm, os sobrenadantes obtidos foram armazenados a 5°C, em tubos de ensaio com rosca.

2.4 Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), utilizando ácido gálico como padrão de referência. O reagente Folin-Ciocalteu (Imbralab) é uma solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoliácidos, fosfomolibdicos e fosfotungsticos (SINGLETON, et al., 1999). Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul Mo – W.

Dos extratos de pólen foram retiradas uma alíquota de 20 µL e adicionado a 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada 1:10 (v/v). A esses reagentes foram adicionados 2 mL de carbonatos de sódio a 4% (v/v). Após repouso de 2 horas a temperatura ambiente, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro UV/VIS (PERKIN ELMER-LAMBDA 20) a 740 nm. O branco foi conduzido nas mesmas condições. Foi constituída uma

curva analítica com ácido gálico e os resultados expressos em mg GAE/g de pólen (GAE: equivalente em ácido gálico) (SINGLETON et al. 1999). As análises foram realizadas em triplicata.

2.5 Determinação de flavonóides totais

A concentração de flavonóides totais foi determinada pelo método descrito por Zhishen et al. (1999), com algumas modificações. Uma alíquota de 1 mL do EEP foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, foi adicionado 4 mL de água destilada, 0,3 mL de nitrito de sódio a 5%, aguardou-se 3 minutos, adicionou-se 0,3 mL de cloreto de alumínio a 10% e aguardou-se 1 minuto, adicionou-se 2 mL de hidróxido de sódio a 1M e completou-se o volume do balão com água destilada. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (PERKIN ELMER- LAMBDA 20) em 510 nm. O branco foi conduzido nas mesmas condições, mas sem a adição da amostra. Uma curva analítica contendo 9,375; 18,75; 37,5; 75 e 150 ppm de epicatequina foi construída e os resultados expressos em mg epicatequina/g de pólen apícola.

2.6 Determinação de carotenóides totais

2.6.1 Extração de carotenóides

Foi utilizada 1,5 g de amostra triturada. A análise foi realizada em triplicata segundo a metodologia de Rodriguez-Amaya (1976). Os carotenóides foram extraídos por maceração com acetona gelada e hiflosupercel, seguida por filtração a vácuo em funil sinterizado. Este procedimento foi repetido até que os pigmentos foram extraídos completamente, em seguida foi feita partição com éter de petróleo para se obter o extrato. O extrato foi concentrado em evaporador rotativo a temperatura de 35°C e transferido para um balão volumétrico.

Absorbância e cálculos

A análise de carotenóides totais foi realizada na região do UV-VIS, utilizando-se um espectrofotômetro UV/VIS digital marca PERKINELMER, modelo U-2001 e quantificados segundo a Lei de Beer no comprimento de maior absorção. As análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Aplicada e Laboratório de Pescados – LAPESCA do Departamento de Análises Bromatológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia.

Os cálculos de carotenóides totais foram realizados conforme a Equação 1. Para a quantificação do teor de carotenóides totais, empregou-se a Lei de Beer, utilizando o valor de 2592 ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) como coeficiente de absorção proposta de Davies (1976).

$$\mu\text{g de carotenóides totais/g de amostra} = \frac{\text{Absorbância máxima} \times \text{vol. da solução} \times 10^4}{E^{1\%}_{1\text{cm}} \times \text{massa da amostra (g)}} \quad (\text{Equação 1})$$

2.8 Determinações da atividade antioxidante, através do sistema DPPH

A atividade antioxidante dos compostos presentes nos extratos de pólen foi determinada por meio da capacidade sequestrante do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com o método de Yen e Wu (1999), com modificações. Uma alíquota de 100 μL da solução do EEP foi colocada em um tubo de ensaio contendo 4 mL da solução etanólica do radical DPPH (0,5 mM). Os extratos etanólicos de pólen foram avaliados na concentração de 67 mg/mL. O decréscimo na absorbância em 517 nm foi determinado em espectrofotômetro (PERKIN ELMER - LAMBDA 20) após 30 min de reação para todas as amostras e padrões. O branco específico da amostra foi determinado usando DPPH 0,5 mM de cada concentração. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A porcentagem de atividade de sequestrante (%AA) foi determinada segundo a fórmula de Mensor et al., (2001):

$$\%AA = 100 - \left\{ \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco}) \times 100}{\text{Abs controle}} \right\} \quad (\text{Equação 2})$$

onde %AA: atividade antioxidante (%) e Abs: absorvância lida em 517 nm após 30 min de reação.

