



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO



***PÓLEN APÍCOLA DO ESTADO DE ALAGOAS:
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ORIGEM BOTÂNICA
E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE***

Maria Raphaella dos Santos Vasconcelos

Maceió, Abril de 2009.

Maria Raphaella dos Santos Vasconcelos

***PÓLEN APÍCOLA DO ESTADO DE ALAGOAS:
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ORIGEM BOTÂNICA
E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE***

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito preliminar à obtenção do título de Mestre em Nutrição – área de concentração: Análise de Alimentos e Segurança Alimentar.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Queijeiro
López

Maceió, Abril de 2009.

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- V329p Vasconcelos, Maria Raphaella dos Santos.
Pólen apícola do estado de Alagoas : composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante / Maria Raphaella dos Santos Vasconcelos, 2009. 102 f. : il.
- Orientadora: Ana Maria Queijeiro López.
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2009.
- Bibliografia: f. 62-72.
Apêndices: f. [73]-102.
1. Pólen apícola. 2. *Apis mellifera*. 3. Características físico-químicas. 4. Atividade antioxidante. 5. Apicultura. 6. Atividade antimicrobiana. I. Título.

CDU: 595.799



MESTRADO EM NUTRIÇÃO
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas



Campus A. C. Simões
BR 104 Km 14 Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/ fax: 81 3214-1160

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

“PÓLEN APÍCOLA DO ESTADO DE ALAGOAS: COMPOSIÇÃO FÍSICO-
QUÍMICA, ORIGEM BOTÂNICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE”

por

MARIA RAPHAELLA DOS SANTOS VASCONCELOS

A Banca Examinadora, reunida aos 29 dias do mês de abril do ano de
2009, considera a candidata **APROVADA**.

Profa. Dra. ANA MARIA QUEIJEIRO LÓPEZ- Orientadora
Instituto de Química e Biotecnologia-IQB
Universidade Federal de Alagoas

Prof. Dr. LAURÍCIO ENDRES
Centro de Ciências Agrárias
Universidade Federal de Alagoas

Profa. Dra. Giselda Macena Lira
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

*“Um novo dia já nasceu,
É bom sentir os pés no chão,
E saber que ainda Estás aqui!
Com minhas mãos eu toco o céu
Enquanto elevo o coração
E posso dizer: Sou livre sim!”*

(Logo após o temporal – Rosa de Saron)

*A DEUS, aos meus pais Valmir e Luiza,
às minhas irmãs Aline, Mariana e Camila
e aos meus sobrinhos, Carlosman
Henrique, Ana Elise, Maria Izabella e
João Gabriel,*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alagoas pela estrutura que, mesmo limitada, permitiu a execução deste trabalho;

Ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB), pelo apoio financeiro de material de consumo e permanente ao LBPMA (Laboratório de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental);

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas (FAPEAL), pela concessão de bolsa EAP e pelas bolsas de outras modalidades para a equipe executora deste projeto;

À Fundação Oswaldo Cruz por ceder a cepa bacteriana de Helicobacter pylori;

À Profa Dra. Ana Maria Queijeiro López, educadora nata, por aceitar o desafio desta pesquisa, pelo acolhimento da minha orientação, pela paciência, pela dedicação e zelo na minha formação, e por tudo que me ensinou durante este tempo em que estive sob sua tutela, no tocante à formação acadêmica, profissional e pessoal; por ter cedido com generosidade o LBPMA, localizado no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), para execução do presente trabalho. Minha gratidão, sempre!

Ao Prof. Sílvio Chagas, do Departamento de Computação, pela essencial contribuição nas análises estatísticas deste trabalho; pela sua disponibilidade, dedicação e atenção.

À Profa. Ana Cristina de Lima Normande, da Faculdade de Nutrição, pelo incentivo e por ceder as cepas de Staphylococcus aureus, Salmonella Typhimurium e Escherichia coli para os testes antibacterianos;

À Rosângela Pereira, do Instituto do Meio Ambiente (IMA), pela ajuda na confirmação das espécies vegetais;

Aos apicultores Pedro Acioly de Souza, Ronald Coutinho e Lucas Pereira Martins, pelas amostras quinzenais de pólen concedidas e pelo comprometimento com o trabalho;

Aos meus pais e irmãs, pela compreensão e apoio da escolha profissional que fiz; pela acolhida sempre calorosa na minha chegada, depois de privados de horas e, às vezes dias, da minha presença;

À minha mãe Luiza Santos e minha irmã Mariana Vasconcelos, em especial, pelo companheirismo, amizade e orações em todas as horas do árduo percurso até chegar aqui; elas foram fundamentais, por isso eu consegui chegar!

Aos meus familiares outros, pelo carinho, pela torcida e pelo apoio, sempre! Mesmo longe, os gestos de vocês me fortaleceram!

À querida amiga e advogada Eliana Beserra pela habilidade profissional que me ajudou a transpor uma das barreiras burocráticas e de justiça mais difíceis durante o curso;

Às amigas-irmãs Simone Montenegro, Rosângela Floresta, Laíse Lira e Thaynara Pires, pelos ombros que me emprestaram, pelo incentivo, pela força e pelas orações: com elas eu me sinto forte;

Ao Ministério Universidades Renovadas, minha segunda casa, pelos irmãos que encontrei que me ajudaram a caminhar unindo a fé e a razão, na vida acadêmica, nos últimos seis anos;

Ao amigo Alysson Wagner Fernandes Duarte, pelo convite ao conhecimento do mundo apícola; pelo companheirismo, pelo incentivo e pela força, sobretudo pela sua amizade verdadeira!

À colega de Laboratório Elane Pereira Gomes, que me auxiliou durante toda a execução do trabalho, pela sua presteza, zelo, atenção e generosidade; obrigada por dividir comigo as várias horas árduas de trabalho!

À colega Adriana Pereira Domarques de Menezes, que contribuiu na preparação das lâminas de pólen a fresco de algumas espécies vegetais, pelo seu companheirismo e seu bom humor que muito ajudou a tornar mais leve o fardo das análises;

Aos colegas de Laboratório Kelly Fernanda Seára e Natalino Perovano Filho, pela ajuda nas análises de lipídeos e no uso e ajustes dos equipamentos; obrigada!

E, especialmente... a Deus Pai Todo-poderoso, autor de toda vida, fonte dela, todo o meu louvor, meu amor, minha adoração e gratidão, por me haver concedido as graças necessárias para que eu pudesse chegar até aqui. Obrigada, Senhor, pois sem Ti, eu não conseguiria!

RESUMO

A apicultura é uma atividade mundialmente conhecida e, no Brasil, tem encontrado condições climáticas favoráveis para seu estabelecimento. Configura-se neste espaço o Estado de Alagoas, onde ainda é uma prática artesanal que requer dados oficiais sobre a qualidade de seus produtos para se tornar mais profissional. Dentre os seus produtos, o pólen apícola é o resultante da aglutinação do pólen floral com néctar e substâncias salivares das abelhas operárias, e desponta como alimento com propriedades terapêuticas, face à sua composição rica em proteínas, carboidratos, lipídios, sais minerais e vitaminas, além de compostos fenólicos e fatores de crescimento. No apiário, é a principal fonte de alimento e proteção das larvas de abelhas. Como alimento humano, o pólen apícola requer monitoramento de sua qualidade físico-química e microbiológica, segundo limites estabelecidos pela legislação sanitária, para sua comercialização. Neste trabalho, portanto, efetuou-se a avaliação da origem floral e da qualidade físico-química, bem como possível atividade antioxidante e antimicrobiana do pólen apícola de três apiários experimentais de municípios representativos das mesorregiões do Sertão, Zona da Mata e Litoral do Estado de Alagoas, na estação seca de 2008/09. Os dados físico-químicos foram submetidos aos testes de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk* e, em seguida, ao teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*. O espectro polínico se mostrou mais abundante na Zona da Mata, sendo identificadas 28 espécies vegetais no pólen apícola dessa região, 36 % do estrato herbáceo e 64 % dos estratos arbustivo e arbóreo. No espectro polínico do Litoral e do Sertão identificaram-se como predominantes respectivamente os estratos arbustivo e arbóreo, sendo a amostragem do Sertão em geral monofloral. Os conteúdos de proteínas, glicídeos e lipídeos totais, foram mensurados respectivamente pelos métodos de Lowry, Antrona e Bligh & Dyer. Os teores de glicídios totais do pólen apícola de distintas mesorregiões não diferiram significativamente entre si. As médias do conteúdo de lipídios e de fenóis totais no pólen apícola do Sertão foram as maiores dentre as três mesorregiões (respectivamente 4,92-7,74 % e 16,22-46,25 eq. mg ác. gálico.g⁻¹). O conteúdo total de flavonóides oscilou bastante, mas também foi superior nas amostras do Sertão (45,62 ± 32,19 eq. mg quercetina.g⁻¹), embora próximo ao das amostragens da Zona da Mata (41,22 ± 21,95 eq. mg quercetina.g⁻¹). O potencial antioxidante das amostras de pólen apícola do Sertão foi bem superior ao das demais amostras, variando de 53,22-250,19 eq. mg ác. gálico.g⁻¹. As amostras de pólen apícola provenientes do Litoral foram as que apresentaram maior teor em proteínas (1,21-3,32 eq. mg ASB.mL⁻¹) e menor conteúdo antioxidante (10,0-103,22 eq. mg ác. gálico.g⁻¹), embora do ponto de vista qualitativo todas as amostras apresentaram, praticamente, as mesmas substâncias, ainda que em quantidades diferentes. Não se constatou atividade contra os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* na concentração testada dos extratos de pólen apícola da estação seca (2008/09) de todas as mesorregiões estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: pólen apícola, Apicultura, *Apis mellifera*, características físico-químicas, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Beekeeping is an activity known worldwide. In Brazil, it has found favorable conditions for its establishment. In the State of Alagoas, where it is still a practicing of beekeeping craft, require official data on the quality of their products to become more professional. Among the bee products, bee pollen resulting from the agglutination of flower pollen and nectar with salivary substances, emerge as food for worker-bees, with therapeutic properties given its composition. It is rich in protein, carbohydrates, lipids, minerals and vitamins, phenols and growth factors. In apiaries, bee pollen is the main source of food and protection for the larvae of bees. As human food, it requires for marketing monitoring of its physico-chemical and microbiological quality, with limits established by the health legislation. In this work, it was assessed the floral origin and the physico-chemical, and possible antioxidant and antimicrobial activity, of bee pollen from three experimental apiaries representative of the mesoregions of “Zona da Mata”, Backlands and Seaside of Alagoas State, in the dry season of 2008/09. Physico-chemical data were submitted to tests of normality of *Kolmogorov-Smirnov* and *Shapiro-Wilk*, and then the non-parametric test of *Kruskal-Wallis*. The pollen spectrum was more abundant in the “Zona da Mata” region, where 28 plant species were represented in the bee pollen - 36% of the herbaceous layer and 64% of shrub and tree strata. In the bee pollen of the Seaside and Backlands predominated, respectively, tree and shrub strata, with sampling generally monofloral in the Backlands. The total contents of protein, glucose and lipids were measured respectively by the methods of Lowry, Antrona and Bligh & Dyer. The levels of total carbohydrates did not differ significantly between the bee pollen of the different mesoregions studied. The average content of total lipids and phenols in the bee pollen of the Backlands were the largest among the three mesoregions (respectively, 4.92-7.74% and 16.22-46.25 eq. mg Ac. Galic.g⁻¹). The total content of flavonoids varied considerably, but was higher in samples of Backlands (45.62 ± 32.19 eq. quercetine.g mg⁻¹), although near the sampling of the “Zona da Mata” (41.22 ± 21.95 eq. quercetine.g mg⁻¹). The antioxidant potential of samples of bee pollen of Backlands was much higher than that of other samples of other mesoregions, ranging from 53.22 to 250.19 eq. mg ac. galic.g⁻¹. The samples of bee pollen from the Seaside were the ones that showed higher protein content (1.21-3.32 eq. mg BSA.mL⁻¹) and lower antioxidant content (10.0-103.22 eq. mg ac. galic.g⁻¹), although in the qualitative point of view all the samples had similar flavonoid substances. The tested did not show activity against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* concentrations of the extracts of bee pollen of the dry season (2008/09) from all mesoregions studied.

KEYWORDS: bee pollen, beekeeping, *Apis mellifera*, physico-chemical characteristics, antioxidant activity, antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Coletores para produção de pólen apícola. A) Frontal (utilizado no trabalho); B) Plástico; C) Intermediário interno; D) Tropical africanizado-baiano. Fonte: BARRETO (2004).....	05
FIGURA 2. Flor de <i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC sendo visitada por abelhas africanizadas (<i>Apis mellifera</i>), no apiário Fazenda Borboleta, localizado em Batalha, no Sertão do Estado de Alagoas.....	11
FIGURA 3. Estrutura do fenol (sinonímia: ácido carbólico, ácido fênico, hidroxibenzeno, ou hidroxifenil), o mais simples dos compostos fenólicos.....	13
FIGURA 4. Exemplos de ácidos fenólicos presentes em mel, pólen, própolis e geléia real.....	14
FIGURA 5. Estrutura química típica dos flavonóides [composta por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C)]; b) alguns flavonóides agliconas.....	15
FIGURA 6. Algumas classes de flavonóides encontrados em produtos apícolas.....	16
FIGURA 7. Mapa dos municípios do Estado de Alagoas (em preto), nos quais o estudo foi realizado.....	24
FIGURA 8. Apiário experimental “Princesa das Matas”, localizado no município de Viçosa - mesorregião da Zona da Mata do Estado de Alagoas.....	24
FIGURA 9. Apiário experimental “Fazenda Borboleta”, localizado no município de Batalha - no Sertão do Estado de Alagoas.....	25
FIGURA 10. Apiário experimental “Cavalo Russo”, localizado no município de Barra de São Miguel - mesorregião litorânea do Estado de Alagoas.....	25
FIGURA 11. Esquema da área de vegetação avaliada ao redor do apiário experimental (500 metros ao Norte, ao Sul, a Leste e a Oeste), sendo a coleta das plantas efetuadas utilizando-se um quadrante a cada 20 metros dessas linhas de direção (faces anteriores e posteriores, à esquerda e à direita de cada ponto demarcado).....	26
FIGURA 12. Coletores associados às caixas de criação racional de abelhas (tipo Langstroth).....	27
FIGURA 13. Coletor de pólen utilizado (trampa + gaveta).....	27

FIGURA 14. Coleta de botão floral no apiário Fazenda Borboleta, no Sertão do Estado.....	28
FIGURA 15. Dados climatológicos de médias de precipitação observada e histórica acumulada, nos meses de Janeiro a Dezembro de 2008, nas mesorregiões do Estado de Alagoas: Sertão (S); Sertão do São Francisco (SSF); Agreste (A); Baixo São Francisco (BSF); Zona da Mata (ZM); e Litoral (L). Fonte: SRHMA – AL, 2009.....	36
FIGURA 16. Médias de produção diária de pólen apícola nos apiários das mesorregiões do Litoral, Sertão e Zona da Mata, na estação seca de 2008/09.....	37
FIGURA 17. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colméias de <i>Apis mellifera</i> do apiário “Princesa das Matas”, na mesorregião da Zona da Mata do Estado.....	38
FIGURA 18. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colméias de <i>Apis mellifera</i> do apiário “Cavalo Russo”, na mesorregião litorânea do Estado.....	40
FIGURA 19. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colméias de <i>Apis mellifera</i> do apiário “Fazenda Borboleta”, na mesorregião sertaneja do Estado.....	41
FIGURA 20. Conteúdo de fenóis totais das amostras de polens das mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral alagoano.....	49
FIGURA 21. Conteúdo de flavonóides totais de amostras de polens das mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral alagoano.....	50
FIGURA 22. Perfil de compostos fenólicos de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP) em CCD. Placa revelada com Folin-Ciocalteu (1:10).....	56
FIGURA 23. Perfil de compostos antioxidantes de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP) em CCD. Placa revelada com cloreto férrico 2% (FeCl ₃).....	57
FIGURA 24. Perfil de flavonóides de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP) em CCD. Placa revelada com cloreto de alumínio (AlCl ₃).....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Estados brasileiros produtores de pólen apícola, período de produção, produção mensal em Kg por colméia e tipo de comercialização efetuada por cada Estado.....	06
TABELA 2. Número de colméias utilizadas na produção de pólen nos Estados brasileiros no ano de 2005.....	07
TABELA 3. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos de controle de qualidade de pólen apícola.....	12
TABELA 4. Municípios de coleta das amostras de polens (com códigos) de abelhas africanizadas, temperatura e índice pluviométrico dos mesmos na estação seca de 2008/09.....	35
TABELA 5. Média da precipitação diária (outubro a fevereiro) das mesorregiões do Litoral (L), Sertão (S) e Zona da Mata (ZM) nos meses de outubro/2008 a fevereiro/2009.....	35
TABELA 6. Espécies fornecedoras de pólen apícola, suas respectivas famílias, nomes populares e exsiccatas, nas mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L).....	42
TABELA 7. Teste de Normalidade de <i>Kolmogorov-Smirnov</i> e <i>Shapiro-Wilk</i> , para as médias dos parâmetros físico-químicos avaliados em amostras de pólen apícola de abelhas africanizadas do Estado de Alagoas na estação seca de 2008/09.....	43
TABELA 8. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> para verificar se há diferença significativa entre as amostras de pólen apícola de diferentes regiões do Estado de Alagoas, analisadas dentro de cada parâmetro (estação seca de 2008/09).....	44
TABELA 9. <i>Ranking</i> (1-3) comparativo das médias estatisticamente diferentes entre si para cada parâmetro físico-químico entre pólen apícolas de diferentes mesorregiões do Estado de Alagoas (estação de seca 2008/09), segundo teste não paramétrico de <i>Kruskal Wallis</i> . Grupos de pólen apícola com números iguais a 1 não foram diferentes entre si, e a partir desse, as médias foram diferentes em ordem crescente.....	44
TABELA 10. Coeficiente de correlação de <i>Spearman</i> entre os parâmetros físico-químicos de pólen apícola dentro de cada mesorregião (Zona da Mata, Sertão e Litoral) do Estado de Alagoas, durante a estação de seca 2008/09.....	45
TABELA 11. Coeficiente de correlação de <i>Spearman</i> entre os parâmetros avaliados em pólen apícola das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Litoral (L) e Sertão (S).....	46

TABELA 12. Conteúdo de proteínas, glicídeos e lipídeos totais de amostras de pólen das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L) do Estado de Alagoas (estação seca de 2008/09).....	47
TABELA 13. Conteúdo de fenóis, flavonóides totais e atividade antioxidante (métodos FRAP e DPPH) de amostras de pólen das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L) do Estado de Alagoas (estação seca de 2008/09).....	51
TABELA 14. Perfil Cromatográfico (CCD) , com respectivos fatores de retenção (RFs) de bandas reveladas por soluções específicas para compostos fenólicos, flavonóides e antioxidantes.....	55
TABELA 15. Teste de sensibilidade de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Helicobacter pylori</i> aos extratos hidro-etanólicos de pólen das mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral alagoano. (Médias \pm desvio padrão).....	58

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS:

AA – Ácido Ascórbico

ABS – Albumina de Soro Bovino

AG – Ácido Gálico

AlCl₃ – Cloreto de Alumínio

AN – Agar Nutriente

CBA – Confederação Brasileira de Apicultura

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CE – Cria Ensacada

CEB – Cria Ensacada Brasileira

Cel.mL⁻¹ – Células por Mililitro

CG – Cria Giz

CP – Cria Pedra

CPE – Cria Pútrida Européia

CPA – Cria Pútrida Americana

DPPH – 2,4 difenil, 1 - picrilidrazil

EEP – Extrato Hidroetanólico de Pólen

EtOH – Etanol

Eq. mg.g⁻¹ - Equivalente Miligrama por Grama

FeCl₃ – Cloreto Férrico

FRAP – Poder Antioxidante Redutor do Ferro

g - Grama

EAG/g⁻¹ – equivalente em ácido gálico por grama de pólen apícola

GT – Glicídios Totais

H₂O – Água

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio

IHC – *International Honey Commission*

IQB – Instituto de Química e Biotecnologia

K₃Fe(CN)₆ – Ferricianeto de Potássio

Kcal.g⁻¹ – Quilocaloria por Grama

Kg – Quilograma

Km - Quilômetro

L – Litoral

LBPMA – Laboratório de Bioquímica do Parasitismo Vegetal e Microbiologia Ambiental

M - Molar

mEq.Kg⁻¹ – Miliequivalente por Kilograma

mg – Miligrama

mg.mL⁻¹ – Miligrama por Mililitro

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mM - Milimolar

N - Normalidade

NaNO₃ – Nitrato de Sódio

NaOH - Hidróxido de Sódio

Nm - Nanômetro

Q – Quercetina

R – Rutina

RF – Fator de retenção

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

S – Sertão

SBU – *Sac Brood Virus*

SD – Desvio Padrão

SP – Solução de Pólen

SRHMA – Secretaria de Recursos Hídricos e do Meio Ambiente

μL - Microlitro

μm - Micrômetro

ZM – Zona da Mata

SUMÁRIO

Resumo	vii
Abstract	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xi
Lista de siglas, abreviaturas e símbolos	xiii
1.0. Introdução	01
2.0. Objetivos	03
2.1. Geral.....	03
2.2. Específicos.....	03
3.0. Revisão da Literatura	04
3.1. Produção de pólen apícola no Brasil.....	04
3.2. Importância do conhecimento da flora apícola.....	08
3.3. O Pólen.....	09
3.4. Composição físico-química do pólen apícola.....	11
3.5. Compostos fenólicos, flavonóides e ação antioxidante.....	13
3.6. Atividade antibacteriana e qualidade microbiológica do pólen.....	18
4.0. Materiais e Métodos	24
4.1. Localização.....	24
4.2. Identificação e descrição da flora dos apiários.....	25
4.3. Montagem do núcleo.....	27
4.4. Coleta das amostras de pólen.....	27
4.5. Coleta dos botões florais.....	28
4.6. Preparo e análise das lâminas de pólen.....	28
4.6.1. Lâminas a fresco.....	28
4.6.2. Laminário de Referência.....	29
4.6.3. Lâminas compostas.....	29
4.7. Análises físico-químicas.....	29
4.7.1. Preparação dos Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP).....	29
4.7.2. Preparação das Soluções de Pólen (SP).....	30
4.7.3. Determinação de proteínas totais.....	30
4.7.4. Determinação de glicídeos totais.....	30
4.7.5. Determinação de lipídeos totais.....	31
4.7.6. Determinação do conteúdo de fenóis totais em EEP.....	31
4.7.7. Determinação do conteúdo de flavonóides totais em EEP.....	32
4.7.8. Determinação da capacidade antioxidante em EPP.....	32
4.7.9. Determinação do Potencial Antioxidante Redutor do Ferro (FRAP) em EEP.....	33
4.8. Atividade Antibacteriana.....	33
4.8.1. Preparação do inóculo.....	33
4.8.2. Antibiograma (difusão em disco).....	33
4.9. Análise qualitativa.....	34

4.9.1. Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	34
4.10. Análises Estatísticas.....	34
5.0. Resultados e Discussão.....	35
5.1. Características Climáticas das Regiões de Coleta.....	35
5.2. Produção de pólen apícola no Estado de Alagoas.....	36
5.3. Análise quantitativa e qualitativa de pólen.....	37
5.3.1. Apiário experimental da Zona da Mata (ZM).....	38
5.3.2. Apiário experimental do Litoral (L).....	40
5.3.3. Apiário experimental do Sertão (S).....	41
5.4. Parâmetros físico-químicos avaliados nas amostras de Pólen Apícola.....	43
5.4.1. Composição físico-química do pólen apícola.....	46
5.4.2. Determinação de fenóis, flavonóides totais e ação antioxidante.....	49
5.4.3. Análises Qualitativas em Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	54
5.5. Atividade Antibacteriana de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP).....	58
6.0. Conclusões e Perspectivas.....	60
7.0. Referências Bibliográficas.....	62
Apêndices.....	73

1.0 INTRODUÇÃO

A apicultura é uma das únicas atividades agropecuárias que preenche os requisitos da sustentabilidade (o econômico, o ambiental e o social), complementando a renda dos produtores rurais, garantindo a ocupação da mão-de-obra familiar e contribuindo de maneira efetiva para a conservação da flora nativa. No Nordeste, esta é uma das poucas atividades capaz de criar uma nova dinâmica de gestão de ocupação e renda, já que a região tem as condições climáticas como um dos principais aliados (SANTOS, KILL & ARAÚJO, 2006). Nesse contexto, o Estado de Alagoas apresenta condições favoráveis ao desenvolvimento da apicultura, em especial em suas mesorregiões da Zona da Mata, do Sertão e do Litoral.