2.9 Análise Estatística

Neste estudo, foi utilizado Coeficiente de Correlação de Spearman para medir a correlação obtida por métodos não paramétricos. Este coeficiente considera o posto das observações e não os valores das variáveis, logo, a magnitude dos valores observados não tem relevância. Não foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Pearson porque este é indicado apenas quando os dados seguem distribuição normal bivariada. A correlação entre o teor de compostos fenólicos, flavonóides, a atividade antioxidante, carotenóides totais e tipos polínicos foi realizada utilizando o softwares R e SPSS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 34 amostras analisadas foram observados pólen de diferentes tipos polínicos, onde os tipos mais freqüentes foram *Mimosa pudica* (família Leguminosae-mimosoideae) que foi encontrado em 22 amostras com frequência variando de 9 a 95,6% e *Eucalyptus* (família Myrtaceae) que foi encontrada em 11 amostras com frequência variando de 14,2 a 99,2% (Apêndice A, B e C).

Os tipos polínicos de menor frequência foram: *Schinus*, *Ageratum*, *Emilia*, *Eupatorium*, *Trichogonia*, *Vernonia*, *Cecropia*, *Cróton*, *Mimosa caesalpinifolia*, *Mimosa pudica*, *Mimosa quadrivalves*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Piper*, *Paspalum*, *Ccocoloba*, *Richardia*, *Solano*, *Solano2*, *Angelonia* (Apêndice A, B e C).

3.1 Compostos fenólicos totais

O teor dos compostos fenólicos das amostras de pólen variou de 14,31 mg a 132,39 mg em GAE/g de pólen, com um teor médio de 44,28 mg \pm 0,64 mg GAE/g de pólen, usando uma curva padrão de ácido gálico ($R^2 = 0,9902$) (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides dos extratos de pólen apícola.

Amostras	<i>Mimosa pudica</i> (%)	<i>Eucalyptus</i> (%)	Compostos fenólicos (mg GAE*/g ± DP**)	Flavonóides totais (mg epicatequina/g ± DP)	DPPH***	Carotenóides
1	90,8		25,22±0,62	0,93±0,07	83,67±0,42	164,91±3,24
2	90,8		23,70±0,29	1,16±0,01	91,81±0,31	100,23±1,25
3	86,6		22,09±0,27	0,72±0,02	85,92±1,48	327,35±0,81
4	94		27,60±0,23	0,77±0,01	81,14±3,93	119,86±2,1
5	55		64,14±0,41	1,62±0,01	88,58±0,30	339,67±3,02
6	80,4		31,88±0,25	0,82±0,02	89,33±0,65	275,57±1,29
7	65,2		51,27±0,43	1,30±0,00	83,79±1,45	157,86± 3,67
8	40		30,79±0,37	0,78±0,03	85,50±1,84	764,37±4,25
9	49,4		38,53±0,17	1,35±0,00	87,86±0,13	188,08±4,03
10	58,2		33,57±0,66	0,97±0,01	80,14±0,66	31,16±0,69
11	9		57,34±0,33	1,99±0,01	89,33±0,20	218,73±5,13
12	27		60,51±0,17	1,78±0,00	91,33±0,05	302,61±4,23
13	54,8		22,19±0,19	0,78±0,08	89,22±0,57	50,28±0,23
14		87,6	45,99±0,50	1,62±0,01	90,73±1,13	22,03±0,58
15		95,6	27,06±0,58	2,50±0,01	90,19±0,57	13,67±1,02
16		93,4	27,58±1,29	2,03±0,03	92,47±0,14	31,20±1,35
17		95,8	85,03±1,28	1,81±0,05	91,58±0,90	22,35±1,67
18		95,8	65,17±0,59	1,99±0,09	88,22±0,53	22,36±0,42
19		99,2	91,38±1,09	2,49±0,09	83,18±0,32	30,20±0,86
20		99,2	132,38±0,70	2,20±0,12	87,40±0,54	22,09±0,58
21		60,6	54,59±1,35	2,20±0,05	90,66±0,19	3,01±1,04
22		93,2	72,96±1,69	2,05±0,01	88,69±0,72	34,55±1,85
23		94	117,51±1,04	2,03±0,13	93,21±0,70	35,55±1,65
24		14,2	26,48±0,20	1,55±0,12	78,96±0,87	46,08±0,12
25	*****		25,71±1,23	0,62±0,22	86,54±1,20	5,43±0,68
26	95,6		27,73±0,70	1,23±0,00	76,02±1,29	99,32±1,34
27	85,6		35,00±0,43	1,01±0,00	84,07±0,12	219,54 ± 4,03
28	88		35,10±0,54	1,36±0,02	75,85±13,6	205,36±0,48
29	50,75		37,80±0,37	0,99±0,18	86,82±1,03	157,52 ± 2,04
30	55,5		32,71±2,28	0,72±0,09	88,05±0,12	41,48±2,53
31	83,8		14,31±0,10	1,52±0,02	84,20±0,44	60,24±0,75
32	70,1		18,47±0,16	0,83±0,06	88,03±0,47	331,28±0,84
33	72		18,84±0,53	0,84±0,01	84,00±0,93	52,24± 1,62
34	82,8		24,81±0,77	0,79±0,02	37,94±1,80	18,16±1,54
Vmin	9,00	14,2	14,31	0,62	37,94	3,02
Vmax	95,6	99,2	132,39	2,51	93,21	764,37
MÉDIA ± DP	67,51	84,41	44,28 ± 0,65	1,40± 0,05	85,14±1,16	133,71±1,79
CV****	----	---	1,46	3,76	1,37	1,34

*GAE: equivalente em ácido gálico; **DP: Desvio padrão; ***2,2 difenil-1-picril-hidrazil, ****Coeficiente de variação, ***** amostra apresentou outro tipo polínico *Mimosa caesalpinifolia*.

Valor médio similar foi encontrado por Carpes (2008), para 36 amostras de pólen apícola desidratado de diferentes localidades da região sul do Brasil, com um teor médio de 30,77 mg em GAE/g de pólen, entretanto com uma variação menor (19,28 a 48,90 mg GAE/g de pólen), ressaltando a importância da localização geográfica na composição da matriz.

Os valores de compostos fenólicos encontrados nas matrizes do presente estudo correlação positiva com a família Myrtaceae ($r_s = 0,5481$) e correlação negativa com a família Leguminosae-mimosoideae ($r_s = -0,6601$) (Tabela 2). Esta correlação está relacionada aos tipos polínicos mais predominantes nestas amostras: a família Myrtaceae com predominância do tipo polínico *Eucalyptus* e a família Leguminosae-mimosoideae com predominância no tipo polínico *Mimosa pudica*.

Tabela 2. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais com a frequência dos tipos polínicos da família Asteraceae, Leguminosae (mimosoideae), Myrtaceae e Solanaceae ⁽¹⁾.

	Coefficiente	Asteraceae	Leguminosae (mimosoideae)	Myrtaceae	Solanaceae	outras
Compostos fenólicos	r_s	-0,0340	-0,6601	0,5481	0,2593	-0,2816
	P	0,85	0,00**	0,00**	0,14	0,11
Flavonóides	r_s	-0,1675	-0,7373	0,7817	0,0531	-0,4946
	P	0,34	0,00**	0,00**	0,77	0,00**
Carotenóides	r_s	0,4611	0,3643	-0,6312	0,4186	0,5013
	P	0,01**	0,03*	0,00**	0,01**	0,00**
Atividade antioxidante	r_s	-0,0348	0,4558	-0,2403	-0,1437	-0,0153
	P	0,84	0,01**	0,17	0,42	0,93

(1)N = 34; r_s : Coeficiente de Correlação de postos de Spearman; p: probabilidade associada ao teste. * e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade.

Os maiores valores de compostos fenólicos totais obtidos nas amostras analisadas (91,38; 132,39 e 117,51 mg GAE/g de pólen) apresentaram o predomínio do tipo polínico *Eucalyptus* (Tabela 1).

Foi constatado também, através Coeficiente de Correlação de Spearman, que existe associação linear positiva ($r_s = 0,5459$) entre o tipo polínico *Eucalyptus* e compostos fenólicos e uma associação linear negativa ($r_s = -0,5500$) entre *Mimosa pudica* e compostos fenólicos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides totais com a frequência dos tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus*⁽¹⁾.