Um dos produtos da apicultura é o pólen, cuja utilização vem sendo estimulada pelo mercado favorável ao consumo de produtos naturais complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos (BARRETO *et al.*, 2006). Para as abelhas, devido ao alto conteúdo protéico do pólen, este é o suprimento fundamental para o desenvolvimento de suas larvas, visto conter todos os aminoácidos essenciais, além dos minerais, vitaminas, enzimas, reguladores do crescimento, ácidos graxos [inclusive os essenciais, como os ácidos linolênico (ômega 3) e linoléico (ômega 6)] e demais ácidos orgânicos, flavonóides, lipídios, esteróis e glicídio (glicose, frutose, sacarose, trealose, isomaltose, maltose, rafinose, erlose, ramnose e melizitose) (BONVEHI & JORDÀ, 1997; BONVEHÍ, TORRENTÓ & LORENTE, 2001; ALMEIDA-MURADIAN, 2006; QIAN *et al.*, 2008).

Para os seres humanos, o pólen coletado pelas abelhas melíferas é considerado como uma fonte potencial de energia e proteínas, bem como carotenóides e vitaminas antioxidantes (A, C e E) ou não (do complexo B e D) (ALMEIDA-MURADIAN, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

Cada tipo de pólen apícola tem suas características específicas ligadas à sua espécie floral, e o conhecimento do valor nutricional desse produto, o qual varia segundo sua origem botânica e geográfica, sazonalidade e composição química do solo (FAYE, PIANCHUELO & MOLINELLI, 2002; CARPES, 2008), pode ser utilizado no controle de sua qualidade (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005). Porém, o seu controle também depende da limpeza, da secagem e do processo de armazenamento aplicados pelos apicultores com o objetivo de alcançar um longo período de estocagem (GONZÁLEZ *et al.*, 2005). O conteúdo de água determina a qualidade microbiológica do pólen apícola, bem como suas características organolépticas e sua vida de prateleira (BONVEHI & JORDÀ, 1997).

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.

Sendo o pólen apícola um alimento indispensável às abelhas e fonte nutricional importante para os seres humanos, faz-se necessário analisar suas características físico-químicas e identificar sua origem botânica em diferentes mesorregiões do Estado, favorecendo uma maior aceitação dos importadores desse produto alagoano.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Geral:

Avaliar a influência da origem botânica na qualidade físico-química de pólen apícola de diferentes mesorregiões do Estado de Alagoas, na estação seca, visando contribuir para o estabelecimento de padrões de qualidade deste produto no Estado.

2.2 Específicos:

2.2.1 Efetuar o levantamento das principais espécies vegetais fornecedoras de pólen que caracterizam, ao longo da estação seca, os três municípios da cadeia apícola alagoana, pertencentes às mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral;

2.2.2 Realizar análises quali-quantitativas dos tipos polínicos detectados nas amostras coletadas nos três diferentes municípios alagoanos selecionados da cadeia apícola da Zona da Mata, Sertão e Litoral, verificando sua prevalência no período de seca;

2.2.3 Caracterizar físico-quimicamente as amostras de pólen coletadas quinzenalmente no período de seca, nos três municípios alagoanos selecionados da cadeia apícola da Zona da Mata, Sertão e Litoral;

2.2.4 Determinar o conteúdo total de compostos fenólicos, entre eles os flavonóides, nas amostras de pólen coletadas;

2.2.5 Determinar a atividade antioxidante das amostras de polens coletadas;

2.2.6 Verificar a atividade antibacteriana dos extratos das amostras de pólen coletadas.

3.0 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Produção de pólen apícola no Brasil

A apicultura é uma atividade que gera diversos produtos, como o mel, a cera, a geléia real, a própolis e o pólen. Dentre estes, o pólen merece destaque, devido ao seu valor nutricional e às suas características terapêuticas (KROYER & HEGEDEUS, 2001; SILVA *et al.*, 2006; CARPES, *et al.*, 2007; 2008; LEE, KIM & SHOI, 2009).

A produção comercial de pólen apícola no Brasil iniciou-se no final da década de 80, expandindo-se a partir de então, graças ao mercado favorável ao consumo de produtos naturais complementares à dieta (BARRETO *et al.*, 2006).

Segundo a Confederação Brasileira de Apicultura (CBA), até 2004, a apicultura brasileira estava organizada em 16 Federações e Associações Apícolas, envolvendo os Estados do Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Tocantins, Pará, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, Paraíba e Ceará. Os Estados de Santa Catarina e Bahia, na época, eram destaques na produção brasileira de pólen apícola, sem qualquer produção notificada no Estado de Alagoas. Em 2004, o preço do pólen apícola no atacado sofreu variações entre R\$ 10,00 e R\$ 15,00 para o produto não processado, R\$ 15,00 a R\$ 40,00, para o pólen processado. No varejo essas oscilações foram de R\$ 40,00 a R\$ 150,00. Deste fato decorre a necessidade das Associações e da CBA desenvolverem programas que capacitem o produtor a contabilizar seus custos de produção, promovendo a formação de preços uniformes para as diversas vias de comercialização, bem como a atualização de seus dados de produção (BARRETO *et al.*, 2006).

Ainda não existem estudos aprofundados da qualidade físico-química e microbiológica deste produto. Em todas as regiões, especialmente no Estado de Alagoas, as pesquisas neste setor visam encontrar a melhor técnica de produção, alicerçada nas reais condições da apicultura tropical, na escolha dos equipamentos apropriados para a situação do apiário e para a sua coleta, no manejo adequado, no reconhecimento da flora polinífera e no conhecimento do comportamento de coleta pelas abelhas africanizadas (BARRETO *et al.*, 2006). A Figura 1 mostra alguns tipos de coletores utilizados para a produção de pólen apícola.



FIGURA 1. Coletores para produção de pólen apícola. A) Frontal (utilizado no trabalho); B) Plástico; C) Intermediário interno; D) Tropical africanizado-baiano. Fonte: BARRETO (2004)

Em sua maioria, os Estados brasileiros (Tabelas 1 e 2) produzem pólen apícola para abastecimento próprio; Santa Catarina, porém, além de exportá-lo para todos os demais locais do Brasil, também o faz para a Colômbia e o Uruguai. Segundo BARRETO *et al.* (2006), a coleta de pólen é uma renda suplementar na atividade apícola e tem apresentado aumento de 21% na renda bruta dos apicultores, com um lucro de 40,6 %, taxa raramente detectada na atividade agrícola, o que viabiliza economicamente sua produção.

TABELA 1. Estados brasileiros produtores de pólen apícola, período de produção, produção mensal em Kg por colméia e tipo de comercialização efetuada por cada Estado.

ESTADOS	PERÍODO DE PRODUÇÃO	PRODUÇÃO (Kg) MENSAL/COLMÉIA	PREÇO DE VENDA (R\$)		TIPO DE COMERCIALIZAÇÃO
			ATACADO	VAREJO	
Rio Grande do Sul	Setembro a Abril	0,9 a 2,0	25,00 a 35,00	40,00 a 50,00	Interna
Santa Catarina	Agosto a Abril	0,930 a 4,0	25,00 a 40,00	30,00 a 40,00	Interna, para outros estados e exportação para Colômbia e Urugai
Paraná	Agosto a março	1,2 a 1,9	25,00	40,00	Outros Estados
São Paulo	Janeiro a Maio Setembro a Dezembro	2,0 a 3,5	25,00 a 35,00	100,00 a 150,00	Interna
Minas Gerais	Março a Abril	2,0 a 3,0	*	120,00	Interna
Tocantins	Junho a Agosto	-	*	*	Importa de outros Estados
Distrito Federal	Maio a Outubro	1,8	*	90,00	Interna
Sergipe	Janeiro a Maio	1,0	20,00	*	Interna e para outros Estados
Bahia	Agosto a Dezembro Janeiro a Dezembro	2,0 a 4,0 30,0 a 48,00	15,00 a 30,00	*	Interna

FONTE: BARRETO *et al.*, (2006). (*) Dados não informados.

TABELA 2. Número de colméias utilizadas na produção de pólen nos Estados brasileiros no ano de 2005.

ESTADOS	Nº DE COLMÉIAS	Nº DE APICULTORES
Rio Grande do Sul	70	2
Santa Catarina*	480	15
Paraná	300	2
São Paulo	90	3
Minas Gerais	60	6
Tocantins	15	1
Distrito Federal	42	1
Sergipe	80	2
Bahia*	600	10
Total	1737	41

FONTE: BARRETO *et al.*, 2006. *Estados brasileiros expoentes na produção.

Conforme suas condições edafoclimáticas, o Estado de Alagoas é dividido em três principais regiões: litoral, agreste e sertão. No litoral, a vegetação é composta por mangues, coqueirais e pelo cultivo da cana-de-açúcar. Essa região possui clima tropical e chuvas regulares. Na região do agreste, a temperatura pode chegar a 38°C, há regularidade de chuvas, e ocorrem áreas de preservação de mata Atlântica, assim como matas ciliares. Na região do sertão, as chuvas são escassas e a temperatura pode chegar a 39°C, com o predomínio da vegetação de Caatinga (BRASIL ESCOLA, 2009). Segundo Lima (1995), em estudo realizado em apiário comercial do semi-árido cearense, a caatinga possui espécies vegetais capazes de suprir as necessidades de pólen das abelhas, evidenciando o potencial exploratório dessa região do estado para esta atividade apícola.

3.2 Importância do conhecimento da flora apícola

A região Nordeste ocupa um quinto do território nacional (1 600.000 km²) sendo que 60% encontram-se no polígono das secas, região semi-árida de baixa precipitação

pluviométrica. A vegetação nesta área é caracterizada, primordialmente, pela completa caducifolia da maior parte de seus componentes, e tem como traço comum a deficiência hídrica durante a maior parte do ano, a profundidade do solo, as discontinuidades litológicas nos perfis, a salinidade, o relevo e a constituição mineralógica das formações superficiais (SILVA *et al.*, 2008).

A flora apícola de uma região é composta de espécies com diferentes graus de importância, os quais variam conforme o número de plantas existentes e a concentração de glicídios no néctar, por exemplo. O estudo dessa flora é importante, pois fornece subsídios para formação de uma proposta técnica de manejo (SANTOS, KIILL & ARAÚJO, 2006).

O conhecimento detalhado das plantas visitadas por abelhas, de sua abundância e períodos de florescimento e de sua atratividade para abelhas melíferas, indica aos apicultores as fontes adequadas para o suprimento de néctar e pólen das abelhas, além de caracterizá-lo e determinar suas origens botânicas e geográficas (MELO *et al.*, 2008; FOHOOU, DJONWANGWE & BÜCKNER, 2008; MORETTI *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008), sendo de fundamental importância para desenvolvimento e sustentabilidade da apicultura (SALIS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008).

Todas as plantas essencialmente nectaríferas produzem muito néctar e pouco pólen. Portanto, são sub-representadas nos espectros polínicos. Entre as poliníferas, isto é, plantas que produzem muito pólen e relativamente pouco néctar, super-representadas nos espectros polínicos, ocorrem diversas espécies do gênero *Mimosa*. Entre os tipos polínicos mais frequentemente encontrados em amostras de mel encontram-se os gêneros *Eucalyptus*, *Citrus* e as famílias *Mimosaceae* e *Asteraceae* (Compositae) (BARTH-SCHATZMAYR, 2000).

A análise polínica conduz ao reconhecimento das plantas apícolas utilizadas pelas abelhas. A identificação destas pode indicar as fontes adequadas de néctar e pólen, maximizando o seu aproveitamento em áreas de vegetação natural (ARRUDA, 2003).

A cada espécie vegetal corresponde um tipo de pólen, podendo-se dizer que o mesmo é um “cartão de identidade” da planta considerada (FUNARI, 2003), e os tipos polínicos podem variar conforme a região ou época do ano em que estes são ofertados (MODRO *et al.*, 2007). Assim, conhecendo a diversidade de plantas nectaríferas e poliníferas de cada região, a época de sua floração, e seu valor relativo como fonte de néctar e pólen, aumenta-se a produção apícola de forma sustentável (FAYE, PIANCHUELO & MOLINELLI, 2002).

O tipo de fonte a ser coletado (néctar ou pólen) na atividade de forrageamento das abelhas pode estar relacionado com a disponibilidade do mesmo em cada planta, bem como do genótipo de cada abelha. Além disso, uma determinada espécie de planta pode apresentar características diferenciadas no fornecimento de recursos florais para as abelhas em função das condições edafo-climáticas. O inventário da flora apícola deve ser regional, uma vez que as espécies consideradas excelentes produtoras de néctar em uma região podem não o ser em outra (MODRO, 2006; CARVALHO & MARCHINI, 1999).

A região Nordeste, portanto, possui uma diversidade floral com potencial para exploração apícola.

3.3 O Pólen

Pequeno grânulo de dimensões microscópicas (cerca de 50 μm), o pólen é o gameta masculino indispensável para fecundar os óvulos, favorecendo a geração de sementes responsáveis pela perpetuação das espécies mais evoluídas do sistema biológico vegetal. Este é produzido pelas anteras situadas no final extremo dos estames, que é o órgão sexual masculino das flores (RAVEN, 2001; BALDÍ-CORONEL *et al.*, 2004).

A palavra pólen (em inglês, *pollen*) foi usada pela primeira vez por John Ray, considerado o pai da história natural inglesa, em 1686. No entanto, o termo pão de abelhas persiste em muitas literaturas (CRANE, 2004).

Durante suas viagens de coleta, as abelhas operárias, com a ajuda de muitos pentes e pêlos espalhados por seus corpos, empacotam os grãos de pólen colhidos das flores, em forma de bolotas ou grânulos de pólen. O pólen é estocado dentro da colméia, separadamente das células contendo néctar. Para obter o pólen, o homem instala uma trampa na entrada da colméia, de forma que assim que as abelhas operárias retornam para a colméia, perdem suas bolotas de pólen para um recipiente nessas trampas (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005). A cor, forma e tamanho das cargas de pólen trazidas pelas abelhas dependem da espécie, da procedência e do tipo de néctar ou mel utilizado no processo de coleta (SÁ-OTERO *et al.*, 2002).

As abelhas são seletivas frente às espécies vegetais disponíveis, buscando qualidade e quantidade de recursos (SEELEY, 2006) para conseguir, uma maior eficiência de coleta numa determinada zona geográfica (RAMÍREZ & MONTENEGRO, 2004).

A preferência por uma determinada espécie vegetal depende das interações entre a

quantidade de glicídios do néctar, a quantidade de proteínas do pólen, as formas florais, e os compostos do metabolismo secundário como flavonóides e terpenos, e detergentes como alcalóides e taninos confirmam esta seletividade (RAMÍREZ & MONTENEGRO, 2004).

Os grãos de pólen são os mais importantes recursos de proteínas para a sobrevivência das abelhas, os quais também possuem lipídios, minerais e vitaminas de que dispõe uma colônia para alimentar suas larvas e para o desenvolvimento de abelhas que tenham emergido recentemente (BALDÍ CORONEL *et al.*, 2004). Entre outras funções, é responsável pelo desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas e de produção de cera, do tecido adiposo e dos ovários, além de ajudar na secreção da geléia real e no prolongamento da vida das abelhas adultas (FAYE, PIANCHUELO & MOLINELLI, 2002).

A importância do pólen para a colônia é inquestionável, e a quantidade de pólen apícola gerada, necessária para a alimentação das colméias, está diretamente ligada à produção de mel, cera e geléia real de um apiário (MARCHINI, REIS & MORETTI, 2006).

As abelhas manipulam o pólen desde a flor até ele ser armazenado dentro dos alvéolos dentro da colméia. Elas utilizam a língua e as mandíbulas para lambar e mordiscar as anteras das flores. Com isso, ocorre a adesão dos grãos de pólen em sua boca, umedecidos totalmente pela sua saliva. Das anteras, os grãos de pólen aderem-se aos pêlos das patas e do corpo, que logo são transferidos para as patas posteriores, especificamente para a tíbia. Quando uma abelha está carregada de pólen, ela volta para a colméia onde o deposita e retorna, sendo necessárias 1,3 milhões de viagens das abelhas operárias de uma colméia, em sítios de coleta de pólen, para abastecer o que a colméia consome em um ano (BALDÍ CORONEL *et al.*, 2004; SEELEY, 2006).

Em média, a carga de pólen é 98% constituída de uma única espécie botânica (FUNARI, 2003; SÁ-OTERO *et al.*, 2002). A cor, a forma e o tamanho das cargas de pólen trazidas pelas abelhas dependem da espécie de procedência e do tipo de néctar ou mel utilizado no processo de coleta (SÁ-OTERO *et al.*, 2002). Uma carga típica de pólen pesa 15 mg (SEELEY, 2006), aproximadamente 17% do peso da operária coletora (FUNARI, 2003). Para alimentar uma abelha, são necessários aproximadamente 130 mg de pólen e, anualmente, são consumidos 20 Kg de pólen em colônias não manejadas, enquanto de 15 a 30 Kg são consumidos em colônias manejadas para a produção de mel (SEELEY, 2006). Uma colônia em bom estado sanitário pode produzir 35 Kg de pólen anualmente (BALDÍ CORONEL *et al.*, 2004).



FIGURA 2. Flor de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC sendo visitada por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*), no apiário Fazenda Borboleta, localizado em Batalha, no Sertão do Estado de Alagoas.

Uma colméia pode ser concebida como um único organismo com cerca de 1-5 Kg, contendo de 10.000 a 40.000 abelhas. Considerando que cada abelha vive em média um mês, a colméia cria 150.000 abelhas a cada verão. Tais abelhas costumam buscar suas fontes nutricionais até cerca de quase 12 Km de distâncias das colméias (SEELEY, 2006).

3.4 Composição físico-química do pólen apícola

O pólen pode ser considerado como fonte potencial de proteínas e energia para o consumo humano, com cerca de 27 g de proteínas totais e 246,5 Kcal. 100g⁻¹, e de aproximadamente 6,5 g de lipídios e 27 g de glicídios. 100 g⁻¹ (BARRETO *et al.*, 2004). Contém, ainda, 27 minerais (principalmente potássio, cálcio, magnésio, fósforo, ferro e sódio), 18 enzimas (dentre elas, catalase, amilase e sacarase) e 22 aminoácidos livres, além de ácidos nucleicos, materiais antibacterianos e hormônios (BONVEHÍ & JORDÀ, 1997; HARO *et al.*, 2000; NAGAI *et al.*, 2007). Possui também antioxidantes, tais como carotenóides e vitaminas A, C e E, sendo que cerca de 3% a 5% do seu peso seco é constituído de flavonóides, além de vitaminas em geral do complexo B e D (ALMEIDA-MURADIAN, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

O valor nutricional do pólen varia segundo sua origem florística, a temperatura do ar e a composição química do solo (FAYE, PIANCHUELO & MOLINELLI, 2002). Com

isso, uma coleta de pólen de mesma espécie vegetal, em diferentes áreas resultará em diferenças na composição química deste (BARRETO *et al.*, 2006).

O pólen pode apresentar diversas cores conforme conteúdos de pigmentos flavonóides ou carotenóides, e dependendo do metabolismo da espécie, estes acabam por determinar também seu odor e sabor - desde o doce até o amargo (RAMÍREZ & MONTENEGRO, 2004).

O uso do pólen, puro ou misturado a outros produtos tem sido disseminado. Porém, existem poucos estudos que quantifiquem seus constituintes químicos com relação às suas propriedades organolépticas (NAGAI *et. al.*, 2007). A quantificação de prolina no pólen, por exemplo, serve para expressar o frescor deste, ainda que esta análise não seja exigida pela legislação brasileira (BARRETO, 2006). Haro *et al.* (2000), analisando pólen multifloral, sinalizou efeitos benéficos no uso do pólen no tratamento de anemia, devido a seus aminoácidos livres (histidina), frutose, vitamina C e flavonóides.

A *International Honey Commission* (IHC), preocupada com o fato de não haver padrão internacional para o pólen apícola, criou um grupo de estudos para que, baseado em padrões nacionais de cada país se proponha um padrão de identidade e qualidade mundial para este produto (ALMEIDA-MURADIAN, 2006). Para todos os produtos apícolas, a legislação brasileira em vigor (Tabela 3) determina a ausência de contaminantes orgânicos e inorgânicos, além da ausência da espécie *P. larvae* como critério microbiológico (BRASIL, 2001).

TABELA 3. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos de controle de qualidade de pólen apícola.

Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos	Limite/Quantidade
Umidade	4% (desidratado) e 30%(fresco)
Cinzas	Máx. 4%
Lipídios	Mín. 1,8 %
Proteínas	Mín. 8%
Açúcares totais	14,5 % a 55,0 %
Fibra bruta	Mín. 2%
Acidez livre	Máx. 300 mEq.Kg ⁻¹
pH	4,0 a 6,0
<i>Paenibacillus larvae</i>	Ausência em 25 g de pólen

Fonte: BRASIL (2001).

Para Ameida-Muradian *et al.* (2005), o conhecimento nutricional do pólen apícola

pode ser utilizado no controle da qualidade deste produto, principalmente para direcionar a produção comercial do pólen monofloral (proveniente de uma mesma espécie de planta).

Segundo Nagai *et al.* (2007), na Europa o pólen de abelhas é reconhecido como um alimento perfeito, e é de poucos anos seu reconhecimento como um alimento saudável, rico em vitaminas e componentes relacionados. Neste processo, a demanda dos consumidores por alimentos naturais com efeitos medicinais, como atividade antioxidante e atividade antihipertensiva, vem aumentando, e seus peptídeos podem ser aplicados em vários campos, como o dos alimentos funcionais e da medicina.

Não existem informações sobre a composição química do pólen apícola alagoano, tornando necessárias avaliações de suas características físico-químicas para o incentivo da produção deste no Estado.

3.5 Compostos fenólicos, flavonóides e ação antioxidante

Existem milhares de compostos fenólicos nas plantas. As estruturas predominantes nestes compostos variam conforme a região e a espécie vegetal, mas todos compartilham a presença de anéis benzênicos ligados a hidroxilas, podendo ser “flavonóides” ou “não flavonóides”. Na vegetação, os compostos fenólicos atuam como cofatores enzimáticos, agentes de cor e aroma (atração de insetos polinizadores), antioxidantes, agentes de proteção contra radiações UV, adaptação a flutuações climáticas e ataque de predadores, sustentação mecânica, entre outras funções. Compostos fenólicos não são sintetizados pelo nosso organismo e são, portanto, imprescindíveis na nossa alimentação. São substâncias que se caracterizam pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligado diretamente a um anel aromático (Figura 3).

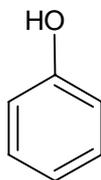


FIGURA 3. Estrutura do fenol (sinonímia: ácido carbólico, ácido fênico, hidroxibenzeno, ou hidroxifenil), o mais simples dos compostos fenólicos.

Existem diversas classes de compostos fenólicos de ocorrência universal nas plantas vasculares, e que podem desempenhar papéis importantes na biologia dos animais, como os ácidos fenólicos benzóico, caféico, cumárico e ferúlico, e os flavonóides

apigenina, campferol e quercetina (Figura 4). Alguns são bem comuns, pelo menos em termos organolépticos, como a vanilina (que confere aroma à baunilha) e o eugenol (muito usado pelos dentistas, presente no óleo de cravo na proporção de 85%, aproximadamente) (MARCUCCI, WOISKY & SALATINO, 1998). Diversas vitaminas, tradicionalmente reconhecidas (A, D, E, K) também contêm estruturas fenólicas (HUANG, OU & PRIOR, 2005; MAIA, 2008). Liu *et al.* (2008) testaram combinações de antioxidantes (vitaminas C e E, licopeno e β -caroteno) e evidenciaram que a mistura das concentrações e combinações específicas destes foram mais efetivas que a capacidade individual de cada um deles, sugerindo a ação sinérgica entre eles.

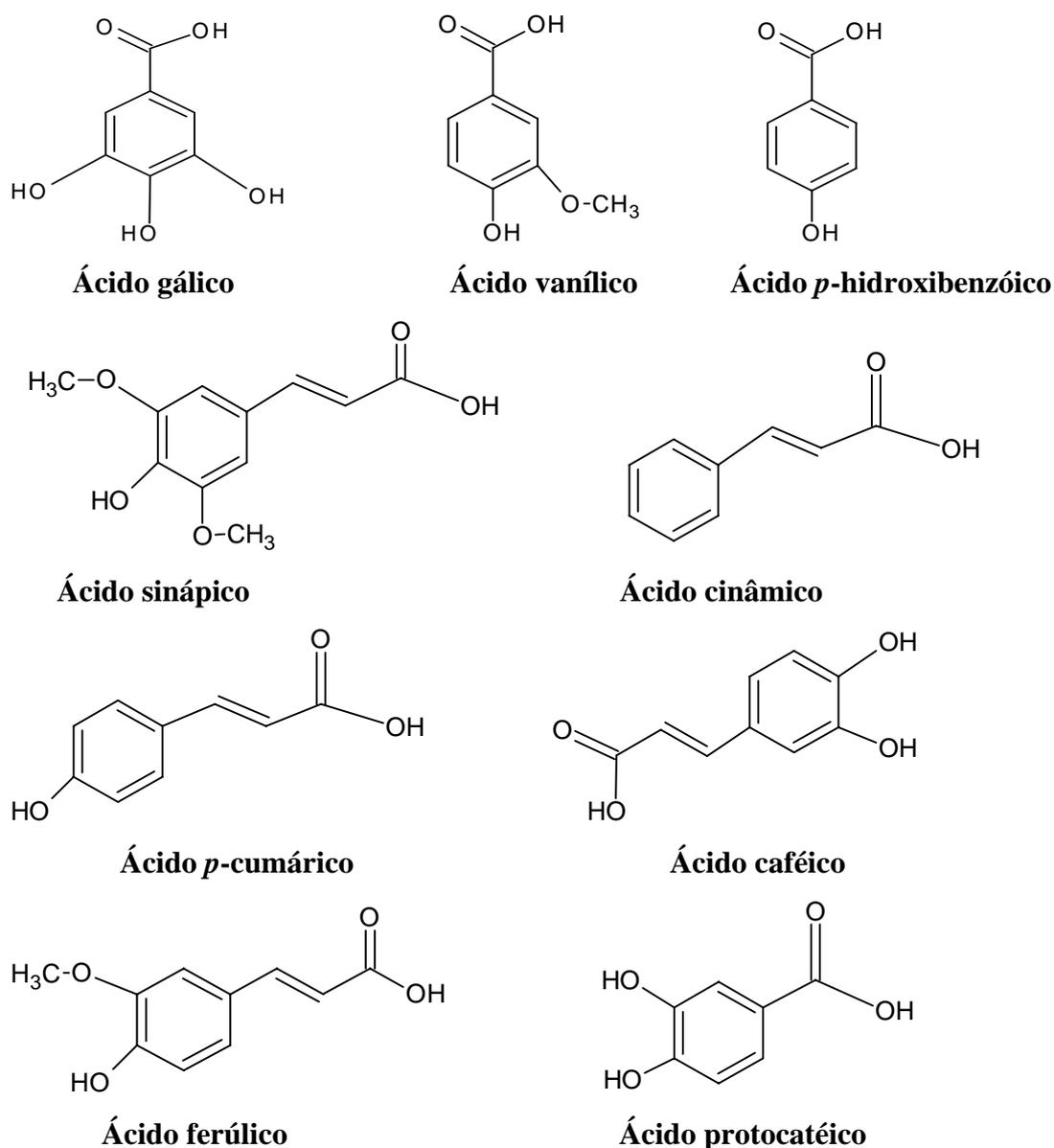


FIGURA 4. Exemplos de ácidos fenólicos presentes em mel, pólen, própolis e geléia real.

Os flavonóides são caracterizados pela estrutura C6-C3-C6, e são subdivididos em flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, chalconas, auronas e antocianinas (Figura 5). Entre os não flavonóides, destacam-se compostos que compartilham estruturas C6-C1 (ácidos hidroxi-benzóico, gálico, elágico), C6-C3 (ácidos cafeico, cumárico) e C6-C2-C6 (resveratrol), além de taninos, tocoferóis e ligninas.

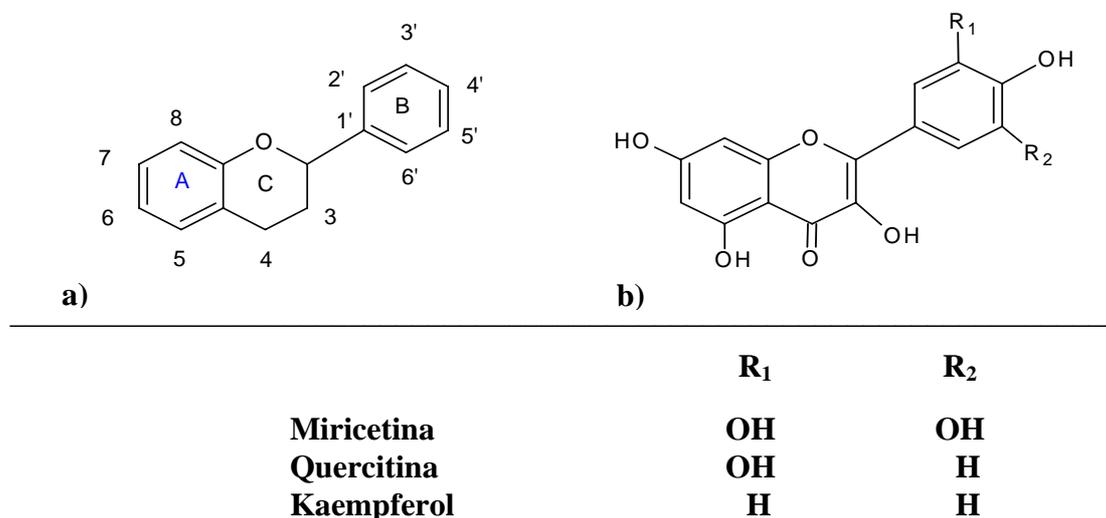


FIGURA 5. Estrutura química típica dos flavonóides [composta por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C)]; **b)** alguns flavonóides agliconas.

Todos os flavonóides de plantas derivam da fenilalanina - um dos aminoácidos essenciais para o homem (MAIA, 2008). Ainda nos vegetais, os flavonóides estão ligados a glicídios (flavonóides glicosídeos), proteínas e radicais de ácidos fortes (como sulfato e fosfato), favorecendo interações com a água (MAIA, 2008). O interesse nos compostos fenólicos foi focado, por muito tempo, nos efeitos nocivos causados à saúde pela afinidade de certos polifenóis a macromoléculas como proteínas, carboidratos e enzimas degradativas, precipitando-as e diminuindo a digestibilidade dos alimentos (CARPES *et al.*, 2007). Pesquisas atuais, contudo, enfatizam a ação antioxidante destes compostos, como flavonóides, minimizando a peroxidação lipídica e o efeito de radicais livres (CUSHINE & LAMB, 2005; SILVA, *et al.*, 2006).

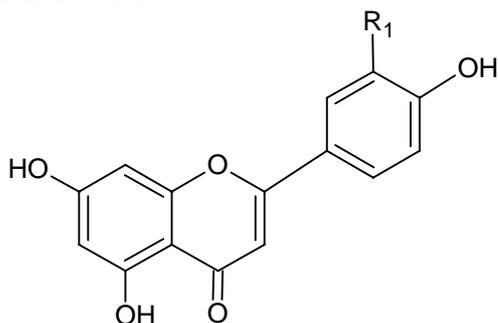
Um radical livre é uma espécie química que contém um ou mais elétrons desemparelhados e é capaz de existir independentemente. São conhecidos por serem produzidos metabolicamente em organismos vivos, tais como o triclorometil (CCl₃·), superóxido (O₂^{·-}), hidroxil (HO·), peroxil (ROO·) e óxido nítrico (NO·). Alguns não radicais derivados de moléculas de oxigênio [como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o ácido hipocloroso (HOCl)] podem ser gerados em alimentos e sistemas biológicos, conduzindo a

processos de oxidação, ocasionados também por influências externas, como radiações e substâncias carcinogênicas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; CAMPOS, 2003; ÂNGELO & JORGE, 2007).

Muitos substratos diferentes, composição do sistema e métodos analíticos são empregados em testes para avaliar a efetividade dos antioxidantes, evidenciando que muitos diferentes métodos são necessários para avaliar diferentes efeitos destes. A metodologia para avaliação natural dos antioxidantes deve ser cuidadosamente interpretada, de acordo com o método analítico usado para determinar o grau e o ponto final da oxidação (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

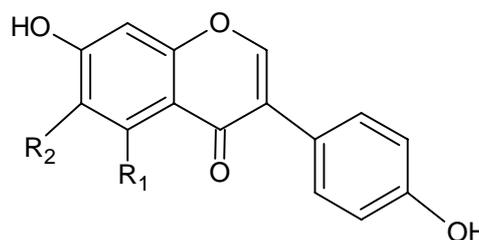
O pólen das plantas contém uma importante quantidade de flavonóis glicosídicos, que estão localizados na superfície da exina. As secreções das glândulas hipofaríngeas das abelhas hidrolisam os flavonóides heterosídeos a agliconas livres, aumentando a possível atividade biológica do pólen (Figura 6) (BONVEHÍ, TORRENTÓ & LORENTE, 2001).

FLAVONAS



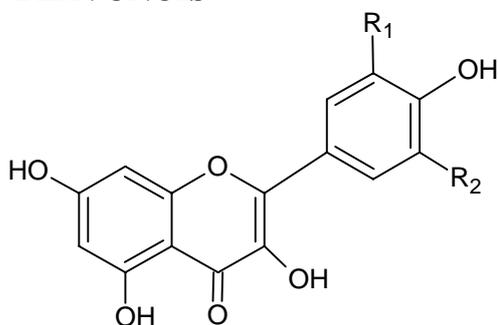
R1 = H: Apigenina
R1 = OH: Luteolina

ISOFLAVONAS (O anel fenólico "B" está unido ao átomo C3 do anel da pirona)



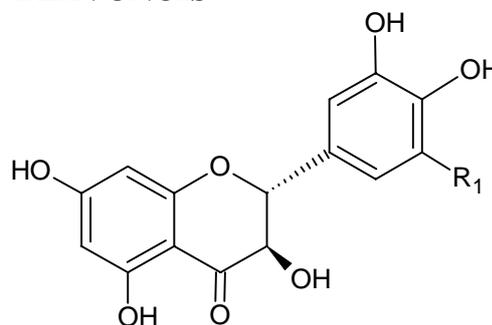
R1 = H; R2 = H: Daidzeína
R1 = OH; R2 = H: Genisteína
R1 = H; R2 = OCH3: Gliciteína

FLAVONÓIS



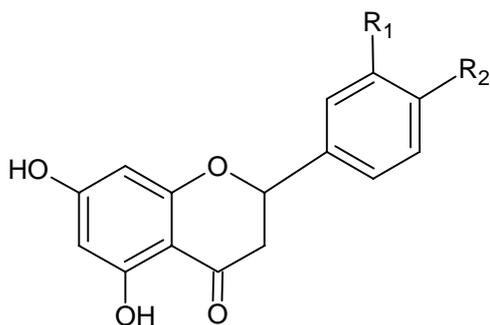
R1 = H; R2 = H: Kaempferol
R1 = OH; R2 = H: Quercetina
R1 = OH; R2 = OH: Mirecetina
R1 = OCH3; R2 = H: Isorametina

FLAVONÓIS



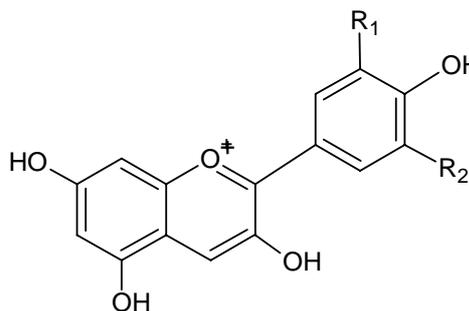
R1 = H: (+) - Catequina
R1 = OH: (+) - Galocatequina

FLAVANONAS



R1 = H;	R2 = OH:	Naringerina
R1 = OH;	R2 = OH:	Eriodictol
R1 = OH;	R2 = OCH3:	Hesperetina

ANTOCIANIDINAS



R1 = H;	R2 = H:	Pelagonidina
R1 = OH;	R2 = H:	Cianidina
R1 = OH;	R2 = OH:	Delfinidina
R1 = OCH3;	R2 = OH:	Petunidina
R1 = OH;	R2 = OCH3:	Malvidina

FIGURA 6. Algumas classes de flavonóides encontrados em produtos apícolas.

Os testes antioxidantes em alimentos e sistemas biológicos são classificados em dois grupos: aqueles para avaliar a peroxidação lipídica, em que um lipídeo ou uma lipoproteína abaixo das condições padrão é usado, e o grau de inibição da oxidação é medido; e aqueles usados para medir a habilidade sequestrante de radicais livres (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

Devido às propriedades biológicas de seus componentes (particularmente compostos fenólicos e aminoácidos) o extrato aquoso de pólen apícola demonstra, *in vivo*, forte atividade no seqüestro de radicais livres. Segundo ERASLAN *et al.* (2009), o pólen apícola pode ser utilizado, seguramente, como um suplemento alimentar como proposta profilática e também em combinação com outros produtos medicinais como suporte para tratamento de intoxicações causadas por pesticidas.

Bonvehí, Torrentò & Lorente (2001) identificaram os seguintes flavonóides em amostras de pólen apícola da Espanha: ácido 3,4-diidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico e *o*-cumárico, ácido 4-hidroxibenzóico, quercetina, miricetina, kaempferol, isoramnetina, sendo a rutina o mais abundante destes e o que mostrou maior atividade sequestrante de radicais livres. Segundo Medeiros *et al.* (2008), a miricetina, flavonóide encontrado em extratos fenólicos de pólen apícola, foi reconhecida como uma molécula em potencial para o tratamento de alergias do trato respiratório.

Baseado no perfil ativo verificado através de vários ensaios *in vitro*, Lee, Kim & Shoi (2009) evidenciaram o extrato de pólen de pinho (*Pinus* sp.) com grande potencial

antioxidante e ação antiinflamatória, sugerindo sua utilização como fitoterápico contra o estresse oxidativo, bem como o uso clínico no tratamento de doenças inflamatórias.

Segundo Almaráz-Abarca *et al.* (2007), o extrato de pólen monofloral de *Prosopis juliflora* possui uma significativa atividade como inibidor da peroxidação lipídica em sistemas vivos, e deve contribuir como defesa exógena contra o estresse oxidativo. Dependendo da concentração de flavonóides e na ausência de estresse oxidativo, esse extrato pode comportar-se como substância antioxidante *in vivo*.

Atribui-se às oxidações dos ácidos graxos poliinsaturados, os quais são constituintes majoritários dos fosfolipídios de membranas celulares (altamente susceptíveis à oxidação por radicais livres), uma forte influência no estímulo ao desenvolvimento de doenças de grande importância na atualidade, como a arteriosclerose, as enfermidades coronárias e determinados tipos de câncer (BIANCHINI & ANTUNES, 1999; BONVEHÍ, TERRENTÓ & LORENTE, 2001; KROYER & HEGEDEUS, 2001; SOARES, 2002).

Os flavonóides expressam seus efeitos antioxidantes na prevenção da geração de espécies reativas de oxigênio, diretamente na captura destas ou, indiretamente, no aumento das enzimas antioxidantes celulares, prevenindo assim a isquemia do miocárdio (AKHLAGHI & BANDY, 2009). Segundo Cushine & Lamb (2005), têm sido usadas preparações contendo flavonóides como constituintes fisiologicamente ativos para tratar doenças humanas, e vários pesquisadores têm isolado e identificado estruturas de flavonóides com ação antifúngica, antibacteriana e antiviral.

SILVA *et al.* (2006), estudando o pólen de *Melipona subnitida* Ducke, demonstrou sua atividade antioxidante em face dos flavonóides selagina, naringenina, tricetina, isorraminetina e 8-metoxiherbacetina, estimulando o consumo dos mesmos na dieta humana. A utilização desses produtos em quantidades substanciais na dieta é um dos mecanismos de defesa que podem ser empregados nas indústrias de alimentos contra agentes oxidantes (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Nagai *et al.* (2002), verificaram que os extratos de pólen de *Cistus ladaniferus* são bons seqüestradores de espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo os radicais superóxidos e hidroxil, e estas propriedades parecem estar relacionadas na prevenção de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes.

3.6 Atividade antibacteriana e qualidade microbiológica do pólen

Os agentes antimicrobianos incluem derivados de animais (as enzimas como lisozima e lactoperoxidase; a proteína lactoferrina; o peptídeo histatina e o sistema imune), de plantas (ácidos orgânicos, óleos essenciais, compostos fenólicos) e aqueles derivados de microrganismos (bacteriocinas). A efetividade dos agentes antimicrobianos depende de alguns fatores como o efeito do pH ou o efeito específico do agente antimicrobiano. Há outros fatores que podem influenciar na atividade antimicrobiana, incluindo a atividade de água, a umidade, a temperatura, a pressão osmótica e a composição do substrato (GARCÍA *et al.*, 2001).

Carpes *et al.* (2007), analisando extratos etanólicos de pólen em concentrações de 40%, 50%, 60%, 70%, 80 e 90%, encontraram inibição para as espécies *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* sp.

Basim, Basim & Özcan (2006) verificaram atividade antimicrobiana de extrato metanólico de pólen para 13 diferentes espécies de fitopatógenos, concluindo que este tipo de extrato poderia ser utilizado como protetores de sementes.

Por outro lado, a microflora presente no pólen apícola pode ser procedente do próprio pólen, como as leveduras, mofos e cocos bacterianos (BONVEHÍ & JORDÀ, 1997), e outra partindo das práticas inadequadas de manejo e armazenamento do produto.

Os grãos de pólen nas flores secretam substâncias que inibem a germinação de esporos microbianos, e o pólen apícola desidratado tem baixa umidade (4%). Conclui-se que o desenvolvimento e multiplicação da microbiota contaminante devem ocorrer no período entre a formação dos grãos de pólen pelas abelhas e a secagem e embalagem do produto (MEDINA *et al.*, 2004; GONZÁLEZ *et al.*, 2005). Por isso, a qualidade do produto final depende do processo de limpeza, secagem e embalagem aplicadas pelo apicultor, dependendo destas etapas também a vida de prateleira deste produto (GONZÁLEZ *et al.*, 2005).

O pólen apícola é coletado na entrada da colméia através de trampas (caça-pólen) e esta coleta, os apicultores não costumam realizá-la diariamente em função dos apiários estarem localizados longe de suas residências. Porém, se a coleta demorar muito para ser realizada, o produto pode ficar exposto a alta umidade relativa do ambiente, o que é típico em algumas áreas durante a época das floradas e, por isso, se constituir no ponto mais crítico com relação a sua vida de prateleira, caso sua desidratação não seja realizada adequadamente (GONZÁLEZ *et al.*, 2005).

A desidratação do pólen apícola deve ser rápida e por tempo suficiente. Como este alimento *in natura* apresenta alto teor de umidade, o que provocaria sua rápida fermentação e deterioração, o processo de desidratação é indispensável (ALMEIDA-MURADIAN, 2006; GONZÁLEZ *et al.*, 2005); o aquecimento artificial é o mais utilizado na produção de pólen apícola para fins comerciais (ALMEIDA-MURADIAN, 2006).

Almeida-Muradian (2006) comparou o processo de desidratação tradicional, que utiliza temperaturas entre 40-42°C, com um processo que faz uso de temperaturas mais amenas (29-32°C), tomando três vitaminas antioxidantes (A, E e pró-vitamina A) como padrões. O segundo método foi o mais eficiente na manutenção dos teores destas vitaminas. O conhecimento nutricional do pólen apícola, portanto, pode ser utilizado no controle da qualidade do mesmo, direcionando a produção comercial do pólen monofloral (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005). A quantificação de prolina no pólen, por exemplo, serve para expressar o frescor deste, ainda que esta análise não seja exigida pela legislação brasileira (BARRETO *et al.*, 2006).

Portanto, o controle da umidade inicial, é um fator determinante para a qualidade final do pólen apícola, pois o excesso desta promove desenvolvimento de microrganismos e se torna um ponto crítico para a vida de prateleira (RIBEIRO & SILVA, 2006).