	Coeficiente	<i>Mimosa pudica</i>	<i>Eucalyptus</i>
Compostos fenólicos	r _s	-0,5500	0,5459
	p	0,00**	0,00**
Flavonóides	r _s	-0,6247	0,7710
	p	0,00**	0,00**
Carotenóides	r _s	0,5350	-0,6095
	p	0,00**	0,00**
Atividade antioxidante	r _s	0,3831	-0,2286
	p	0,03*	0,19

(1)N = 34; r_s: Coeficiente de Correlação de postos de Spearman; p: probabilidade associada ao teste. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade.

Os resultados aqui apresentados estão em sintonia com antiga constatação de Herbert; Shimanuki (1978) que afirmava que o valor nutritivo do pólen varia especialmente em relação à espécie vegetal, entre outros parâmetros (condições ambientais, idade, estado nutricional da planta condições de secagem e tempo de armazenamento).

3.1.1 Flavonóides totais

Os teores de flavonóides totais expressos em mg epicatequina/g de pólen apícola variaram de 0,62 mg a 2,51 mg, com média de 1,40 em mg/g de pólen, quantificados através de uma curva padrão de epicatequina ($R^2 = 0,9998$). Assim como para os teores de compostos fenólicos, os maiores teores de flavonóides foram encontrados nas amostras provenientes do tipo polínico *Eucalyptus* (Tabela 1).

Os teores de flavonóides totais apresentaram correlação positiva com as famílias Myrtaceae, representada predominantemente pelo tipo polínico *Eucalyptus*; correlação negativa com Leguminosae-mimosoideae, representada predominantemente no tipo polínico *Mimosa pudica* e correlação negativa com outras origens botânicas e uma relação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) foi obtida entre compostos fenólicos e flavonóides totais ($r_s = 0,6461$) (Tabela 3 e 4).

Tabela 4. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e carotenóides ⁽¹⁾.

	Coefficiente	Compostos fenólicos	Flavonóides	Atividade antioxidante
Flavonóides	r _s	0,6461		
	p	0,00**		
Carotenóides	r _s	-0,1383	-0,3506	-0,0836
	p	0,44	0,04*	0,64
Atividade antioxidante	r _s	0,2932	0,3965	
	p	0,09	0,02*	

(1)N = 34; r_s: Coeficiente de Correlação de postos de Spearman; p: probabilidade associada ao teste. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade.

Leja et al. (2007) estudaram os constituintes fenólicos e a capacidade antioxidante do pólen apícola de 12 espécies diferentes da região da Krakow (Polônia). Neste estudo foi verificado que a contribuição dos flavonóides no teor de compostos fenólicos diferia consideravelmente em função da origem botânica, com variação de 170 mg 100 g⁻¹ nos pólen de *Lamium purpureum* a 1349 mg 100 g⁻¹ nos pólen de *Pyrus communis*.

Os valores de flavonóides das amostras analisadas foram menores das encontradas para matrizes oriundas de outras origens polínicas. Muitos autores relatam que esta diferença significativa no teor de flavonóides está relacionada com os tipos polínicos das amostras. Os resultados obtidos por Almaraz-Abarca, et al. (2007) demonstram que o pólen de *Prosopis juliflora* (Leguminosae) em Durango, México apresentou uma quantidade significativa de flavonóides (9.794 µgml⁻¹), podendo ser considerado como uma fonte natural de antioxidante.

3.2 Determinação de carotenóides totais

O teor de carotenóides totais variou de 3,02 µg/g a 764,37 µg/g, com uma média de 123,83µg/g, sendo que para o tipo polínico *Mimosa pudica* o intervalo foi de 18,16 µg/g a 764,37 µg/g com uma média de 244,71 ± 1,14 µg/g. Para o tipo polínico *Eucalyptus* o mínimo encontrado foi de 3,02 µg/g e o máximo de 54,08µg/g com uma média de 26,88 ± 0,45µg/g (Tabela 1).

Almeida-Muradian et al. (2005), em dez amostras de pólen fresco coletado por *Apis mellifera* verificaram que a média de carotenóides obtida foi de 76,33 µg/g de pólen. O total

de carotenóides apresentado por Muniategui et al. (1990) para amostras oriundas da Espanha variaram de 0,49 $\mu\text{g/g}$ - 242,6 $\mu\text{g/g}$ de pólen mg por carotenos/100 g.