Por outro lado, a presença de microrganismos é reduzida significativamente durante o processo de desidratação, mas outros microrganismos patogênicos poderão contaminar este alimento pela não observância das condutas higiênicas na sua manipulação, podendo promover riscos à saúde (BARRETO *et al.*, 2006).

Giulliam, Prest & Lorenz (1989) realizaram o isolamento da microflora presente em pólen coletado diretamente de flores nos apiários, e detectaram *Mucor* sp, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium*, *Penicilium corylophilum* e *P. corylophilum*, *P. crustosum*, *Aureobasidium pullulans*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger* e *Peyronelia* sp no pólen retirado das corbículas das abelhas, e diversas espécies de *Penicilium* e *Aspergillus* no “pão de abelha”, que é o pólen estocado nos alvéolos.

Um estudo realizado com 90 amostras coletadas em diferentes regiões da Espanha e em três áreas de Buenos Aires (Argentina) revelou a presença de diversas espécies de fungos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium verrucosum*) produtores potenciais ocratoxinas e aflatoxinas. Em geral, se um longo período ocorre entre a colheita do pólen e a secagem, os fungos toxigênicos presentes no mesmo podem crescer e produzir micotoxinas que nele

permanecem, visto que são termorresistentes (GONZÁLEZ *et al.*, 2005). Portanto, a microflora presente no pólen apícola pode ser procedente do próprio pólen (BONVEHÍ e JORDÀ, 1997) ou das práticas inadequadas de manejo e armazenamento do produto (BARRETO *et al.*, 2006).

É importante a eliminação de patógenos toxigênicos, sendo que seu controle através de irradiação, ozônio ou fumigantes não é necessário e conduz à produção de resíduos tóxicos (BOGDANOV, 2004).

Pela falta de capacitação e domínio das técnicas de manejo da produção, além do beneficiamento inadequado do pólen apícola, alguns apicultores não estão aptos a assegurar a qualidade do seu produto, sendo necessário o esclarecimento de questões que passam desde mudanças de valores pessoais, aprimoramento das técnicas de manejo, conhecimento das BPF (Boas Práticas de Fabricação) e, por fim, a adoção de estratégias permanentes e rotineiras que assegurem e mantenham a qualidade do produto (RIBEIRO & SILVA, 2006). Portanto, é necessária a correta manipulação na colheita e beneficiamento dos grãos de pólen para uma maior garantia da qualidade do produto final, visto que apesar de ser natural e de grande valor nutricional, pode ser contaminado ao longo do processamento e perder seu valor.

Pólen apícola de ótima qualidade deve ser coletado em áreas alocadas a no mínimo 3 Km de distância das fontes de contaminação por metais pesados e áreas agrícolas tratadas com pesticidas (BOGDANOV, 2006). É sabido que a cria é o principal alvo de patógenos sendo estes as principais causas de perdas de apiários inteiros. As quatro principais doenças que ocorrem em crias de abelhas *Apis mellifera*, além da CPA são: a Cria Pútrida Européia (CPE), causada pela bactéria *Melissococcus pluton*, a Cria Ensacada (CE) causada pelo vírus "*Sac Brood Virus*" (SBV), a Cria Ensacada Brasileira (CEB), causada pelo pólen da planta barbatimão (*Stryphnodendron* sp) e não pelo SBV, a Cria Giz (CG), causada pelo fungo *Ascospaera apis* e a Cria Pedra (CP) (MESSAGE, 1996).

O único microrganismo mencionado pela Normativa de 2003, *P. larvae*, é o agente etiológico da CPA (Cria Pútrida Americana), sendo exigida sua ausência em testes com, no mínimo, 25 gramas de amostras de pólen apícola. *P. larvae* é caracterizado por formar bastonetes Gram positivos, anaeróbios facultativos, que produzem endósporos altamente estáveis, com viabilidade de 35-50 anos, sendo um dos principais patógenos de *Apis mellifera*, e de difícil controle. Os endosporos desta bactéria contaminam larvas das abelhas, germinam e as atacam, geralmente durante as primeiras 24-36 h de vida das

mesmas (LAURO *et al.*, 2003). Isto resulta na destruição de todas as crias de abelhas e eventual morte de toda colméia.

Pelo seu efeito destrutivo, extrema resistência a antibióticos, e ampla distribuição, *P. larvae* pode permanecer no ambiente por muito tempo e provocar sérios prejuízos, sendo considerado um dos mais importantes agentes infecciosos de abelhas melíferas, e de grande impacto no mercado internacional (BAKONYI *et al.*, 2003) e requerendo um sério controle. Por isso, não se recomenda a importação de produtos apícolas ou rainhas de países que apresentem níveis altos de infestação.

A produtividade das abelhas está relacionada a vários fatores, sobretudo a questão da sanidade apícola das colméias. Não há um planejamento oficial específico para o controle e combate a problemas de sanidade apícola. As doenças nas colméias de *Apis mellifera* acarretam sérios prejuízos, uma vez que, o aumento da mortalidade, tanto de crias quanto de abelhas adultas, pode levar a uma redução significativa da população, afetando a produtividade. As doenças de crias diminuem o número de indivíduos da colônia, já que não há reposição das abelhas que morrem. As doenças que afetam as abelhas adultas levam à morte grande quantidade de abelhas, e as abelhas sobreviventes assumem, precocemente, novas funções na colméia, prejudicando a produção (ALVES & DIB, 2008).

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, com a expansão da comercialização de produtos de baixa qualidade, contaminados por CPA, levou à perda do mercado europeu. A CPA é extremamente contagiosa e se espalha rapidamente pelos apiários, sendo transmitida horizontalmente (FRIES, LINDSTRÖM & KORPELA, 2006).

O primeiro registro desta doença no Brasil foi em 2006, realizando-se o isolamento de *P. larvae* em amostras de mel em favo, colhidas em apiário localizado no Município de Quatro Barras – PR, onde foram observadas colméias com sinais clínicos sugestivos da doença. Das 33 amostras analisadas, 24 apresentaram esporos de *P. larvae*, o que, em conjunto com os sinais clínicos observados, indicou a ocorrência de CPA (DSA, 2006).

Da mesma forma, a CPA foi detectada em colméias no Rio Grande do Sul (SCHUCH, TOCHETTO & SATTLER, 2003). A contaminação ocorreu porque os apicultores alimentaram as abelhas com mel e pólen importados, contaminados com a bactéria. Essa doença pode provocar sérios prejuízos, pois seu controle é bastante difícil, já que a bactéria é resistente a antibióticos e pode permanecer no ambiente por muito

tempo. Por isso, não se recomenda a importação de produtos apícolas ou rainhas de países que apresentem níveis altos de infestação (SCHUCH, TOCHETTO & SATTTLER, 2003).

Assim, considerando que há interesse nas exportações, como já ocorre com o Estado de Santa Catarina, o qual atende demandas da Colômbia e Uruguai (BARRETO *et al.*, 2006), é importante cuidar da qualidade microbiológica deste produto não só em função do consumo doméstico, mas também pelo que pode representar a nível internacional um lote de pólen apícola contaminado, de qualquer região brasileira, numa exportação.

Pelo seu efeito destrutivo, extrema resistência e ampla distribuição, *P. larvae* é considerado um dos mais importantes agentes infecciosos de abelhas melíferas, causando uma doença (CPA) de alta importância sócio-econômica e grande significado no mercado internacional (BAKONYI *et al.*, 2003). Portanto, o pólen apícola requer um sério controle de qualidade.

4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Localização

A pesquisa foi realizada em municípios com potencial produção de pólen em três mesorregiões do Estado - Zona da Mata, Sertão e Litoral. Nestas regiões foram instalados os seguintes apiários: “Princesa das Matas” (Figura 8), localizado em Viçosa (Latitude 09° 22' 47,9" S, Longitude 36° 17', 7,7" O, Altitude 265 m); “Fazenda Borboleta” (Figura 9), localizado em Batalha (Latitude 09° 40' 35,4" S, Longitude 37° 03' 19,2" O, Altitude 225 m); e “Cavalo Russo” (Figura 10), localizado Barra de São Miguel (Latitude 09° 47' 56" S, Longitude 35° 52' 50,9" O, Altitude 19 m).



FIGURA 7. Municípios do Estado de Alagoas nos quais o estudo foi realizado (em preto).



FIGURA 8. Apiário experimental “Princesa das Matas”, localizado no município de Viçosa - mesorregião da Zona da Mata do Estado de Alagoas.



FIGURA 9. Apiário experimental “Fazenda Borboleta”, localizado no município de Batalha - mesorregião do Sertão do Estado de Alagoas.



FIGURA 10. Apiário experimental “Cavalo Russo”, localizado no município de Barra de São Miguel - mesorregião litorânea do Estado de Alagoas.

4.2 Identificação e descrição da flora dos apiários

Para a determinação da flora apícola, foram realizadas coletas quinzenais das espécies vegetais em floração num raio de 500 m no sentido dos quatro pontos cardeais (N, S, L, O). Estes foram marcados a partir do apiário instalado (Figura 11).

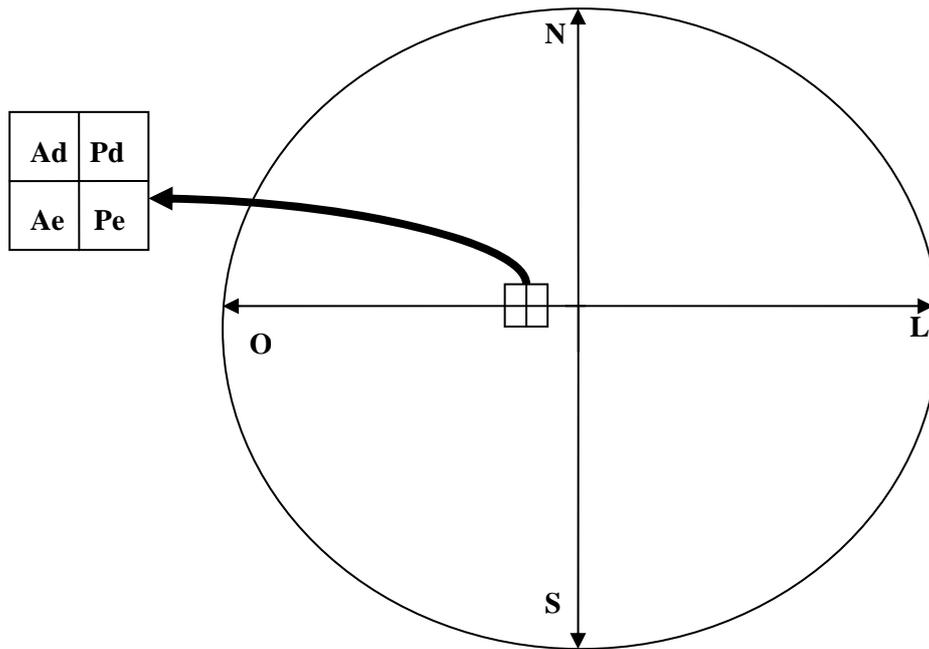


FIGURA 11. Esquema da área de vegetação avaliada ao redor do apiário experimental (500 metros ao Norte, ao Sul, a Leste e a Oeste), sendo a coleta das plantas efetuadas utilizando-se um quadrante a cada 20 metros dessas linhas de direção (faces anteriores e posteriores, à esquerda e à direita de cada ponto demarcado).

Nas quatro direções, e a cada 20 metros, foram tomadas as amostras imediatamente mais próximas do quadrante (uma amostra de cada face anterior à esquerda e à direita, e de cada face posterior à esquerda e direita) demarcado, totalizando 4 plantas por ponto e 100 plantas por direção. Estas visavam à identificação das espécies botânicas mais representativas dos estratos arbustivo e arbóreo (LIMA, 1995) do entorno do apiário. As espécies do estrato herbáceo, contudo, foram negligenciadas na área demarcada, mas coletadas quinzenalmente, juntamente com as espécies dos outros estratos mencionados. Conforme as técnicas vigentes em Botânica, exsiccatas das espécies em floração foram obtidas para deposição em Herbário oficial do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA/AL). Para a herborização das plantas, portanto, retiraram-se as folhas, flores e ramos íntegros das mesmas, depositando-se os mesmos sobre folha de jornal. Em seguida, estas foram prensadas com prensa de madeira e após secagem, o exemplar colhido foi transportado para um papel cartão, colado com cola branca e costurado quando necessário para melhor fixação. No papel cartão foram anotados o nome da espécie, coletor, data e local/cidade de coleta.

A identificação do material foi realizada tanto através da utilização de chaves de classificação de fito-sistemática disponível na literatura, quanto da confirmação pelos

botânicos responsáveis por essa tarefa no IMA/AL.

4.3 Montagem do núcleo

Em cada apiário citado no item 4.1., foi criado um núcleo experimental, e em cada um destes foram disponibilizadas dez caixas do modelo Langstroth contendo um enxame (Figura 12). Para a coleta do pólen, inseriu-se em cada caixa um “caça-pólen” (trampa + coletor) (Figuras 12 e 13). A trampa só foi fechada no dia anterior à coleta.



FIGURA 12. Coletores associados às caixas de criação racional de abelhas (tipo Langstroth).



FIGURA 13. Coletor de pólen (trampa + gaveta) utilizado nos apiários estudados.

4.4 Coleta das amostras de pólen

Foram realizadas trinta coletas, dez em cada apiário, sendo as amostragens

quinzenais e sempre no final da tarde. O material foi colhido em potes esterilizados, em coletores de pólen, sendo a trampa (que precede a entrada dos enxames e a retirada das bolotas de pólen das corbículas das abelhas), fechada 24 h antes da coleta. As amostras foram levadas ao Laboratório de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental (LBPMA) do IQB em caixas isotérmicas, e armazenadas sob refrigeração.

4.5 Coleta dos botões florais

A cada quinze dias, as 4 plantas amostradas por quadrante nas quatro direções (um total de 100 plantas por quadrante) foram observadas e os botões florais dos espécimes em floração coletados (Figura 14). Estes foram levados ao LBPMA do IQB/UFAL, em caixas isotérmicas, para análise polínica monofloral.



FIGURA 14. Coleta de botão floral no apiário Fazenda Borboleta, no Sertão do Estado.

4.6 Preparo e análise das lâminas de pólen

4.6.1 Lâminas a fresco

As anteras (órgão vegetal masculino) dos botões florais, em microscópio estereoscópio, foram seccionadas e seu pólen removido. Procedeu-se a inclusão dos grãos de pólen em gelatina glicerinada não corada (7g de gelatina incolor dissolvida em 24,5 mL de água destilada e adicionada de 21 mL de glicerina 87% e 0,1g de fenol), conforme

descrito por Barth (1989). Em seguida, as lâminas foram vedadas com parafina, preparando-se três lâminas para cada amostra monofloral e observadas em microscópio (aumentos de 160 X - 1600X).

4.6.2 Laminário de referência

As lâminas monoflorais foram fotografadas em microscópio óptico (magnitude de 160X, 640X e 1600X) com câmera acoplada e anexada em microcomputador para a recepção e edição de imagem. As fotografias compõem o primeiro laminário polínico de referência com as espécies da flora apícola do Estado.

4.6.3 Lâminas compostas

A massa fresca de 1g de pólen foi mensurada e macerada com 10 mL de álcool 70%. A suspensão foi centrifugada por 15 min a 1368 g, e o sobrenadante descartado. Adicionou-se ao sedimento mais 10 mL de álcool 70% e centrifugou-se novamente por 15 min a 1368 g. O precipitado colhido foi adicionado de 5 mL de água glicerinada (50 mL de água + 50 mL de glicerol p. a.) e deixado repousar por 30 min antes da centrifugação por 15 min a 1368 g. Descartado o sobrenadante (CARPES, 2008), procedeu-se a preparação das lâminas compostas conforme descrito por Barth (1989), em triplicatas.

Quanto à contagem dos grãos de pólen (350 grãos por lâmina), foi realizada conforme descrito por Carpes (2008), e a classificação do espectro polínico foi efetuada segundo descrito por Barth (1989). Considerou-se pólen dominante aquele cuja forma foi prevalente nos grãos amostrados, compondo acima de 45% dos tipos presentes nesses grãos; o pólen acessório apresentou uma frequência entre 16-45% nos grãos; e os polens isolados importantes (cerca de 3-15% dos grãos) e ocasionais (menos de 3 % dos grãos) também foram analisados.

4.7 Análises físico-químicas

4.7.1 Preparação dos extratos hidro-etanólicos de pólen (EEP)

Os extratos foram obtidos conforme metodologia descrita por Carpes *et al.* (2007),

com algumas modificações. A partir de amostras de 1 g de pólen apícola e 10 mL de etanol p.a. diluído a 70% com água deionizada (Milli Q). Tais suspensões foram maceradas em cadinho sobre gelo (5 min), levadas à agitação em banho-maria (70 °C, 150 rpm, 30 min) e centrifugadas (1368 g, 10 min), Após remoção do sobrenadante, o resíduo do pólen apícola precipitado foi ressuspensão em 10 mL da mesma solução etanólica (70%), submetido novamente ao processo anteriormente descrito e filtrado. Foram conservados sob refrigeração (6-8 °C), em tubos Falcon. Tais extratos brutos corresponderam à concentração final de 50 mg.mL⁻¹.

4.7.2 Preparação das soluções de pólen (SP)

A solução de pólen foi obtida a partir de amostras de 500 mg de pólen que foi macerado, em cadinho sobre gelo, em 10 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 6.2. Em tubos Falcon, essas SP foram submetidas à centrifugação (906 g), à temperatura de 4° C, por 3 min, resultando em soluções de concentração de 50 mg.mL⁻¹.

4.7.3 Determinação de proteínas totais

A partir da solução de pólen (SP), a determinação do conteúdo de proteínas totais foi realizada pelo método de Lowry (1951), com uma curva padrão de albumina de soro bovino (ABS) de 0 a 100 µg.mL⁻¹ (1 mg de ABS em 10 mL de solução salina 0,9 %). Adicionou-se à 0,5 mL de SP, 2 mL do reagente A (preparou-se 2 mL de solução de sulfato de cobre 1 %, 2 mL de solução de tartarato de sódio e potássio 0,1 N. Em 196 mL de água deionizada, adicionou-se 3,92 g de carbonato de sódio e 0,784 g de hidróxido de sódio. Após a dissolução, completou-se o volume para 200 mL com as soluções de sulfato de cobre e tartarato de sódio e potássio). Após 10 min, adicionou-se 200 µL do reagente B (Folin-Ciocalteu 0,2 N, 1:1). Em seguida, as misturas de reação foram armazenadas no escuro, e após 50 min, suas absorvâncias foram mensuradas a 660 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

4.7.4 Determinação de glicídios totais

Os glicídios totais foram determinados a partir dos extratos hidroetanólicos de

pólen (EPP). Para tanto, foi utilizado o método de Antrona descrito por Yemm & Wills (1954). Uma curva de sacarose, variando de 0 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foi utilizada como padrão. Adicionou-se 1 mL do reagente de antrona (0,4 mg antrona em 200 mL de H_2SO_4 concentrado) em 0,5 mL de EEP diluído (1:1000). Aqueceu-se (100°C) as misturas de reação por 15 min, seguido de um choque térmico com banho de gelo. Em seguida, as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro FEMTO a 620 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

4.7.5 Determinação de lipídios totais

A determinação de lipídios totais de cada amostra foi realizada pelo método de Bligh & Dyer, conforme descrito por Manirakiza, Covaci e Schepens (2001). Em um tubo de Falcon de 50mL, depositou-se 2,5 g de pólen em 10 mL de metanol e 5 mL de clorofórmio. Essa mistura de cada amostra foi agitada em agitador de tubos por 2 min. Adicionalmente, colocou-se 5 mL clorofórmio e a mistura foi agitada vigorosamente. Adicionou-se 9 mL de água destilada à mistura e novamente levou-se ao agitador por mais 2 min. Após etapa, as camadas foram separadas por centrifugação por 10 min a 906 g. Com uma pipeta de Pasteur, a camada baixa foi transferida para um erlenmeyer. A segunda extração foi feita com 10 mL de 10% de metanol em clorofórmio e novamente levou-se ao agitador de tubos por 2 min. Centrifugou-se mais uma vez e a fase clorofórmica foi adicionada ao primeiro extrato, procedendo-se a evaporação em rotoevaporador (50°C). O resíduo foi levado à secagem por 1h, em forno a 105°C . Este foi posteriormente pesado em balança analítica e o resultado da diferença expresso em porcentagem. As análises foram realizadas em triplicata.

4.7.6 Determinação do conteúdo de fenóis totais em EEP

O conteúdo total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado por Carpes *et al.* (2007), pela regressão linear de uma curva padrão de ácido gálico ($0,5\text{-}100\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ vs. absorvância): $\text{Abs}_{740\text{nm}} = 0,00078335x - 0,05719$, com um coeficiente de correlação $r = 0,9995$. A cada 0,5 mL de EEP diluído (1:100) foi adicionado 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (p/v). O reagente de Folin-Ciocalteu foi

preparado adicionando-se 100 g de tungstato de sódio, 25 g de molibdato de sódio, 50 mL de ácido fosfórico 85% e 100 mL ácido clorídrico concentrado, em 700 mL de água destilada, em seguida, um balão contendo essa mistura foi levado a uma manta acoplado a um condensador de refluxo por 8h. A partir disso, adicionou-se 150 g de sulfato de lítio, cerca de 100 µL de solução saturada de bromo e o volume foi completado com água destilada para 1L. Os tubos de ensaio foram guardados à temperatura ambiente e no escuro, por 2h. A absorvância de todas as amostras foi medida a 740 nm usando espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em equivalentes miligramas de ácido gálico por g de pólen (Eq mg AG .g⁻¹). As análises foram feitas em triplicata.

4.7.7 Determinação do conteúdo de flavonóides totais em EEP

O conteúdo de flavonóides totais foi determinado a partir dos extratos hidroetanólicos de pólen (EEP), através do método descrito por Al *et al.* (2009), pela regressão linear de uma curva de calibração de quercetina (5,0 -150 µg.mL⁻¹ vs. absorvância): $Ab_{S_{510nm}} = 0,01619x - 0,00308$, com um coeficiente de correlação $r = 0,99715$. À 1mL de EEP (1:1000) foi adicionado 0,3 mL de NaNO₃ 5% e depois de 5 min, adicionou-se 0,3 mL de AlCl₃ 10%. Homogeneizou-se e depois de 6 min, neutralizou-se a mistura com 2 mL de NaOH 1M. As absorvâncias das soluções foram medidas a 510 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

4.7.8 Determinação da capacidade antioxidante em EPP

A atividade antioxidante foi determinada a partir dos EEPs através do método de seqüestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), descrito por Baltrusaityte, Venkutonis & Ceksteryte (2007). Como padrões, utilizou-se os compostos fenólicos quercetina (Q) e ácido gálico (AG), e o ácido ascórbico (AA), em concentrações de 50 mg.mL⁻¹, cada. O reagente foi preparado utilizando 2 mg do DPPH adicionado à 100 ml de etanol 70%, resultando numa concentração de $6,5 \times 10^{-5}$ M. Em cada 50 µL de EPP de cada amostra de pólen foi adicionado 2 mL do radical DPPH. O “branco” foi preparado com 50 µL de etanol 70% e 2 mL do reagente e lido no tempo igual a zero. As misturas de reação, depois de 16 min, foram lidas em absorvância de 515 nm. As análises foram realizadas em triplicata. A inibição foi dada segundo a fórmula abaixo:

$I = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$, em que:

I = Percentagem de inibição;

A_A = correspondente à absorvância da amostra;

A_B = correspondente à absorvância do branco.

4.7.9 Determinação do potencial antioxidante redutor do ferro (FRAP) em EEP

O potencial antioxidante redutor do ferro do EEP foi determinado de acordo com método descrito por Kuçük *et al.* (2007). A 1 mL de EEP (1:25) foi adicionado 2,5 mL de tampão fosfato (0,2 M, pH 6.6) e 1,0 mL de ferricianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$). Essa mistura de reação foi incubada a 50° C por 20 min. Depois desse período de incubação, 2,5 mL de ácido tricloroacético foi adicionada e a mistura foi levada ao agitador de tubos e depois à centrifugação (1368 g; 10 min). Em seguida, 2,5 mL do sobrenadante foram misturados com 2,5 mL de água Milli Q e 0,5 mL de 0,1% $FeCl_3$. As absorvâncias das soluções foram medidas a 700 nm. As análises foram feitas em triplicata.

4.8 Atividade Antibacteriana

4.8.1 Preparação do inóculo

O inóculo das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* e *Helicobacter pylori* foi preparado individualmente, através de uma suspensão aquosa de colônias de bactérias de culturas com 24 h em ágar nutriente (AN). A suspensão foi diluída com água estéril até obter-se a turvação correspondente a $3,0 \times 10^8$ cel.mL⁻¹ da escala de McFarland, conforme Adelman (2005), com algumas modificações.

4.8.2 Antibiograma (difusão em disco)

O teste antibacteriano de difusão em disco é descrito em detalhes por BAUER *et al.* (1966) e foi utilizado neste estudo com algumas modificações. Assim, 1mL do inóculo previamente preparado na concentração estabelecida foi depositado em 200 mL de meio de cultura ágar nutriente (AN), ainda liquefeito (45° C). O meio foi vertido em placas de Petri. Como antibióticos de referência, foram utilizados norfloxacina (15 µg), vancomicina (30

μg) e eritromicina (15 μg) impregnados em discos de papel de filtro comercial, e os microrganismos testados foram as cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* e *H. pylori* acima citadas. Com o auxílio de um perfurador, efetuou-se dois orifícios eqüidistantes nos meios de cultura de cada placa, depositando-se nos mesmos 100 μL dos EEP. As placas foram mantidas sob refrigeração por 12 h, para melhor difusão do EEP. Em seguida, foram incubadas a $30 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 h, quando então, os halos de inibição foram medidos com paquímetro e expressos em milímetros (mm). As análises foram feitas em triplicata.

4.9 Análise qualitativa

4.9.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A análise qualitativa dos EEP foi realizada através de cromatografia em camada delgada (CCD = sílica gel 60, $F_{254 \text{ nm}}$), empregando os padrões ácido gálico, quercetina, rutina e catequina na concentração de $0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$. Foram utilizados $25\mu\text{L}$ de EEP e como sistema de solventes, o clorofórmio: metanol: n-propanol: água (5:6:1:4 v:v:v:v). A revelação foi feita com reagente Folin-Ciocalteu para fenóis, solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 10% para flavonóides, e solução de cloreto férrico (FeCl_3) a 2%, solução de DPPH a 0,02 mM, para compostos antioxidantes.

4.10 Análises estatísticas

Os dados dos parâmetros físico-químicos das amostragens de pólen apícola de diferentes mesorregiões, na estação seca de 2008/09, foram submetidos aos testes de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*. A correlação utilizada entre os parâmetros analisados foi a correlação de *Sperman*. Para avaliar a significância, foi utilizado o teste não – paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

Para a atividade antibacteriana dos EEPs, foi utilizado o delineamento experimental totalmente casualizado, sendo o experimento fatorial, com 3 placas (réplicas) por tratamento (extratos; controle/água; controle/etanol 70%; e controle/cultura de microrganismos).

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características climáticas das regiões de coleta

A Tabela 4 apresenta dados de altitude, temperatura e índice pluviométrico dos municípios onde as estações de coleta das amostras de pólen foram implantadas. Na Tabela 5, verifica-se a média de precipitação diária nestes municípios, nos meses estudados.

TABELA 4. Municípios de coleta das amostras de polens (com códigos) de abelhas africanizadas, temperatura e índice pluviométrico dos mesmos na estação seca de 2008/09.

Municípios de Coleta de Pólen	Amostras*	Altitude (m) **	Temperatura Média (°C) **	Índice Pluviométrico (mm) **
Barra de São Miguel (Litoral Sul)	L	2	29	2050,0
Batalha (Sertão)	S	256	31	481,3
Viçosa (Zona da Mata)	ZM	210	29	1500,0

* Amostras: L (Litoral); S (Sertão) e ZM (Zona da Mata); ** Dados da SRHMA -AL, 2009.

TABELA 5. Média da precipitação diária (outubro a fevereiro) das mesorregiões do Litoral (L), Sertão (S) e Zona da Mata (ZM) nos meses de outubro/2008 a fevereiro/2009.

Municípios de Coleta de Pólen	Amostras*	Média da precipitação diária (mm/dia) **				
		Meses				
		Out	Nov	Dez	Jan	Fev
Barra de São Miguel (Litoral Sul)	L	0,3	0,3	0,7	1,5	6,8
Batalha (Sertão)	S	0	0	0	1,11	0
Viçosa (Zona da Mata)	ZM	0,61	0	0	0,1	0,1

*Amostras: L (Litoral); S (Sertão); ZM (Zona da Mata); ** Dados coletados pelos apicultores das mesorregiões estudadas na estação seca 2008/09.

A precipitação média acumulada de Janeiro a Dezembro de 2008 ficou acima da média histórica na maior parte das mesorregiões de Alagoas (Figura 15), excetuando-se a mesorregião agreste, que apresentou precipitação em torno da média (-15% a +15%). O maior desvio positivo da precipitação acumulada foi apresentado pelo Baixo São Francisco (36,2%) e o único desvio negativo, no Agreste (-0,2%). As demais regiões atingiram os

seguintes desvios: Sertão (21,5%), Zona da Mata (16,7%) e Litoral (24,0%) (SRHMA, 2008). Por outro lado, a precipitação média acumulada em Janeiro e Fevereiro de 2009 ficou em torno da média histórica nas regiões do Agreste e Baixo São Francisco (-15% a +15%), e acima desta na Zona da Mata e Litoral. No entanto, esta ficou abaixo da média histórica nas mesorregiões do Sertão e Sertão do São Francisco (SRHMA, 2008).

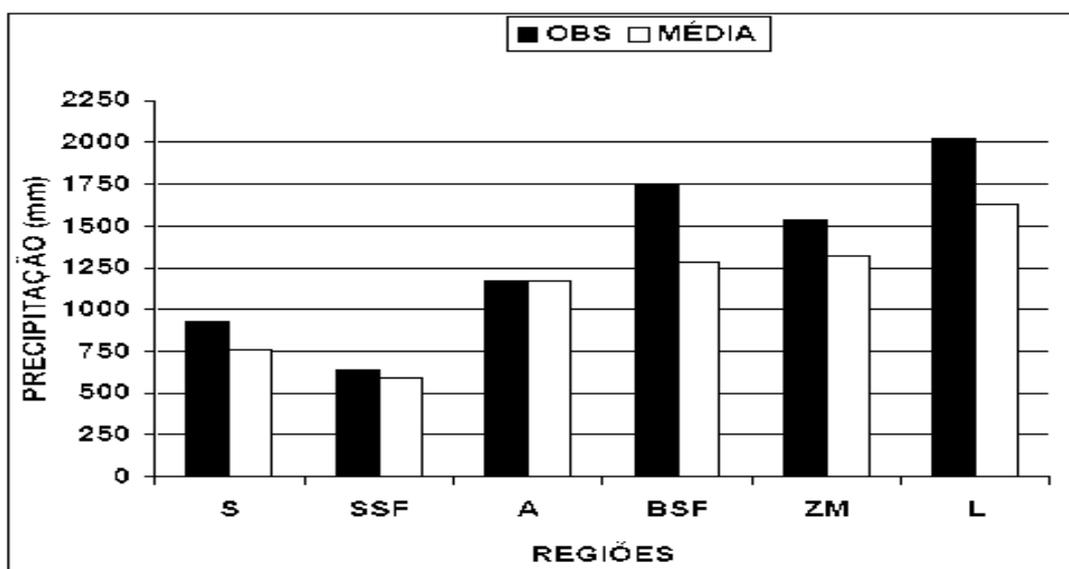


FIGURA 15 – Dados climatológicos de médias de precipitação observada e histórica acumulada, nos meses de Janeiro a Dezembro de 2008, nas mesorregiões do Estado de Alagoas: Sertão (S); Sertão do São Francisco (SSF); Agreste (A); Baixo São Francisco (BSF); Zona da Mata (ZM); e Litoral (L). Fonte: SRHMA – AL, 2009.

5.2 Produção de pólen apícola no Estado de Alagoas

A Figura 16 apresenta as médias de produção diária de pólen apícola coletado na estação seca de 2008/09, nas mesorregiões do Litoral, Sertão e Zona da Mata. A coleta refere-se ao pólen retirado, 24 h após fechamento das trampas, dos coletores de pólen de 10 colméias de cada um dos apiários experimentais dessas mesorregiões. Verificou-se que no mês de Fevereiro, a coleta do apiário da Zona da Mata, superou todos os outros meses avaliados e apiários, quando atingiu 1,399 Kg de pólen apícola no somatório das 10 caixas de criação racional de abelhas instaladas. Isso provavelmente ocorreu devido ao início de chuvas (5,0 mm, ao dia, registrados alguns dias antes da coleta) o que favoreceu a floração de várias plantas na mesorregião. Local com condições edafoclimáticas semelhantes, no

Estado da Bahia, também já apresentou produção equivalente de pólen apícola em período de seca (BARRETO *et al.*, 2006).

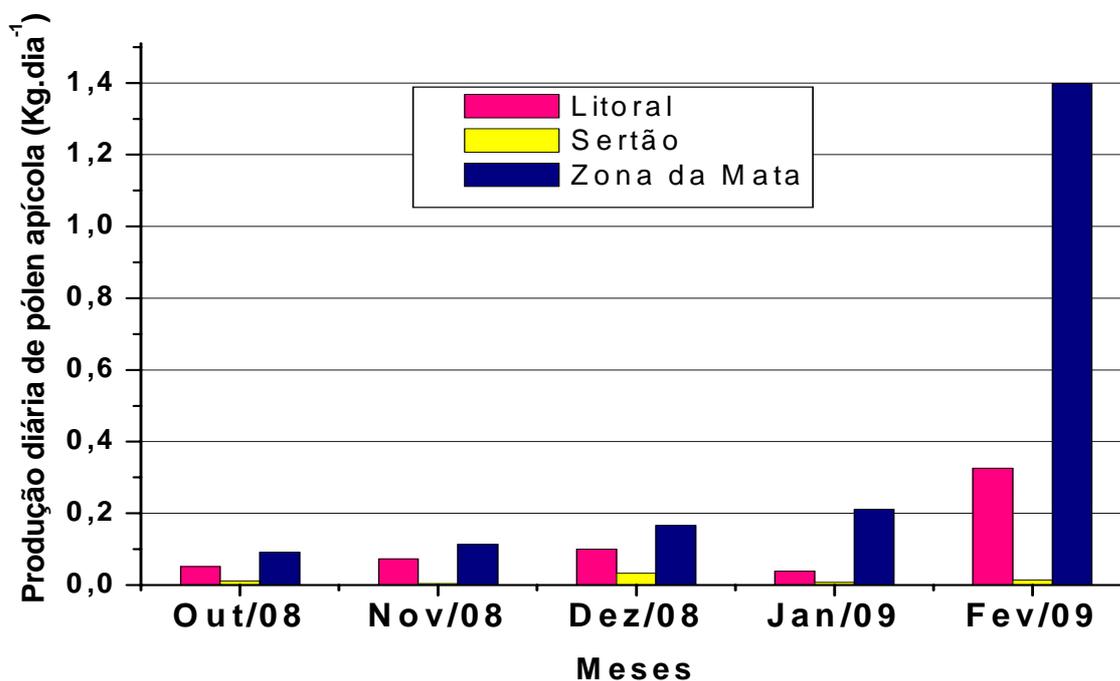


FIGURA 16 – Médias de produção diária de pólen apícola nos apiários das mesorregiões do Litoral, Sertão e Zona da Mata, na estação seca de 2008/09.

No Sertão alagoano, pela escassez das chuvas e, conseqüentemente, de floradas, nesta estação a coleta de pólen apícola foi quase insignificante em termos de produtividade (0,004 Kg em Novembro e 0,008 Kg, em Janeiro). O registro pluviométrico dessa região indicou precipitação média diária de 1,11 mm no mês de Janeiro, o único em que foram registradas chuvas nessa estação seca (2008/09). Na mesorregião litorânea, por outro lado, onde as chuvas foram mais freqüentes, atingindo precipitação média de 6,8 mm no mês de Fevereiro/09, ocorreu a produção de 0,326 Kg de pólen apícola. As chuvas regulares no Litoral e Zona da Mata, portanto, favorecem uma maior produção de pólen apícola. No entanto, todas as curvas de produção mostraram-se ascendentes.

5.3. Análise quantitativa e qualitativa de pólen

5.3.1 Apiário experimental da Zona da Mata (ZM)

No apiário “Princesa das Matas”, localizado no município de Viçosa, foram detectados 28 tipos polínicos, durante a amostragem da estação seca de 2008/09, a maioria

contribuindo com menos de 1% no espectro polínico e que não foram identificadas. Dentre as espécies identificadas, 36% foram do estrato herbáceo (*Mimosa misera*, *Croton moritibensis*, *Centratherum punctatum*, *Sida* sp, *Elephantopus mollis*) (Figura 17).

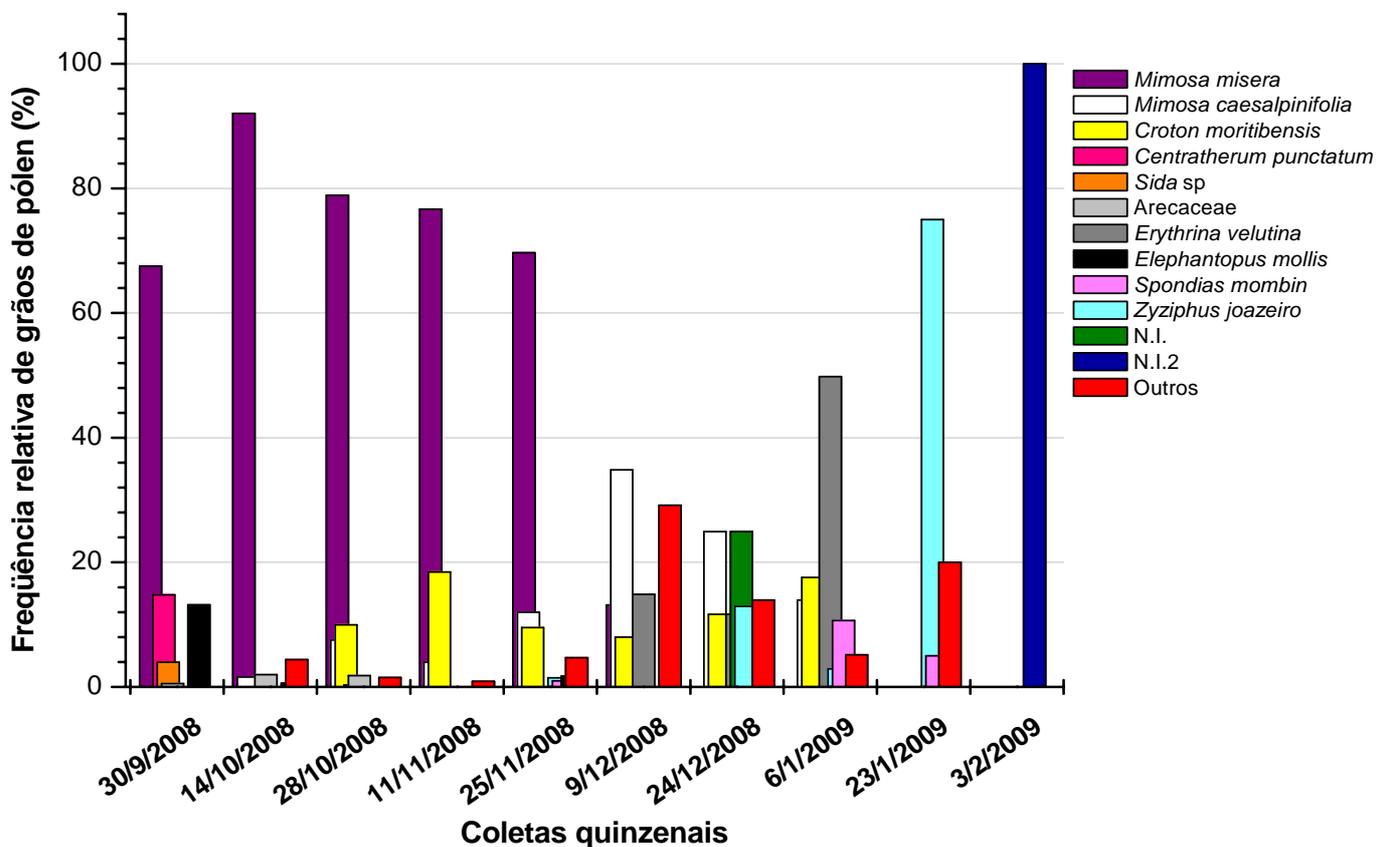


FIGURA 17. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colmeias de *Apis mellifera* do apiário “Princesa das Matas”, na mesorregião da Zona da Mata do Estado de Alagoas (estação seca 2008/09).

As espécies *Mimosa misera* Benth. (família Mimosaceae, “malícia”), *M. caesalpinifolia* Benth. (“sabiá”), *Croton moritibensis* Baill. (S) (família Euphorbiaceae, “velame”), *Centratherum punctatum* Cass. (família Asteraceae = Compositae, “vassoura roxa”), *Sida* sp (família Malvaceae, “relógio”), *Erythrina velutina* Willd. (família Fabaceae, “mulungu”), *Zyziphus joazeiro* Mart. (família Rhamnaceae, “juazeiro”), *Spondias mombin* L. (família Anacardiaceae, “cajá”) e membros da família Arecaceae foram detectadas nessa estação, sendo a herbácea “malícia” (família *Mimosaceae*), a espécie predominante no pólen apícola, com uma frequência de 67,54-92,05 %. Portanto, a

família Mimosaceae despontou, no apiário representativo da Zona da Mata (ZM), como a que mais contribuiu com a alimentação das abelhas na estação seca de 2008/09.

No início de Dezembro/08, com a floração do sabiá (*M. caesalpinifolia*), esta tornou-se a espécie de preferência das abelhas nessa região (pólen dominante na 1ª amostra do referido mês). O velame (*C. moritibensis*), depois da malícia (*Mimosa misera*), foi a espécie mais comum entre as amostras, com uma frequência de 9,45 - 18,46 %, atuando, em novembro e janeiro como pólen acessório (PA). No mês de dezembro não foi verificado nenhum tipo polínico dominante (PD), porém, três espécies (malícia, mulungu e velame) comportaram-se como pólen isolado importante (PII) que apresentaram, na coleta de 09/12/2008, frequência relativa de 13,14%, 14,85% e 8%, respectivamente. Nesta mesma coleta, o sabiá, com uma frequência de 34,85%, despontou como pólen acessório (PA). Na coleta seguinte, 24/12/2008, velame, juazeiro e mulungu foram tipos polínicos isolados importantes e o sabiá e uma espécie não identificada, apareceram como polens acessórios, com 24,91% de frequência relativa cada um. Em janeiro, o sabiá passou a ser uma espécie de menor predileção e a florada abundante de juazeiro (*Z. juazeiro*) na região o tornou pólen dominante da amostra ZM 9 (23/01/09). Na amostra ZM 10 (03/02/09), foi detectado um único tipo polínico, não identificado.

5.3.2 Apiário experimental do Litoral (L)

A diversidade de tipos polínicos na mesorregião do Litoral, contribuindo para a alimentação das abelhas na estação seca de 2008/09 foi escassa (Figura 18).

A espécie arbórea *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum (família Rubiaceae, “quina-quina”), foi a que mais se destacou na maioria das amostras e imprimiu caráter monofloral na amostra L-10 (08/02/2009).

A espécie *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (família Lamiaceae = Labiatae, “bamburral” ou “sambacaitá”), é bastante utilizada na medicina popular para o tratamento de inflamações e infecções bacterianas (ANDRADE *et al.*, 2009). Assim como *M. misera* (família Mimosaceae), é de ocorrência anual na mesorregião litorânea do Estado de Alagoas e contribuiu com a maioria das amostras coletadas. *Maytenus rigida* Mart. (família Celastraceae, “bom nome”), foi a espécie dominante na amostra L 9 (25/01/09).