Em outro estudo, Mello e Almeida-Muradian (2006) encontraram valores para pólen apícola desidratado que variaram de $3,4 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno a $77,88 \pm 5,01 \mu\text{g/g}$. No entanto, Almeida-Muradian et al. (2005) analisaram dez amostras de pólen apícola da Região Sul do Brasil e não encontraram β -caroteno nas amostras analisadas.

Os valores de carotenóides totais obtidos neste estudo apresentaram correlação positiva com as famílias Asteraceae ($r_s = 0,4611$), Leguminosae-mimosoideae ($r_s = 0,3643$) e Solanaceae ($r_s = 0,4186$) e correlação negativa com Myrtaceae ($r_s = -0,6312$) (Tabela 2).

Quando comparados os tipos polínicos *Eucalyptus* (família Myrtaceae) e *Mimosa pudica* (família Leguminosae-mimosoideae) constatou-se uma correlação negativa entre carotenóides totais e *Eucalyptus* e uma correlação positiva entre carotenóides totais e *Mimosa pudica* (Tabela 3). Portanto, assim como o tipo polínico *Eucalyptus* contribui para altos teores de compostos fenólicos e flavonóides do pólen, o tipo polínico *Mimosa pudica* contribui para altos teores de carotenóides totais.

Neste estudo foi observada a existência de uma associação linear negativa entre carotenóides e flavonóides (Tabela 4), comprovado pelo Coeficiente de Correlação de Spearman, em que $r_s = -0,3506$ ($p = 0,04$) (Tabela 3).

3.3 Atividade antioxidante

Neste estudo foi encontrado o mínimo de 37,94% de neutralização do radical DPPH na amostra que apresentou 82,8% de frequência do tipo polínico *Mimosa pudica* e um máximo de neutralização 93,21% na amostra que apresentou 99,2% de frequência do tipo polínico *Eucalyptus*, com uma média de $85,14\% \pm 1,17$ de neutralização do radical DPPH (Tabela 1).

Foi constatada correlação positiva entre atividade antioxidante e o teor de flavonóides totais ($r_s = 0,3965$). Esta correlação também foi encontrada por Leja et al. (2007) onde foi verificado que as amostras que apresentaram altos índices de constituintes fenólicos também apresentaram alta capacidade antioxidante. Porém em estudos realizados por Campos et al. (2003; 2002) não constataram correlação entre flavonóides e atividade antioxidante.

Neste estudo foi observado a existência de associação linear positiva entre DPPH e flavonóides (Tabela 3), comprovado pelo Coeficiente de Correlação de Spearman, em que $r_s=0,3965$ ($p = 0,02$).

Alguns autores relataram estudos correlacionando os tipos polínicos às características bromatológicas presentes no pólen. Modro et al. (2007) avaliaram a influência das composições florísticas locais sobre a qualidade do pólen apícola, em dois apiários de Minas Gerais e verificaram que as diferentes composições florísticas influenciam na qualidade do pólen apícola.

Leja et al. (2007) coletaram 20 amostras de pólen apícola proveniente de Krakow na Polônia e encontraram predominância de 12 espécies de plantas. Estes pesquisadores encontraram uma grande variedade quanto à atividade antioxidante nas amostras analisadas, variando de 8,6 - 91,5% de neutralização do radical DPPH. Os pólenes de *Lupinus polyphyllus*, *Phacelia tanacetifolia*, *Trifolium sp.*, *Sinapis alba*, *Robinia pseudoacacia* e *Aesculus hippocastanum* apresentaram a maior capacidade de neutralização do radical DPPH (61-91,3%); os pólen de *Zea mays*, *Chamerion angustifolium*, *Pyrus communis* apresentaram (23,5 - 29,6%) e baixa atividade (8,6 - 16%) nos pólen de *Lamium purpureum*, *Taraxacum officinale* e *Malus domestica*.

Carpes et al. (2008) encontraram atividade antioxidante nos extratos de pólen mensurada pelo método do DPPH que variou de 30,54 a 94,73%, com uma média de $73,44 \pm 21,10\%$. As variações observadas tiveram como justificativa as diferentes composições das plantas de origem do pólen coletado.

4. CONCLUSÕES

O teor dos compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante nas amostras de pólen foram maiores nas amostras com predomínio do tipo polínico *Eucalyptus* (família Myrtaceae). Quanto ao teor de carotenóides totais foi observado que as amostras com grande frequência para o tipo polínico *Eucalyptus* apresentaram baixos teores enquanto que para o tipo polínico *Mimosa pudica* (família Leguminosae-mimosoideae) os valores encontrados foram consideravelmente superiores.