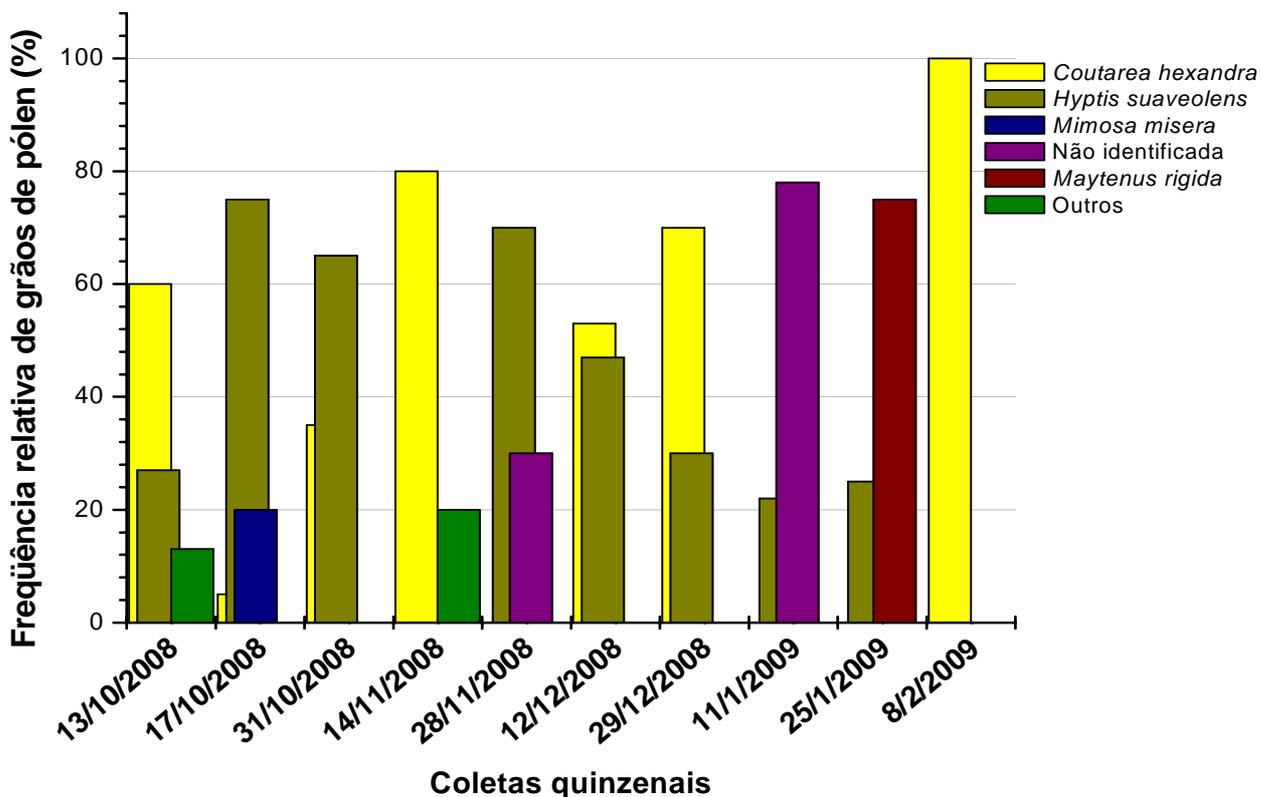


FIGURA 18. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colméias de *Apis mellifera* do apiário “Cavalo Russo”, na mesorregião litorânea do Estado.

5.3.3 Apiário experimental do Sertão (S)

No Sertão, 50% das amostras apresentaram-se como foram monoflorais, sendo *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (família Fabaceae= Leguminosae, sub-família Mimosoideae, “algaroba”), a espécie que subsidiou a alimentação das abelhas durante os meses de Outubro e Novembro/08 (Figura 19).

A algaroba é arbórea leguminosa, não oleaginosa, nativa das regiões áridas e semi-áridas das Américas, África e Ásia. Foi introduzida no Nordeste do Brasil há mais de 50 anos e, segundo Silva *et al.* (2001), é uma das raras espécies capazes de enfrentar o fenômeno adverso e periódico das secas, subsidiando a alimentação dos animais. Suas flores são pequenas e produzem grandes quantidades de néctar e pólen por longos períodos de tempo, possuindo tolerância à concentração de sais (PAECZNIK *et al.*, 2001); são uma valiosa fonte para as abelhas forrageiras.

As espécies não identificadas estavam fora da área demarcada no estudo, impossibilitando a identificação do tipo polínico, pois as abelhas precisaram coletar material muito distante de suas colméias, tendo em vista a escassez da vegetação nesta época.

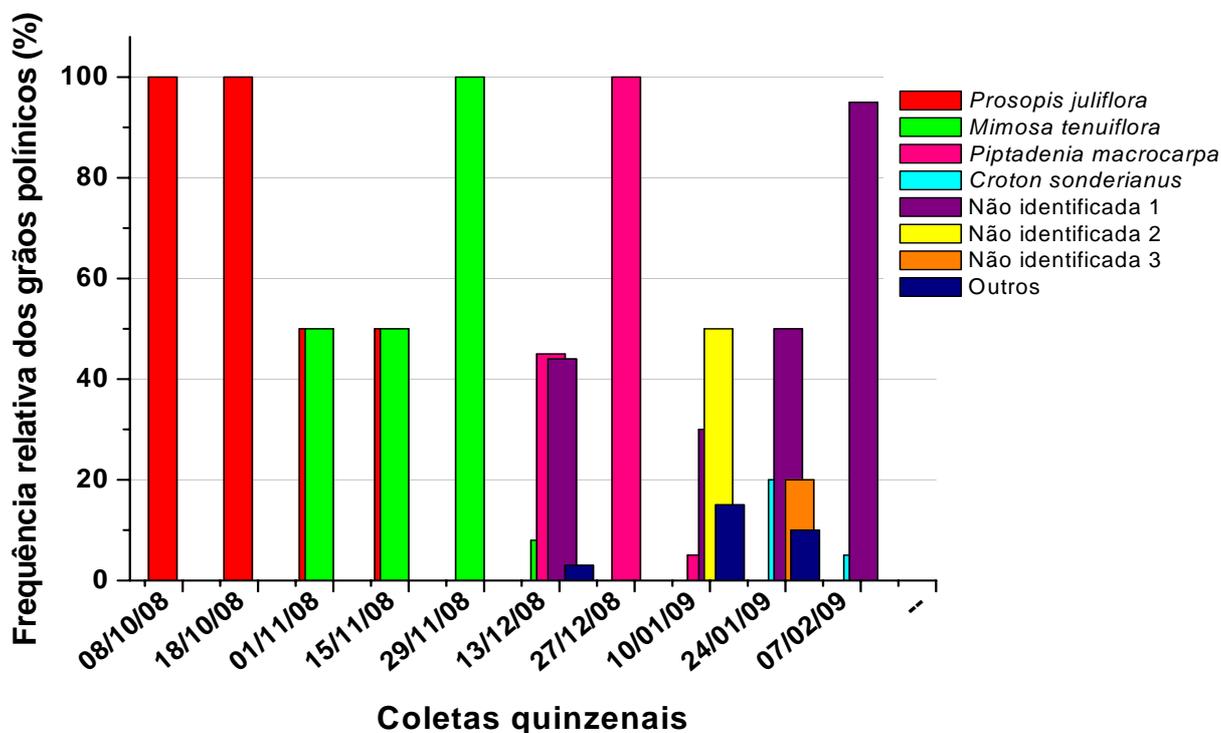


FIGURA 19. Frequência relativa dos tipos polínicos nos coletores de colméias de *Apis mellifera* do apiário “Fazenda Borboleta”, na mesorregião sertaneja do Estado.

A caatinga é a vegetação que cobre a maior parte da região Nordeste do Brasil que apresenta clima semi-árido (850,000 Km²). Sua diversidade florística tem a família Leguminosae representada por 293 espécies pertencentes a 77 gêneros e dentre eles destaca-se o gênero *Mimosa* L. com 37 espécies e 41 táxons, a maioria endêmica (LIMA, SILVA & SANTOS, 2008).

A variação mensal do número de espécies de plantas apícolas em floração está relacionada com o índice de pluviosidade, como foi observado por Carvalho & Marchini (1999) em outras áreas de caatinga. No período das chuvas, várias espécies herbáceas florescem e, embora sejam consideradas plantas invasoras às culturas, apresentam potencial apícola, como *M. misera* (malícia), *Borreria verticillata* (vassourinha de botão) e *C. moritibensis* (velame).

O pólen dominante nas amostras S2 (18/10/08), S3 (01/11/08) e S5 (29/11/08) foi o de *M. tenuiflora* Willd (“jurema-preta”), corroborando o estudo realizado por Lima (1995) em apiário experimental da caatinga cearense, em que apontou esta espécie como fornecedora de pólen durante a estação seca.

Croton sonderianus Muell (marmeleiro) apresentou-se como pólen acessório com 20% de frequência, porém, segundo Lima (1995), apesar da presença desta espécie no pasto apícola da caatinga cearense, não esteve presente na dieta das abelhas daquela região.

A *Piptadenia macrocarpa* Benth (família Fabaceae = Leguminosae, sub-família Mimosoideae, “angico”) apresentou-se como espécie dominante no pólen apícola dessa região no mês de dezembro, sendo a florada de predileção na segunda quinzena.

Um resumo das espécies, com seus nomes populares, suas respectivas famílias e números das exsicatas depositadas no Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA/AL), que contribuíram nos espectros polínicos das amostras coletadas nas mesorregiões da Zona da Mata (ZM), do Litoral (L) e do Sertão (S) está apresentado na Tabela 6.

TABELA 6. Espécies fornecedoras de pólen apícola, suas respectivas famílias, nomes populares e exsicatas, nas mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L).

5.4. Parâmetros físico-químicos avaliados nas amostras de Pólen Apícola

Mesorregiões	Espécies fornecedoras de pólen apícola	Família	Nomes populares	Exsicatas (IMA)
ZM, L	<i>Mimosa misera</i> Benth	Mimosaceae	Malícia	39.392
ZM	<i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth	Mimosaceae	Sabiá	39.393
ZM	<i>Croton moritibensis</i> Baill	Euphorbiaceae	Velame	39.394
ZM	<i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.	Rhamnaceae	Juazeiro	39.395
ZM	<i>Erythrina velutina</i> Willd	Fabaceae	Mulungu	39.396
ZM	<i>Centratherum punctatum</i> Cass.	Asteraceae	Vassoura roxa	39.397
L	<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit	Lamiaceae	Bamburral	39.398
L	<i>Maytenus rigida</i> Mart	Celastraceae	Bom nome	39.399
ZM	<i>Sida</i> sp	Malvaceae	Relógio	39.400
L	<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K. Schum	Rubiaceae	Quina-quina	39.401
ZM	<i>Spondias mombin</i> L.	Anacardiaceae	Cajá	39.402
S	<i>Piptadenia macrocarpa</i> Benth	Leguminosae	Angico	39.403
S	<i>Croton sonderianus</i> Müell.	Euphorbiaceae	Marmeleiro	39.404
S	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw) DC	Leguminosae	Algaroba	39.405

Na Tabela 7, verifica-se um resumo da análise de Normalidade (*Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*) dos parâmetros analisados, visando avaliar se os testes comparativos deveriam ser paramétricos ou não. Constatou-se que os testes não paramétricos eram recomendados para aplicação a todos os parâmetros dentro dos grupos Zona da Mata, Litoral, e Sertão.

TABELA 7. Teste de Normalidade de *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*, para as médias dos parâmetros físico-químicos avaliados em amostras de pólen apícola de abelhas africanizadas do Estado de Alagoas na estação seca de 2008/09.

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>		<i>Shapiro-Wilk</i>	
		Índice de Significância		Índice de Significância
Proteína mg de ABS . g ⁻¹	0,225	0,039	0,849	0,017
Glicídios Totais mg de sacarose . g ⁻¹	0,200	0,108	0,852	0,019
Lipídios %	0,152	0,200*	0,930	0,270
Fenóis eq. mg de ác. gálico. g ⁻¹	0,193	0,138	0,851	0,018
Flavonóides eq. mg de quercetina. g ⁻¹	0,286	0,002	0,829	0,009
FRAP eq. mg de ác. gálico. g ⁻¹	0,240	0,020	0,813	0,005
DPPH (%)	0,187	0,165	0,929	0,261

* Parâmetro de valores de distribuição normal.

A Tabela 8 apresenta os índices de significância para diferenças entre médias de um mesmo parâmetro entre amostras de pólen apícola de distintas regiões, sendo a escala crescente de diferença entre as médias estabelecida através de um *ranking* de 1-3 na Tabela 9. A Tabela 10, por outro lado, apresenta a correlação de *Spearman* para as médias dos parâmetros físico-químicos avaliados entre as amostras de polens.

As médias dos parâmetros avaliados das amostras de pólen de diferentes regiões foram significativamente distintos entre si ao nível de 95% de probabilidade com relação ao conteúdo de proteínas, lipídios, fenóis totais, FRAP e DPPH. Somente as médias de glicídio e flavonóides totais dos polens apícolas de diferentes mesorregiões não foram estatisticamente diferentes ao nível de 95% de probabilidade ($p < 0,05$).

TABELA 8. Teste de *Kruskal-Wallis* para verificar se há diferença significativa entre as amostras de pólen apícola de diferentes regiões do Estado de Alagoas, analisadas dentro de cada parâmetro (estação seca de 2008/09).

ESTATÍSTICA	Qui-quadrado	Índice de significância
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS		
Proteína mg de ABS. g ⁻¹	8,703	0,013*
Glicídios Totais mg de sacarose. g ⁻¹	2,341	0,310
Lipídios %	10,238	0,006*
Fenóis eq. mg de ác. gálico. g ⁻¹	18,351	0,000*
Flavonóides eq. mg de quercetina. g ⁻¹	3,498	0,174
FRAP eq. mg de ác. gálico. g ⁻¹	9,458	0,009*
DPPH (%)	6,170	0,046*

*95 % de probabilidade, p<0,05.

TABELA 9. *Ranking* (1-3) comparativo das médias estatisticamente diferentes entre si para cada parâmetro físico-químico entre pólen apícolas de diferentes mesorregiões do Estado de Alagoas (estação de seca 2008/09), segundo teste não paramétrico de *Kruskal Wallis*. Grupos de pólen apícola com números iguais a 1 não foram diferentes entre si, e a partir desse, as médias foram diferentes em ordem crescente.

PÓLEN DE DIFERENTES REGIÕES	Zona da Mata	Sertão	Litoral
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS			
Proteínas mg ABS. g ⁻¹	2	1	3
Glicídios Totais mg sacarose. g ⁻¹	1	1	1
Lipídios %	2	3	1
Fenóis eq. mg ác. gálico.g ⁻¹	2	3	1
Flavonóides eq. mg quercetina. g ⁻¹	1	1	1
FRAP eq. mg de ác. gálico. g ⁻¹	1	3	2
DPPH (%)	3	2	1

Pela correlação de *Spearman* (Tabela 10), os parâmetros DPPH e Fenóis totais obtiveram correlação ao nível de 99% de probabilidade (p<0,01) de 0,782 e FRAP e Flavonóides de 0,839 nas amostras coletadas na mesorregião da Zona da Mata.

Na mesorregião do Sertão, a correlação entre os dois métodos para a avaliação da atividade antioxidante dos compostos bioativos, DPPH e FRAP, foi intensamente inversa (-0,700) ao nível de 95% (p<0,05). No Litoral nenhuma correlação foi verificada.

TABELA 10. Coeficiente de correlação de Spearman entre os parâmetros físico-químicos de pólen apícola dentro de cada mesorregião estudada (Zona da Mata, Sertão e Litoral) do Estado de Alagoas, durante a estação de seca 2008/09.

Mesorregiões	Parâmetros	Proteínas (mg . mL ⁻¹)	Glicídios (mg . mL ⁻¹)	Lipídios (%)	Fenóis totais (mg . g ¹)	Flavonóides (mg . g ¹)	FRAP (mg . g ¹)	DPPH (%)
Zona da Mata	Proteínas (mg.g ⁻¹)	1,000	0,426	-0,100	0,140	-0,389	-0,189	-0,182
	Glicídios (mg.g ⁻¹)	0,426	1,000	-0,300	0,564	-0,103	0,286	0,297
	Lipídios (%)	-0,100	-0,300	1,000	-0,300	0,600	-0,100	-0,800
	Fenóis totais (mg.g ⁻¹)	0,140	0,564	-0,300	1,000	0,503	0,608	0,782**
	Flavonóides (mg.g ⁻¹)	-0,389	-0,103	0,600	0,503	1,000	0,839**	0,527
	FRAP (mg . g ¹)	-0,189	0,286	-0,100	0,608	0,839**	1,000	0,590
	DPPH (%)	-0,182	0,297	-0,800	0,782	0,527	0,590	1,000
Sertão	Proteínas (mg.g ⁻¹)	1,000	0,103	-0,600	-0,588	-0,115	-0,188	0,063
	Glicídios (mg.g ⁻¹)	0,103	1,000	-0,100	-0,370	-0,212	0,115	0,025
	Lipídios (%)	-0,600	-0,100	1,000	-0,200	0,700	0,100	0,051
	Fenóis totais (mg.g ⁻¹)	-0,588	-0,370	-0,200	1,000	0,273	0,285	0,031
	Flavonóides (mg.g ⁻¹)	-0,115	-0,212	0,700	0,273	1,000	0,115	-0,263
	FRAP (mg.g ⁻¹)	-0,188	0,115	0,100	0,285	0,115	1,000	-0,700*
	DPPH (%)	0,063	0,025	0,051	0,031	-0,263	-0,700*	1,000
Litoral	Proteínas (mg.g ⁻¹)	1,000	0,249	0,564	-0,182	0,232	0,596	0,468
	Glicídios (mg.g ⁻¹)	0,249	1,000	0,154	-0,418	0,122	0,467	-0,067
	Lipídios (%)	0,564	0,154	1,000	-0,667	0,564	0,051	-0,467
	Fenóis totais (mg.g ⁻¹)	-0,182	-0,418	-0,667	1,000	-0,517	-0,152	0,212
	Flavonóides (mg.g ⁻¹)	0,232	0,122	0,564	-0,517	1,000	0,255	0,492
	FRAP (mg.g ⁻¹)	0,596	0,467	0,051	-0,152	0,255	1,000	0,467
	DPPH (%)	0,468	-0,067	-0,462	0,212	0,492	0,467	1,000

*Correlação significativa ao nível de 95% (p<0,05);

** Correlação significativa ao nível de 99% (p<0,01).

Na Tabela 11, verifica-se a correlação entre os parâmetros avaliados. A correlação entre os conteúdos de proteínas e fenóis totais foi inversa (-0,412) e significativa ao nível de 95% ($p < 0,05$). Entre lipídios e fenóis totais foi de 0,660, assim como entre lipídios e flavonóides totais, apresentou-se correlação de 0,648, ao nível de 99% ($p < 0,01$). Em relação ao conteúdo de fenóis e flavonóides totais e o método FRAP, as correlações foram de 0,582 e 0,488, respectivamente, ambas ao nível de 99%. Em relação ao método do DPPH e fenóis totais, a correlação foi de 0,515, ao nível de 99%.

TABELA 11. Coeficiente de correlação de *Spearman* entre os parâmetros avaliados em pólen apícola das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Litoral (L) e Sertão (S).

Parâmetros	Proteínas (mg.mL ⁻¹)	Glicídios (mg.mL ⁻¹)	Lipídios (%)	Fenóis totais (mg.g ⁻¹)	Flavonóides (mg.g ⁻¹)	FRAP (mg.g ⁻¹)	DPPH (%)
Proteínas (mg. g⁻¹)	1,000	0,124	-0,150	-0,412*	-0,191	-0,311	-0,058
Glicídios (mg. g⁻¹)	0,124	1,000	0,159	0,080	-0,141	0,256	0,037
Lipídios (%)	-0,150	0,159	1,000	0,660**	0,648**	0,375	0,202
Fenóis totais (mg. g⁻¹)	-0,412*	0,080	0,660**	1,000	0,361	0,582**	0,515**
Flavonóides (mg. g⁻¹)	-0,192	-0,041	0,648**	0,361	1,000	0,488**	0,330
FRAP (mg. g⁻¹)	-0,311	0,256	0,375	0,582**	0,488**	1,000	0,317
DPPH (%)	-0,058	0,037	0,202	0,515**	0,330	0,317	1,000

*Correlação significativa ao nível de 95% ($p < 0,05$);

** Correlação significativa ao nível de 99% ($p < 0,01$).

5.4.1 Composição físico-química do pólen apícola

Os conteúdos de proteínas, glicídios e lipídios totais para os pólenes apícolas amostrados nas mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral do Estado de Alagoas, na estação seca de 2008/09, estão ilustrados na Tabela 12.

O método correntemente utilizado para avaliar proteínas em alimentos, incluindo o pólen, é o micro Kjedahl, que quantifica nitrogênio total e através de um fator de correção (6,25), obtém-se a porcentagem de proteína bruta (ALMEIDA-MURADIAN, 2005; CARPES, 2008; MARCHINI, REIS & MORETI, 2006; MODRO, 2006). No entanto, o método de Lowry é bem mais específico e sensível para ligações peptídicas, tendo sido utilizado neste trabalho apesar de requerer mais tempo para a análise e a absorvidade ser altamente variável para diferentes proteínas.

TABELA 12. Conteúdo de proteínas, glicídios e lipídios totais de amostras de pólen das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L) do Estado de Alagoas (estação seca de 2008/09).

Amostras	Coleta/data	Proteínas totais (eq. mg ASB. g ⁻¹)	Glicídios totais (eq. mg sacarose. g ⁻¹)	Lipídios totais (%)	pH
ZM 1	30/09/2008	138,0	422,0	4,380	4,90
ZM 2	14/10/2008	122,0	355,0		4,90
ZM 3	28/10/2008	222,0	504,0	5,460	5,10
ZM 4	11/11/2008	214,0	520,0		5,20
ZM 5	25/11/2008	228,0	556,0	5,620	5,60
ZM 6	09/12/2008	125,0	228,0		5,50
ZM 7	24/12/2008	170,0	296,0	4,070	5,60
ZM 8	06/01/2009	135,0	376,0		5,80
ZM 9	23/01/2009	129,0	385,0	5,000	5,70
ZM 10	07/02/2009	129,0	225,0		5,70
Média (ZM)		162,0	386,7	4,910	5,40
SD		± 43,0	± 106,2	± 0,006	± 0,34
S 1	8/10/2008	148,0	412,0	5,070	5,80
S 2	18/10/2008	127,0	506,0		5,80
S 3	1/11/2008	152,0	384,0	4,920	6,30
S 4	15/11/2008	131,0	528,0		6,10
S 5	29/11/2008	125,0	403,0	7,740	6,00
S 6	13/12/2008	83,0	377,0		6,40
S 7	27/12/2008	117,0	339,0	6,380	6,40
S 8	10/01/2009	112,0	458,0		6,10
S 9	24/01/2009	111,0	405,0	5,500	6,20
S 10	07/02/2009	116,0	509,0		5,90
Média (S)		122,0	432,1	5,920	6,10
SD		± 19,0	± 64,3	± 0,010	± 0,22
L 1	13/10/2008	154,0	338,0	3,390	4,90
L 2	17/10/2008	132,0	539,0		5,20
L 3	31/10/2008	150,0	549,0	2,980	5,30
L 4	14/11/2008	138,0	469,0		5,10
L 5	28/11/2008	121,0	541,0	3,370	5,50
L 6	12/12/2008	168,0	401,0		5,50
L 7	29/12/2008	124,0	520,0	2,980	5,70
L 8	11/01/2009	225,0	535,0		5,90
L 9	25/01/2009	332,0	470,0	3,020	5,90
L 10	08/02/2009	212,0	252,0		5,90
Média (L)		176,0	461,4	3,150	5,49
SD		± 65,0	± 100,9	± 0,002	± 0,36

Na Zona da Mata, o conteúdo de proteínas totais do pólen apícola, na estação da seca de 2008/09, variou de 125,0-228,0 eq. mg de albumina de soro bovino.g⁻¹, enquanto

no Sertão, este variou de 83,0- 152,0 eq. mg de albumina de soro bovino.g⁻¹, e no Litoral essa variação foi de 121,0- 332,0 eq. mg de albumina de soro bovino.g⁻¹. Ocorreu diferença significativa entre as médias das amostras das mesorregiões estudadas (Tabela 8) e este parâmetro apresentou correlação inversa (-0,412) com fenóis totais ao nível de 95% (p< 0,05) (Tabela 11).

Com relação aos glicídios totais, as médias na estação seca 2008/09, para as diferentes mesorregiões, não apresentaram diferença estatisticamente significativa (p< 0,05), sendo de 386,7 eq.mg.g⁻¹ para Zona da Mata, 431,1 eq.mg.g⁻¹ para o Sertão e 461,4 eq.mg.g⁻¹ para o Litoral (Tabela 8). Carpes (2008), analisando os glicídios totais em 36 amostras de pólen apícola da região sul do Brasil, encontrou média 60,42 eq.g glicose. 100 g⁻¹. Modro (2006) encontrou média de 66,3% de glicídios em pólen apícola do município de Viçosa em Minas Gerais, que é de domínio de Mata Atlântica. Marchini, Reis e Moreti (2006) obtiveram média de 28,4% para as amostragens de pólen apícola por tais pesquisadores estudadas. A comparação entre os resultados é dificultada não só pela sazonalidade e regionalidade, mas pelo uso de metodologias diferentes. Segundo Almeida-Muradian & Penteado (2007), o método utilizado para o controle de qualidade é o titulométrico de Fehling, que determina o conteúdo de glicídios totais e de glicídios redutores.

Demiate *et al.* (2002), analisando glicídios redutores e totais em diferentes tipos de alimentos, empregando métodos titulométricos e colorimétricos, concluíram que estes não apresentaram diferença significativa ao nível de 99% de significância, indicando que qualquer dos tipos pode ser usado na quantificação dos glicídios em alimentos, com a obtenção de resultados confiáveis e seguros.

As médias registradas para lipídios foram maiores na mesorregião sertaneja, variando de 4,92-7,74 %. Na Zona da Mata, o pólen apícola apresentou conteúdo total de lipídios variando de 4,07-5,62 % e, no Litoral, esse conteúdo variou de 2,98-3,39 %. Dentre as médias das amostras ocorreu diferença significativa, sendo todas elas avaliadas estão dentro dos limites preconizados pela legislação, que requer o mínimo de 1,8% de lipídios totais em pólen apícola (BRASIL, 2001). Com relação a este parâmetro, as médias entre as mesorregiões apresentaram diferença significativa (Tabela 8) e apresentaram correlação com fenóis e flavonóides totais de 0,660 e 0,648, respectivamente, ao nível de 99% (p< 0,01) (Tabela 11).

Estudos de Carpes (2008) com pólen apícola dos Estados de Santa Catarina, Rio

Grande do Sul e Paraná, revelam que os teores médios de lipídios variaram de 3,72-6,47%. Modro (2006), avaliando amostras de pólen coletadas em apiário experimental em Viçosa (Minas Gerais), durante os meses de Agosto-Novembro, detectou o conteúdo de 0,19- 5,56 % de lipídios totais. Da mesma forma, estudos de Marchini, Reis & Moreti (2006), durante um ano, demonstraram que os teores lipídicos nas amostras de pólen coletadas em Piracicaba (SP) variaram de 2,2-5,1 %. O método utilizado por estes autores é o método do extrator de Soxhlet, indicado pela legislação vigente (ALMEIDA-MURADIAN & PENTEADO, 2007). Todas as amostras apresentaram pH dentro dos limites aceitos pela legislação vigente e não houve diferença significativa para esse parâmetro entre polens apícolas de mesorregiões diferentes.

5.4.2 Determinação de fenóis, flavonóides totais e ação antioxidante

O conteúdo de fenóis totais, flavonóides, atividade antioxidante (através dos métodos FRAP e DPPH) para os polens apícolas amostrados nas mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral do Estado de Alagoas, na estação seca de 2008/09, estão ilustrados nas Figuras 20-21 e na Tabela 13.

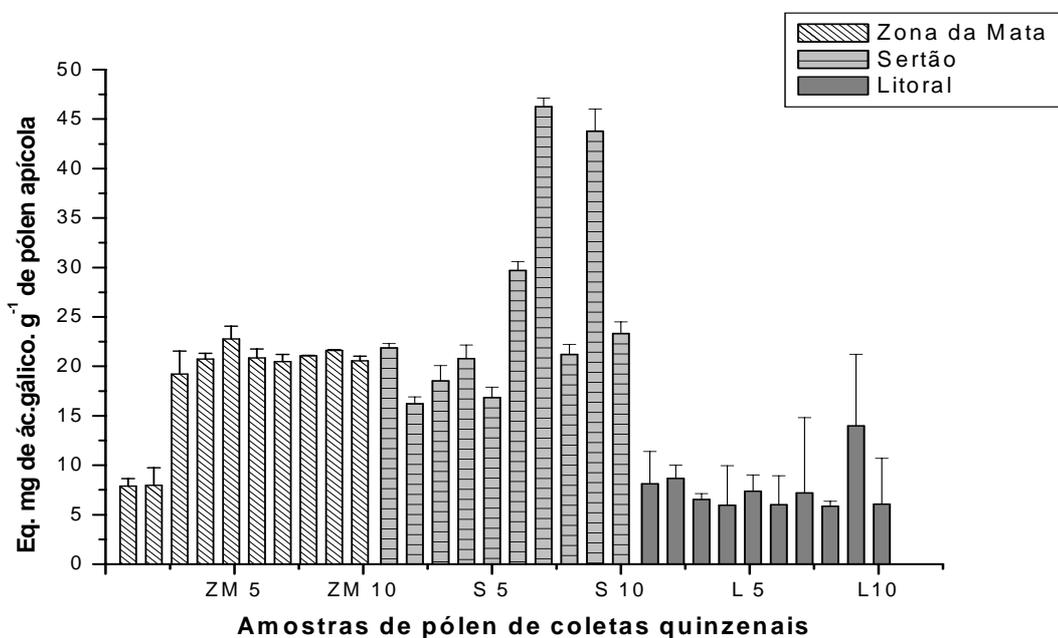


FIGURA 20. Conteúdo de fenóis totais das amostras de pólen apícola das mesorregiões da Zona da Mata (ZM1 – ZM10), Sertão (S1 – S10) e Litoral (L1 – L10) do Estado de Alagoas, na estação seca de 2008/09. Médias e desvios.

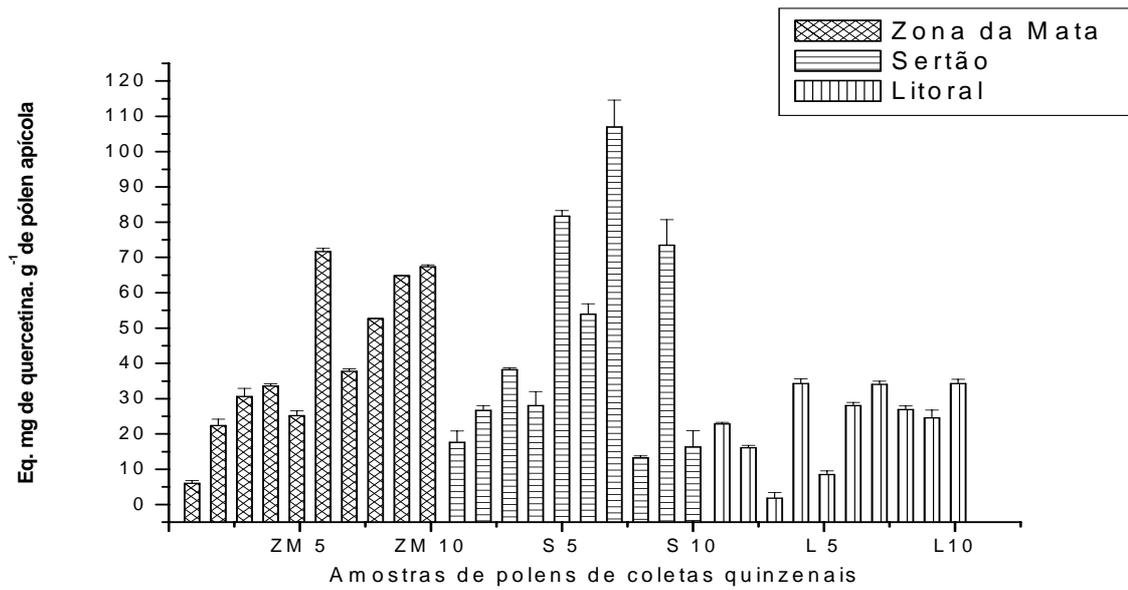


FIGURA 21. Conteúdo de flavonóides totais das amostras de pólen apícola das mesorregiões da Zona da Mata (ZM1 – ZM 10), Sertão (S1 – S10) e Litoral (L1 – L10) do Estado de Alagoas, na estação seca de 2008/09. Médias e desvios.

TABELA 13. Conteúdo de fenóis, flavonóides totais e atividade antioxidante (métodos FRAP e DPPH) de amostras de pólen das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L) do Estado de Alagoas (estação seca de 2008/09).

Amostras	Coleta/ data	Fenóis (eq. mg ác. gálico g ⁻¹)	Flavonóides (eq. mg quercetina . g ⁻¹)	FRAP (mg . g ⁻¹ ác. gálico g ⁻¹)	DPPH (%)
ZM 1	30/09/08	7,90	6,04	4,73	66,95
ZM 2	14/10/08	7,97	22,38	4,73	69,64
ZM 3	28/10/08	19,24	30,60	16,85	63,03
ZM 4	11/11/08	20,73	33,64	27,08	68,05
ZM 5	25/11/08	22,76	25,20	61,17	77,96
ZM 6	09/12/08	20,85	71,72	83,14	77,60
ZM 7	24/12/08	20,48	37,74	85,03	72,46
ZM 8	06/01/09	21,05	52,68	88,06	76,86
ZM 9	23/01/09	21,60	64,80	123,67	75,55
ZM 10	07/02/09	20,55	67,40	141,85	76,55
Média (ZM)		18,31	41,22	63,63	72,46
SD		± 5,54	± 21,94	± 49,02	± 5,25
S1	8/10/08	21,88	17,62	101,32	75,03
S 2	18/10/08	16,22	26,70	77,08	66,95
S 3	01/11/08	18,54	38,18	88,44	70,62
S 4	15/11/08	20,80	28,00	109,66	66,95
S 5	29/11/08	16,84	81,68	89,96	68,05
S 6	13/12/08	29,71	53,98	225,94	66,95
S 7	27/12/08	46,25	107,00	237,31	66,58
S 8	10/01/09	21,20	13,28	250,19	66,95
S 9	24/01/09	43,78	73,46	81,63	75,57
S 10	07/02/09	23,31	16,32	53,22	78,58
Média (S)		25,85	45,62	131,47	70,22
SD		± 10,80	± 32,19	± 75,08	± 4,50
L 1	13/10/08	8,12	22,82	40,71	70,62
L 2	17/10/08	8,66	16,10	10,03	42,59
L 3	31/10/08	6,54	1,82	46,40	42,35
L 4	14/11/08	5,94	34,28	41,09	50,30
L 5	28/11/08	7,37	8,52	35,41	53,36
L6	12/12/08	6,01	28,00	37,30	63,89
L 7	29/12/08	7,20	34,06	61,92	74,66
L 8	11/01/09	5,85	26,92	73,67	54,71
L9	25/01/09	13,98	24,54	103,22	75,47
L10	08/02/09	6,05	34,28	43,75	74,67
Média (L)		7,57	23,13	49,35	60,26
SD		± 2,45	± 11,18	± 25,21	± 13,23

Apesar dos muitos estudos visando quantificar fenóis em pólen apícola, poucos associam tal composição à estação de coleta ou à sua origem botânica.

No Sertão, apesar da escassez das espécies que subsidiem a alimentação das abelhas na época de seca, o pólen dessa região foi o que mais se destacou em termos de conteúdo de fenóis, com valores que chegaram a 46,25 eq. mg ác. gálico.g⁻¹ na florada de angico (*P. macrocarpa*), predominante na amostra S7. O conteúdo de fenóis totais em todas as amostragens do pólen apícola do Sertão (Tabela 13, Figura 20) variou de 16,22-46,25 eq. mg ác. gálico.g⁻¹, sendo que tais amostras foram majoritariamente (50%) monoflorais. Analisando polens do gênero *Prosopis*, comum nas amostras do Sertão, LeBlanc *et al.* (2009) encontraram conteúdo de fenóis totais de 29,38 mg.g⁻¹, valor próximo aos encontrados no presente trabalho e que podem estar envolvidos com fenologia da planta relacionada à sua origem geográfica. Nesta região, houve correlação inversa (-0,700) entre os métodos de avaliação do potencial antioxidante (DPPH e FRAP), tendo em vista que, o primeiro método verifica a inibição (%) da ação do antioxidante, reduzido pelo radical orgânico DPPH, e o segundo se presta a quantificar o teor de antioxidantes presentes nas amostras.

Na Zona da Mata, por outro lado, o pólen apícola apresentou variação na concentração de fenóis totais (Tabela 13, Figura 20) entre 7,9 e 22,8 eq. mg ác. gálico.g⁻¹, sendo que da amostra ZM3 a ZM10, os valores foram bem próximos, variando de 19,0 e 22,76 eq. mg ác. gálico.g⁻¹. Apesar de ter sido a mesorregião que apresentou a maior diversidade no espectro polínico (Figura 16), as herbáceas são predominantes, e estas não são ricas em compostos fenólicos. Estudos de LeBlanc *et al.* (2009) demonstram que o pólen floral de *Mimosa* sp. apresentou uma média de 15,91 mg de fenóis totais.g⁻¹, valor este bem próximo daquele encontrado nas amostras de pólen apícola da Zona da Mata, e todas elas, exceto ZM 10, tiveram a contribuição de duas espécies do mesmo gênero, *M. misera* e *M. caesalpinifolia* (como polens dominantes ou acessórios). Nesta região, a correlação entre fenóis totais e o método do DPPH foi de 0,782 e, entre flavonóides e o método FRAP, a correlação encontrada foi de 0,839, ambas ao nível de 99% (p <0,01).

No Litoral, as amostras de pólen apícola apresentaram menor conteúdo de fenóis totais, oscilando entre 5,9 e 14,0 eq. mg ácido gálico.g⁻¹ (Tabela 13, Figura 20). Isso sugere que as espécies presentes no espectro polínico das amostras não possuem altos teores de fenóis. Nenhuma correlação foi encontrada entre estes parâmetros nesta região.

Com relação ao conteúdo de flavonóides totais (Tabela 13, Figura 21), o pólen

apícola da Zona da Mata o apresentou valores entre 6,04 e 71,72 eq. mg Quercetina. g⁻¹. Na mesorregião do Litoral, esses valores oscilaram entre 1,32 e 24,38 eq. mg Quercetina. g⁻¹. No Sertão, o pólen apícola apresenta conteúdo de flavonóides totais variando de 17,62- a 107,0 eq. mg Quercetina. g⁻¹. Estudos de LeBlanc *et al.* (2009), analisando pólen de espécies do gênero *Prosopis*, bastante representada no pólen apícola do Sertão, detectou 26,56 eq. mg Quercetina. g⁻¹.

Os flavonóides podem ser utilizados na determinação da origem botânica do pólen apícola (TOMÁS-LORENTE *et al.*, 1992), porém, segundo Almaráz-Abarca *et al.* (2004), o perfil de compostos fenólicos das amostras de pólen apícola é mais importante que o de conteúdo de flavonóides na avaliação da ação antioxidante desses polens. Isso foi demonstrado nos coeficientes de correlação entre fenóis totais e os dois métodos utilizados no presente trabalho para verificar tal atividade, obtendo-se para fenóis totais e FRAP, coeficiente de 0,582 e para este e o método do DPPH, coeficiente de 0,548; enquanto que, para flavonóides totais e FRAP, o coeficiente foi de 0,488. Todas as correlações foram obtidas ao nível de 99% (p <0,01).

Com relação à atividade antioxidante, determinada através dos métodos FRAP e DPPH, os valores obtidos para o pólen apícola do Sertão do Estado, na estação seca de 2008/09, foram os mais elevados, variando entre 53,22 a 250,29 mg ác. gálico. g⁻¹, dados esses que corroboram estudos de LeBlanc *et al.* (2009), segundo os quais o pólen coletado durante o período de seca, em lugares onde as chuvas são escassas, tem uma maior atividade antioxidante que o pólen coletada na estação de chuva.

As mesorregiões da Zona da Mata e Litoral apresentaram concentração de antioxidantes variando respectivamente entre 4,73 e 141,85 eq. mg ác. gálico. g⁻¹ e entre 10,03-103,22 eq. mg ác. gálico. g⁻¹. Isso se deve, provavelmente, ao clima mais ameno do que o do sertão, e aos índices pluviométricos, que nestas regiões também são bem mais elevados que no Sertão.

Os antioxidantes incluem compostos fenólicos, vitaminas E e C, e carotenóides, e são aceitos como os nutrientes efetivos na prevenção do estresse oxidativo e doenças correlacionadas (HUANG, OU & PRIOR, 2005).

Segundo Sánchez-Moreno (2002), o método do DPPH é considerado fácil e acurado para medir a capacidade antioxidante de frutas, vegetais ou extratos, porém, as médias avaliadas para a atividade antioxidante através deste método foram muito semelhantes para as três mesorregiões, não existindo diferença significativa entre estas.

Carpes *et al.* (2007), analisando estes compostos em extrato etanólico de pólen 70% (EEP) de amostra de pólen alagoano encontrou concentração menor que 8,1 mg ác.gálico. g⁻¹ de pólen. Bonvehí, Torrentò & Lorente (2001), estudando 11 amostras de pólen apícola do oeste da Espanha, detectaram concentrações de fenóis totais entre 8.7 e 14.6 mg ác.gálico. g⁻¹. Campos *et. al.* (2003), por sua vez, avaliando o conteúdo fenólico de amostras de pólen coletadas em Portugal e Nova Zelândia, obtiveram teores de 10-32,5 mg. g⁻¹. Liu *et al.* (2006), em estudo sobre a preferência de *Apis cerana* por pólen de espécies de plantas com baixo teor fenólico, detectaram valores de 8,0-11,2 mg.g⁻¹. Quando foram comparadas extrações com diferentes solventes, Kroyer & Hegedeus (2001) verificaram que o extrato etanólico a 50% permitiu uma extração mais eficiente destes compostos em pólen, obtendo concentração média de 24,6 mg.g⁻¹.

Leja *et al.* (2007), detectaram valores semelhantes aos do presente trabalho para duas espécies de pólen apícola das 12 que estudaram (12,9 mg.g⁻¹ para pólen apícola de área cultivada com *Zea mays* e 15,1 mg.g⁻¹ para pólen apícola de área cultivada com *Trifolium* sp).

5.4.3. Análises qualitativas em cromatografia em camada delgada (CCD)

As amostras ZM1, ZM2, ZM4, ZM5, ZM6, S1, S2, S6 – S10, L2, L3, L5 e L8 – L10 foram submetidas à cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando-se o sistema de solventes clorofórmio: metanol: n-propanol: água (5:6:1:4 v:v:v:v), visando obter-se o perfil de compostos fenólicos, flavonóides e antioxidantes presentes nas mesmas. Para tanto, os reveladores cloreto férrico (FeCl₃) 2%, reagente de Folin-Ciocalteu (1:10) e cloreto de alumínio (AlCl₃) 10% foram aplicados. Como padrões, foram utilizadas soluções de ácido gálico (AG), quercetina (Q) e rutina (R). Os fatores de retenção (RFs) de cada banda na presença de reveladores específicos estão descritos na Tabela 14.

TABELA 14. Perfil Cromatográfico (CCD), com respectivos fatores de retenção (RFs) de bandas reveladas por soluções específicas para compostos fenólicos, flavonóides e antioxidantes.

Amostras	Reveladores		
	Cloreto férrico 2% (FeCl ₃)	Folin-Ciocalteu (1:10)	Cloreto de alumínio 10% (AlCl ₃)
Fatores de Retenção (RF)			
AG	0,86	0,86	0,86
Q	0,865	0,86	0,86
R	-	-	0,865
ZM 1	-	0,76	
ZM 2	-	-	0,93
ZM 4	0,85	-	-
ZM 5	-	0,87	-
ZM 6	-	-	0,88 e 0,93
S 1	0,89	-	-
S 2	-	0,88	-
S 6	-		0,91
S 7	-	0,88	0,91
S 8	0,88		0,86 e 0,93
S 9	-	0,90	-
S 10	0,90	-	-
L 2	0,76	-	-
L 3	-	-	0,93
L 5	-	-	0,96
L 8	0,83	-	-
L 9	0,84	-	-
L 10	-	-	0,85, 0,90 0,97

Todas as amostras apresentaram bandas com Rfs bastante semelhantes e que coloriram-se de azul ao serem aspergidas pelo reagente de Folin Ciocalteu, específico para compostos fenólicos (Figura 22).

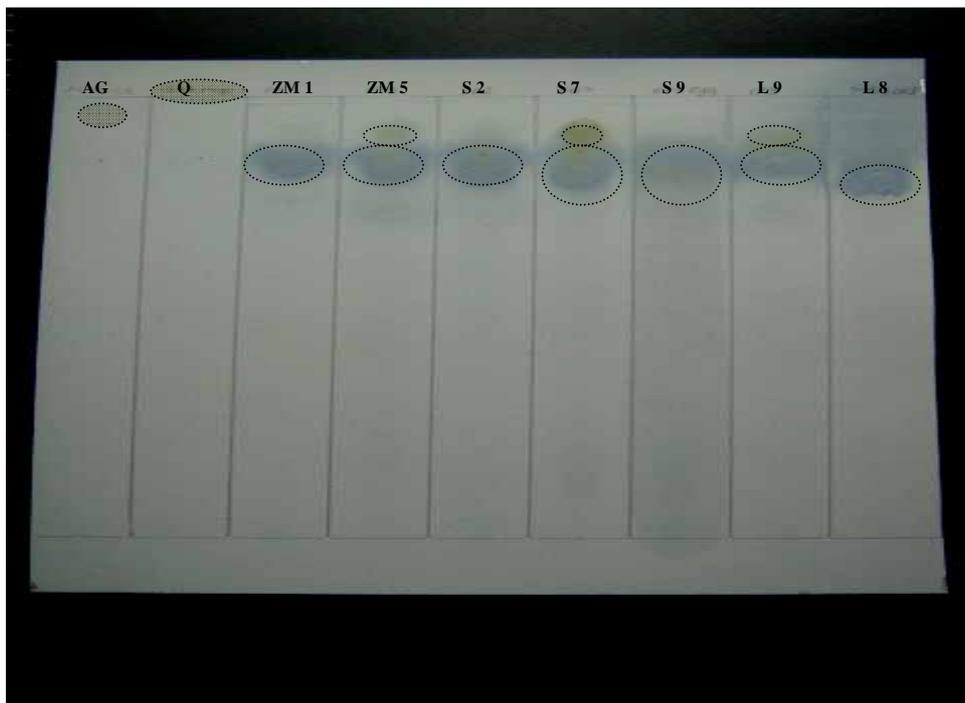


FIGURA 22. Perfil cromatográfico (CCD) de compostos fenólicos de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP). Placa revelada com reagente de Folin-Ciocalteu (1:10).