Através dos resultados apresentados neste estudo, pode-se observar que o teor de compostos fenólicos, flavonóides, atividade antioxidante e carotenóides de pólen oriundo de Algoinhas-BA, sofrem influência quanto à origem botânica, entretanto são necessários estudos complementares para se conhecer o potencial de cada origem botânica. Os resultados deste estudo poderão servir de subsídios para outras pesquisas e contribuir com a agricultura familiar e de empresas produtoras de extratos bioativos, em relação ao tipo polínico de interesse.

5. REFERÊNCIAS

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

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

BARTH, O. M. **O Pólen no Mel Brasileiro**. Luxor: Rio de Janeiro, 151 p. 1989.

BARTH, O. M. Análise microscópica de algumas amostras de mel. Espectro polínico de algumas amostras de mel dos Estados da Bahia e do Ceará. **Revista Brasileira de Biologia**. v. 31, p. 431-434, 1971.

CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R. The unique occurrence of the flavone aglycone tricetin in myrtaceae pollen. **Zeitschrift fur Naturforschung**, C 57, p. 944–946, 2002

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

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

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Tipos polínicos coletados por *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 3, n. 56, p. 717-722, 1999.

CARVALHO, C. A. L. de; MORETI, A. C. de C. C; MARCHINI, L. C; ALVES, R. M. de O; OLIVEIRA, P. C. F. de. Pollen spectrum of honey of “Uruçu” bee (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 61, p.63-67, 2001.

DAVIES, B. H. Carotenoids, In: GOODWIN, T.W., Ed. 2. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. London: Academic Press, London. p. 38-65, 1976.

ERDTMAN, G. **The acetolysis method**. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, v. 39, p. 561-564, 1960.

GREENBERGER, P. A.; FLAIS, M. D. MICHAEL, J. M. D. Bee polleninduced anaphylactic reaction in an unknowingly sensitized subject. **Allergy, Asthma & Immunology**, v.86, n. 2, p. 239-242, 2001.

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

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

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

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

MELO, I. L. P. ; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Avaliação das vitaminas antioxidantes no pólen apícola desidratado. In: XI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP. XLI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica. XXI Seminário de Pós-Graduação. 14ª Reunião de Iniciação Científica, 2006, São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo: USP, 2006. v. 42. p. 55-55.

MENSOR, L. L.; MENEZER, F. S. LEITÃO, G. G.; REIS. A. S. SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

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

MONCADA, M.; SALAS, E. **Polen de las plantas melíferas em Cuba**. La Habana: Centro de Información y Divulgación Agropecuario, 1983. 65p.

MUNIATEGUI, S. Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, v. 29, n. 3, p. 147-150, 1990.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.; RAYMUNDO, L. C.; TUNG-CHING LEE; SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Annals of Botany**, v.40, p.615-624, 1976.

SHOSKES, D. A.; MANICKAM, K. Herbal and complimentary medicine in chronic prostatitis. **World Journal of Urology**, v. 21, n. 2, p. 109-113, 2003.

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

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SOMERVILLE, D. C.; NICOL, H. I. Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and note on laboratory disparity. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.46, p.141-149, 2006.

SOMERVILLE, D. C. Lipid content of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.45, p. 1659-1661, 2005.

YEN, G.; WU, J. Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. **Food Chemistry**, v. 65, p. 375-379, 1999.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

ZORBAS, Y. G.; KAKURIN, V. J.; CHARAPAHKIN, K. P.; YARULLIN, V. L.; MATVEDEV, S. N. Zinc Measurements During Hypokinesia and Zinc Supplementation in Determining Zinc Retention During Hypokinesia in Normal Subjects. **Nutrition Research**, v. 23, p. 869-78, 2003.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados apresentados ao longo deste estudo apontam para uma relação entre os tipos polínicos e a composição de compostos bioativos do pólen apícola. Esta informação implica na escolha do melhor flora apícola a fim de obter uma maior quantidade de determinados compostos bioativos. No entanto, ainda são necessários mais estudos de identificação de carotenóides e compostos fenólicos presentes no pólen apícola bem como sua atividade antioxidante em sistemas biológicos.

APENDICE

APENDICE A – Percentual dos tipos polínicos observados nas amostras de pólen apícola.

Imagem ¹	Tipos polínicos	Amostras de pólen apícola (%)																
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Anacardiaceae <i>Schinus</i>											15						
2	Asteraceae <i>Ageratum</i>								10				8					
3	Asteraceae <i>Emilia</i>									5		18,6	6,8	19,8				
4	Asteraceae <i>Eupatorium</i>																	
5	Asteraceae <i>Trichogonia</i>								5,4			6,6						
6	Asteraceae <i>Vernonia</i>										7							
7	Capparaceae <i>Cecropia</i>										7,8							
8	Euphorbiaceae <i>Croton</i>						5,8											
9	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa caesalpinifolia</i>							10										
10	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa pudica</i>	90,8	90,8	86,6	94	55	80,4	65,2	40	49,4	58,2	9	27	54,8				
11	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa quadrivalves</i>													6,4				
12	Myrtaceae <i>Eucalyptus</i>														87,6	95,6	93,4	95,8
13	Myrtaceae <i>Eugenia</i>																	
14	Piperaceae <i>Piper</i>																	
15	Poaceae <i>Paspalum</i>																	
16	Polygonaceae <i>Coccoloba</i>											5,2						
17	Rubiaceae <i>Richardia</i>									9								
18	Rubiaceae <i>Solano</i>					29			16,8	15,6		24,6	21,8					
19	Rubiaceae <i>Solano2</i>										5,2		12,2					
20	Scrophulariaceae <i>Angelonia</i>									5,6								
21	Outra Origem Botânica	9,2	9,2	13,4	6	16	13,8	24,8	27,8	15,4	21,8	21	24,2	19	12,4	4,4	6,6	4,2

1. Imagens de microscopia ótica (Apêndice C);

APENDICE B – Percentual dos tipos polínicos observados nas amostras de pólen apícola (continuação).

Imagem ¹	Tipos polínicos	Amostras de pólen apícola (%)																		
		18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34		
1	Anacardiaceae <i>Schinus</i>																			
2	Asteraceae <i>Ageratum</i>										5,2	5,4								
3	Asteraceae <i>Emilia</i>																			
4	Asteraceae <i>Eupatorium</i>															8		8,8		
5	Asteraceae <i>Trichogonia</i>																			
6	Asteraceae <i>Vernonia</i>																			
7	Capparaceae <i>Cecropia</i>																8,6			
8	Euphorbiaceae <i>Croton</i>																			
9	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa caesalpinifolia</i>								70	94,4										
10	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa pudica</i>											95,6	85,6	88	50,7	55,5	83,8	70,1	72	82,8
11	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa quadrivalves</i>																			
12	Myrtaceae <i>Eucalyptus</i>	95,8	99,2	99,2	60,6	93,2	94	14,2												
13	Myrtaceae <i>Eugenia</i>				36,4															
14	Piperaceae <i>Piper</i>													39,1	20,6	6,2		22,2	6,6	
15	Poaceae <i>Paspalum</i>								7,8											
16	Polygonaceae <i>Coccoloba</i>																			
17	Rubiaceae <i>Richardia</i>																			
18	Rubiaceae <i>Solano</i>																			
19	Rubiaceae <i>Solano2</i>																			
20	Scrophulariaceae <i>Angelonia</i>																			
21	Outra Origem Botânica	4,2	0,8	0,8	3	6,8	6	8	5,6	4,4	9,2	6,6	10,1	23,9	10	13,3	5,8	1,8		

1. Imagens de microscopia ótica (Apêndice C);

Apêndice C – Fotos de microscopia ótica

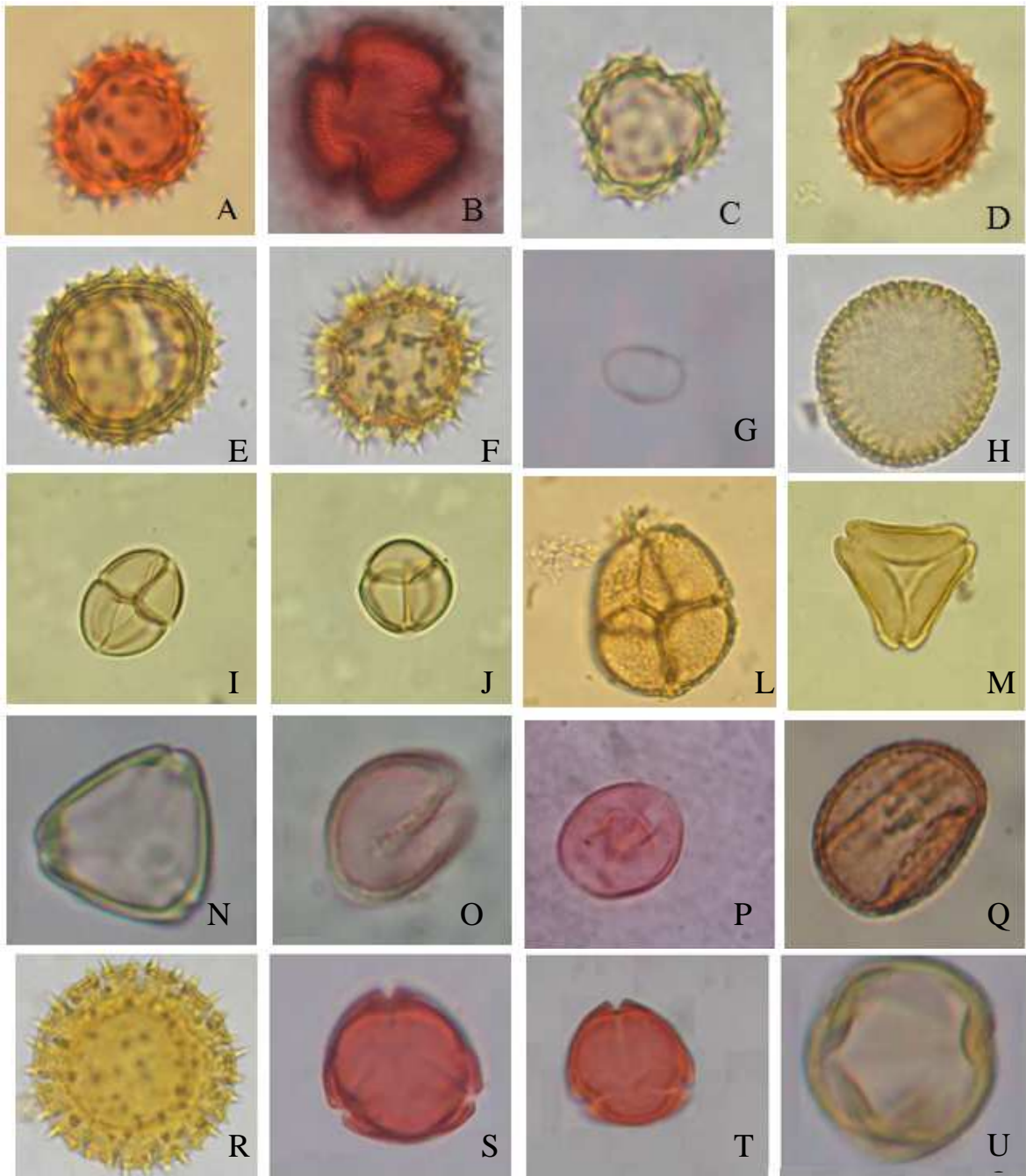


Figura 2. Principais tipos polínicos encontrados nas amostras no pólen apícola do apiário do Campus II UNEB/Alagoinhas, de 2007 a 2008: A- *Schinus* (Anacardiaceae); B- *Ageratum* (Asteraceae); C- *Emilia* (Asteraceae); D- *Eupatorium*(Asteraceae); E- *Trichogonia* (Asteraceae); F- *Vernonia* (Asteraceae); G- *Cecropia* (Capparaceae); H- *Croton* (Euphorbiaceae); I- *Mimosa caesalpinifolia* (Leguminosae-Mimosoideae); J- *Mimosa pudica* (Leguminosae-Mimosoideae); L- *Mimosa quadrivalves* (Leguminosae-Mimosoideae); M - *Eucalyptus* (Myrtaceae); N- *Eugenia* (Myrtaceae); O - *Piper* (Piperaceae); P- *Paspalum* (Poaceae); Q- *Coccoloba* (Polygonaceae); R- *Richardia* (Rubiaceae); S- *Solano* (Rubiaceae); T- *Solano2* (Rubiaceae); U- Scrophulariaceae *Angeloni*. (Aumento de 1.000X).