No cromatograma revelado com FeCl_3 , o qual é específico para substâncias antioxidantes, observou-se que todas as amostras, exceto a L2 (RF= 0,76), tiveram RF próximos ou superiores aos dos padrões utilizados, sugerindo que há compostos que possuem essa atividade em todas as amostras testadas (Figura 22).

Por outro lado, bandas mais intensas foram observadas nas amostras S6 e S7 reveladas com solução de cloreto de alumínio (Figura 24), a qual é específica para flavonóides. Porém, apesar da menor concentração (intensidade) das bandas de flavonóides das amostras L3 e L5, ambas apresentaram Rfs muito semelhantes, indicando tratar-se dos mesmos tipos de flavonóides, assim como aquelas das demais amostras exceto L10.

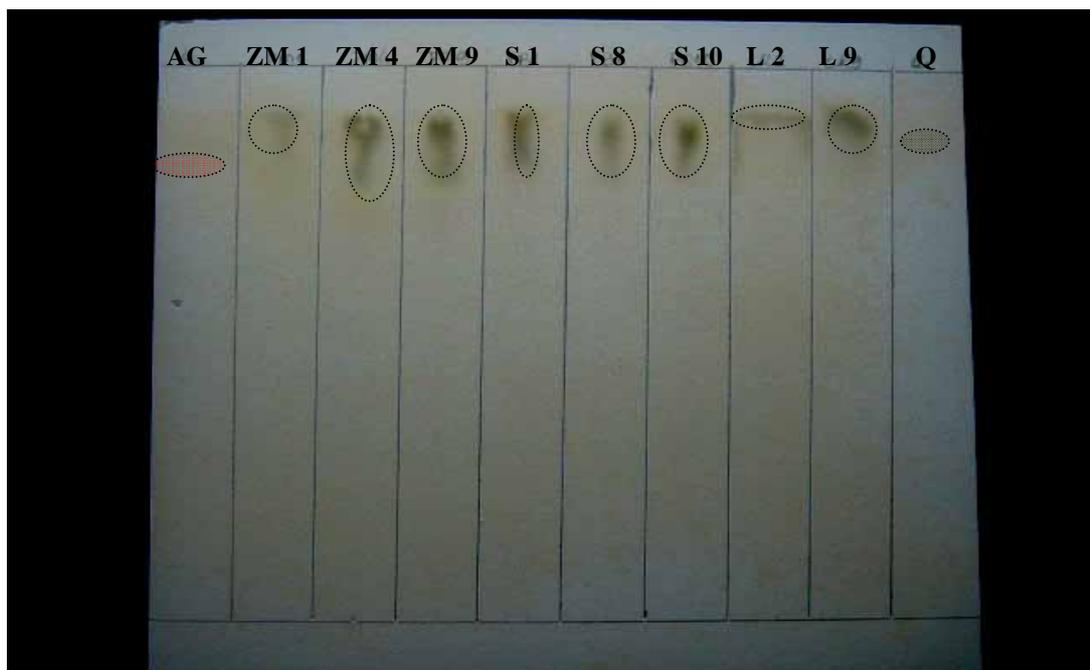


FIGURA 23. Perfil cromatográfico (CCD) de antioxidantes de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP). Placa revelada com cloreto férrico 2% (FeCl_3).



FIGURA 24. Perfil cromatográfico (CCD) de flavonóides de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP). Placa revelada com cloreto de alumínio (AlCl_3).

5.5 Atividade Antibacteriana de Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP)

Os extratos hidroetanólicos de pólen (EEP) não apresentaram ação bactericida na concentração testada frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* (Tabela 15).

TABELA 15. Teste de sensibilidade de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Helicobacter pylori* aos extratos hidro-etanólicos de pólen das mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral alagoano. (Médias \pm desvio padrão).

AMOSTRAS	HALO DE INIBIÇÃO (mm) DE MICRORGANISMOS			
	EEPs	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>
ZM 1	0	0	0	0
ZM 2	0	0	0	0
ZM 3	0	0	0	0
ZM 4	0	0	0	0
ZM 5	0	0	0	0
ZM 6	0	0	0	0
ZM 7	0	0	0	0
ZM 8	0	0	0	0
ZM 9	0	0	0	0
ZM 10	0	0	0	0
S 1	0	0	0	0
S 2	0	0	0	0
S 3	0	0	0	0
S 4	0	0	0	0
S 5	0	0	0	0
S 6	0	0	0	0
S 7	0	0	0	0
S 8	0	0	0	0
S 9	0	0	0	0
S 10	0	0	0	0
L 1	0	0	0	0
L 2	0	0	0	0
L 3	0	0	0	0
L 4	0	0	0	0
L 5	0	0	0	0
L 6	0	0	0	0
L 7	0	0	0	0
L 8	0	0	0	0
L 9	0	0	0	0
L 10	0	0	0	0
H ₂ O estéril ^a	0	0	0	0
EtOH 70% ^a	0	0	0	0
Norfloxacina ^b	0,0 \pm 0,0	26,36 \pm 0,46	17,10 \pm 4,10	35,43 \pm 1,70
Eritromicina ^b	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	12,33 \pm 1,62	32,35 \pm 0,78
Vancomicina ^b	8,8 \pm 0,42	13,86 \pm 0,61	36,23 \pm 0,40	33,95 \pm 0,0

^aControle - ; ^bControle +.

Apesar dos EPP das amostras de pólen da mesorregião do Sertão apresentarem alto conteúdo de fenóis com elevado potencial antioxidante, verificados através do método do poder antioxidante redutor do ferro (FRAP), estes não foram capazes de inibir a atividade bacteriana através do método estudado.

Estes resultados corroboram estudos de Carpes (2008), que utilizou o mesmo método aplicado neste trabalho, com extratos etanólicos de amostras de pólen apícola dos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, não constatando inibição bacteriana frente às bactérias *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas axonopodis* e *Pseudomonas syringae*.

Basim, Basim & Özcan (2006) verificaram atividade antimicrobiana de extrato metanólico de pólen para 13 diferentes espécies de fitopatógenos, que atacam frutas e vegetais, sendo que o pólen apícola apresentou atividade contra todas as bactérias testadas, sendo *Agrobacterium tumefaciens* a mais sensível. Os autores concluíram que tal tipo de extrato poderia ser utilizado como protetor de sementes.

Segundo Cushine & Lamb (2005), a atividade antimicrobiana possui estreita relação com o conteúdo e estrutura de flavonóides presentes no pólen apícola. Estes, por sua vez, estão relacionados com sua origem botânica, geográfica, e condições climáticas.

6.0 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Tomando-se os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que, apesar das curvas de produção de pólen apícola nas três mesorregiões estudadas apresentarem-se crescentes, as regiões da Zona da Mata (ZM) e do Litoral (L), são as mais promissoras na estação seca 2008/09. Com relação ao pasto apícola, a região da Zona da Mata possui maior diversidade vegetal em floração subsidiando a alimentação das abelhas nessa estação. Foram observados 28 tipos polínicos, sendo 9 espécies identificadas e o restante contribuindo com menos de 1% no espectro polínico do pólen apícola dessa região. Dentre as espécies identificadas, 36% pertenceram ao estrato herbáceo. No espectro polínico do Litoral (L) e do Sertão (S), os estratos arbustivo e arbóreo foram identificados como predominantes, sendo a amostragem do pólen apícola do Sertão em geral monofloral.

Houve diferença significativa no conteúdo protéico entre as mesorregiões, enquanto que entre as médias do teor glicídico total dos polens apícolas das diferentes mesorregiões estudadas nessa estação, não ocorreu. No caso do conteúdo de lipídios, as médias registradas foram maiores na mesorregião sertaneja, variando de 4,92-7,74%, enquanto que as amostras de pólen apícola do litoral apresentou as menores médias lipídicas (2,98-3,39%). O conteúdo de fenóis totais também foi maior nas amostras do Sertão, variando de 16,22-46,25 eq. mg ác. gálico.g⁻¹, e menor na mesorregião litorânea (5,9-14,0 eq. mg ácido gálico.g⁻¹). Apesar da diversidade polínica das amostras da Zona da Mata, portanto, seus conteúdos fenólicos (7,9-22,8 eq. mg ác. gálico.g⁻¹) ficaram abaixo da média das amostras do Sertão que, como já foi mencionado, apresentou 50% de suas amostras monoflorais.

Fica evidente que, ainda que predominantemente monofloral, o pasto apícola do Sertão tende a oferecer para as abelhas substâncias energéticas, impermeabilizantes e antioxidantes o suficiente para sua sobrevivência.

O conteúdo total de flavonóides oscilou bastante, mas também foi superior nas amostras do Sertão ($45,62 \pm 32,19$ eq. mg quercetina.g⁻¹), e próximo ao das amostragens da Zona da Mata ($41,22 \pm 21,95$ eq. mg quercetina.g⁻¹). Da mesma forma, o potencial antioxidante das amostras de pólen apícola do Sertão foi bem superior ao das demais amostras de outras mesorregiões, sendo aquelas provenientes do Litoral as de menor conteúdo antioxidante, embora do ponto de vista qualitativo todas as amostras apresentem quase as mesmas substâncias, porém em quantidades diferentes.

Os testes de sensibilidade dos EEP frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* foram todos negativos na concentração testada, o que significa que os compostos fenólicos presentes no pólen não são tóxicos o suficiente para agir sobre tais bactérias.

Mediante tais conclusões, evidencia-se a necessidade de continuar avaliando a origem floral do pólen apícola de diferentes mesorregiões do Estado de Alagoas, especialmente na estação de chuvas, bem como sua qualidade físico-química e microbiológica, visando fornecer subsídios para um sistema de informações georreferenciada, tornando a apicultura do Estado mais profissionalizada. Além disso, a avaliação da composição química do pólen a ser coletado na estação de chuvas, permitirá averiguar a interferência da sazonalidade nas características nutricionais e terapêuticas se desse alimento, além de sua produtividade. A formação de um banco de imagens dos tipos polínicos encontrados nas mesorregiões estudadas, para disponibilização *on line* e impressa aos apicultores e pesquisadores em geral, é uma outra meta a ser alcançada, bem como a caracterização, por cromatografia líquida de alta eficiência, dos compostos fenólicos e flavonóides que proporcionam o alto potencial antioxidante das amostras obtidas na diferentes mesorregiões do Estado.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELMANN, J. Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal do Paraná. 186p. 2005.

AKHLAGHI, M., BANDY, B. Mechanisms of flavonoids protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 46, p. 309-319, 2009

AL, M. L.; DANIEL, D., MOISE, A., BOBIS, O., LASLO, L., BOGDANOV, S. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, v. 112, p. 863–867, 2009.

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

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Controle de qualidade do pólen apícola desidratado. In: **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Apicultura.** Aracaju –SE, 2006.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PENTEADO, M. V. C. Vigilância Sanitária – Tópicos sobre Legislação e Análise de Alimentos. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan Ed., 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. 105-11, 2005.

ALVES, C., DIB, A. P. S. Tópicos de sanidade apícola – proposta de criação de um sistema alerta. In: **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III Congresso de Meliponicultura.** Belo Horizonte-MG, 2008.

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. *Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.*

ANDRADE, T. M., AZEVEDO, V. G., MATOS, C. G., SANTOS, H. O., BLANK, M. F., BLANK, A. F., MANN, R. S. Fenologia em Sambacaitá (*Hyptis pectinata* L. Poit). Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/46_0666.pdf. Acesso em 18/04/2009.

ANGELO, P. M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, n° 66, v. 1, p. 1-9, 2007.

ARRUDA, C. M. F. Características físico-químicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da Chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo. 96 p. 2003.

BAKONYI, T., DERAKHSHIFAR, I., GRABENSTEINER, E., NOWOTNY, N. Development and evaluation of PCR assays for the detection of *Paenibacillus larvae* in honey samples: Comparison with isolation and biochemical characterization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 3, p. 1504-1510, 2003.

BALDÍ CORONEL, B., GRASSO, D., PEREIRA, S. C., FERNÁNDEZ, G. Caracterización bromatológica del pólen apícola argentino. **Ciência, Docência y Tecnología**, n. 29, ano XV, p. 145-181, 2004.

BALTRUSAITYTE, V., VENSKUTONIS, P. R., CEKSTERYTE, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, v.101, p.502–514, 2007.

BARRETO, L. M. R. C., FUNARI, S. R. C., ORSI, R. O., DIB, A. P. S. Produção de Pólen no Brasil. **Ed. Cabral**. Taubaté-SP, p 99, 2006.

BARRETO, L. M. R. C., FUNARI, S. R. C., ORSI, R. O. Pólen apícola: perfil da produção no Brasil. 2004. Disponível em: http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/polen/14_polen_apicola_brasil.pdf.

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

BARTH-SCHATZMAYR, O. M. A utilização do pólen na interpretação da flora apícola. Fiocruz (RJ), 2000. Disponível em: http://www.apis.sebrae.com.br/Arquivos/16%C2%BA%20Cong_Bras_Apic/Anais_1/A%20UTILIZA%C3%87%C3%83O%20DO%20P%C3%93LEN%20NA%20INTERPRETA%C3%87%C3%83O%20DA%20FLORA%20AP%C3%8DCOLA.pdf.

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

BAUER, A. W., KIRBY, W. M. M., SCHERRIS, J. C, TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, 1966.

BIANCHINI, M. L. P., ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. **Apidology**, v. 37, p. 1-18, 2006.

BONVEHÍ, J. S., TORRENTÓ, M. S., LORENTE, E. C. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 49, p. 1848-1853, 2001.

BONVEHÍ, J. S., JORDÀ, R. E. Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 45, p. 725-732, 1997.

BRASIL ESCOLA. www.brasilecola.com/brasil/aspectos-naturais-estado-alagoas.htm. Acesso em 18/04/2009.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO.

Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de pólen apícola. **Instrução Normativa nº 3, 19 de janeiro de 2001.**

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

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

CARPES, S. T. Estudo das Características Físico-Químicas e Biológicas de Pólen Apícola de *Apis mellifera* L. da Região Sul do Brasil.. **Tese de Doutorado** em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 248 p. 2008.

CARVALHO, C. A. L., MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no vale do rio Paraguaçu, município de Castro Alves, Bahia. **Revista Brasileira Botânica**, v. 22, n. 2, p. 333-338, 1999.

CRANE, E. A short history of knowledge about honey bees (*Apis*) up to 1800. **Bee World**, v. 85, n. 1, p. 6-11, 2004.

CUSHNIE, T. P. T., LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. Review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, p. 343-356, 2005.

MESSAGE, D. Principais doenças de abelhas no Brasil. **XI Congresso Brasileiro de Apicultura**. Teresina – PI, 1996.

DEMIATE, I. M., WOSIACKI, G., CZELUSNIAK, C., NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos. Comparação entre método colorimétrico e titulométrico. Publicatio UEPG. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências**

Agrárias e Engenharias, Ponta Grossa PR, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002.

ERASLAN, G., KANBUR, M., SILICI, S., LIMAN, B. C., ALTINORDULU, S., SARICA, Z. S. Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 931-937, 2009.

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

FOHOOU, F. N. T., DJONWANGWE, D., BRÜCKNER, D. Foraging behaviour of the African honey bee (*Apis mellifera adansonii*) on *Annona senegalensis*, *Croton macrostachyus*, *Psorospermum febrifugum* and *Syzygium guineense* var. *guineense* flowers at Ngaoundéré (Cameroon). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 5, p. 719-725, 2008.

FRIES, I.; LINDSTRÖM, A. KORPELA, S. Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honey bees (*Apis mellifera*). **Veterinary Microbiology**, v.114. p. 269-274, 2006.

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

GARCÍA, M., PÉREZ-ARQUILLUE, C., JUAN, T., JUAN, M. I., HERRERA, A. Note. Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. **Food Science and Technology International**, v. 7, p. 155-158, 2001.

GILLIAM, M., PREST, D. B., LORENZ, B. J. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds. **Apidologie**, v.20, p. 53-68, 1989.

GONZÁLEZ, G., HINOJO, M. J., MATEO, R., MEDINA, A., JIMENÉZ, M. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 1-9, 2005.

HARO, A., LÓPEZ-ALIAGA, I., LISBONA, F., BARRIONUEVO, M., ALFÉREZ, M. J. M., CAMPOS, M. S. Beneficial effect of pollen and/or própolis on the metabolism of iron, calcium, phosphorus, and magnesium in rats with nutritional ferropenic anemia. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 48, p. 5715-5722, 2000.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidants capacity assays. **Journal Agricultural Food Chemistry**, n. 53, p. 1841-1856.

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

KUÇUK, M., KOLAYLI, S., KARAOGLU, S., ULSOY, E., BALTACI, CEMALETTIN, CANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia, **Food Chemistry**, v. 100, p. 526-534, 2007.

LAURO, F. M., FAVARETTO, M.; COVOLO, L., RASSU; M., BERTOLONI, G. Rapid detection of *Paenicbacillus larvae* from honey and hive samples with a novel nested PCR protocol. **International Journal of Food Microbiology**, v.81, p. 195 -201, 2003.

LEBLANC, B. W., DAVIS, O. K., BOUE, S., DE LUCCA, A., DEEBY, T. Antioxidant activity of sonoran desert bee pollen, **Food Chemistry**, 2009.

LEE, K. H., KIM, A. J., CHOI, E. M. Antioxidant and anti-inflammatory activity of pine pollen extract *in vitro*. **Phytotherapy Research**, v. 23 p. 41-48, 2009.

LEJA, M., MARECZEK, A., WZGOLIK, G., KLEPACZ-BANIAK, J.,

CZEKÓNSKA, K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, v. 100, p. 237-240, 2007.

LIMA, A. O. N. Pólen coletado por abelhas africanizadas em apiário comercial na Caatinga Cearense. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Ceará. 118p. 1995.

LIMA, L. C. L., SILVA, F. H. M., SANTOS, F. A. R. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae – Mimosoideae) do Sem-Árido brasileiro. **Acta Botânica Brasileira**, v. 22, n. 3, pp. 794-805, 2008.

LIU, D., SHI, J., IBARRA, A., KAKUDA, Y., XUE, S. J. The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and β -carotene mixtures on the DPPH free radical, **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1344-1349, 2008.

LIU, F. L., ZANG, X. W., CHAI, J. P., YANG, D. R. Pollen phenolics and regulation of pollen foraging in honeybee colony. **Behavior Ecology Sociobiology**, v. 56, p. 582-588, 2006;

LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MAIA, A. B. Controle de qualidade dos produtos apícolas. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III Congresso de Meliponicultura**, Belo Horizonte-MG, 2008.

MANIRAKIZA, P., COVACI, A., SCHEPENS, P. Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer extraction methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p. 93-100, 2001.

MARCUCCI, M. C., WOISKY, R. G., SALATINO, A. Uso do cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. **Mensagem Doce**, v. 46, 1998.

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

MEDEIROS, K. C. P., FIGUEIREDO, C. A. V., FIGUEREDO, T. B., FREIRE, K. R. L., SANTOS, F. A. R., ALCANTARA-NEVES, N. M., SILVA, T. M. S., PIUVEZAM, M. R. Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 41-46, 2008.

MEDINA, A., GONZÁLEZ, G., SÁEZ, J. M., MATEO, R., JIMÉNEZ, M. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* Wilh. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 27, p. 261-267, 2004.

MELO, P. A., CARVALHO, C. A. L., SODRE, G. S., ALVES, R. M. O., SANTOS, K. V., SILVA, T. F. P. . Espectro polínico de amostras de méis de *Apis mellifera* L. provenientes de Jequitibá, Mundo Novo-BA. In: **17º Congresso Brasileiro de Apicultura, 3º Congresso Brasileiro de Meliponicultura**, Belo Horizonte – MG, 2008.

MODRO, A. F. H. Flora e caracterização polinífera para abelhas *Apis mellifera* L. na região de Viçosa. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Viçosa, 2006.

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.

MORETI, A. C. de C. C., ALMEIDA-ANACLETO, D., MARCHINI, L. C., SOUZA, B. A. Plantas visitadas por espécies de abelhas sem ferrão, Piracicaba, SP. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III de Meliponicultura**, Belo Horizonte. 2008.

NAGAI, T., INOUE, R., INOUE, HACHIRO, SUZUKI, N. Scavenging capacities of

pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. **Nutrition Research**, v. 22, p. 519-526, 2002.

NAGAI, T., INOUE, R., SUZUKI, N., TANOUE, Y., KAI, NORIHISA, NAGASIMA, T. Antihypertensive activities of enzymatic hydrolysates from honeybee-collected pollen of *Cistus ladaniferus*. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v. 5, p. 86-89, 2007.

PASIECZNIK, N. M., FELKER, P., HARRIS, P. J. C., HARSH, L. N., CRUZ, G., TEWARI, J. C., CADORET, K., MALDONADO, L. J. *The Prosopis juliflora - Prosopis pallida Complex: A Monograph.* **HDRA**, Coventry, UK, 172p, 2001.

QIAN, W. L., KHAN, Z., WATSON, D. G., FEARNLEY, J. Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 21, p. 78-83, 2008.

RAMÍREZ, R., MONTENEGRO, G. Certificación del origen botánico de miel y pólen corbicular pertenecientes a la comuna de Litueche, VI Región de Chile. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 31, n. 3, p. 197-211, 2004;

RAVEN, P. H. *Biologia Vegetal*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara. 724p, 2001.

RIBEIRO, J. C., SILVA, R. A. Estudo comparativo da qualidade de pólen apícola fresco, recém processado, não processado e armazenado em freezer e pólen de marca comercial através de análises físico-químicas. **Anais do I Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, Natal-RN, Resumo, 2006.

SALIS, S. M. Calendário floral preliminar para as proximidades do Maciço do Urucum – MS. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III de Meliponicultura**. Belo Horizonte – MG, 2008.

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. *Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.*

SÁ-OTERO, M. P., MARCIAL-BUGARÍN, S., ARMESTO-BAZTÁN, S., DÍAZ-LOSADA, E. Método de determinación del origen geográfico del pólen apícola comercial. **LAZAROA**, v. 23, p. 25-34, 2002.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, R. F.; KILL, L. H. P.; ARAÚJO, J. L. P. Levantamento da flora melífera de interesse apícola no município de Petrolina-PE. **Revista Caatinga**, v.19, n.3, p. 221-227, 2006.

SCHUCH, D. M. T., MADDEN, R. H., SATTLER, A. An improved method for detection and presumptive identification of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* spores in honey. **Journal Apiculture Research**, v. 40, n. 2, p. 59-64, 2001.

SCHUCH, D. M. T., TOCHETTO, L. G., SATTLER, A. Isolamento de *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3. Brasília. 2003.

SECRETARIA DE RECURSOS HIDRICOS E MEIO AMBIENTE – DIRETORIA DE METEOROLOGIA – DMET. Monitoramento climático, análise de precipitação mensal no Estado de Alagoas nos meses de janeiro e fevereiro de 2008.

SEELEY, T.D. Ecologia da abelha, um estudo de adaptação na vida social. Ed. Paixão, Porto Alegre, 2006.

SILVA, T. M. S., CAMARA, C. A., LINS, A. C. S., BARBOSA-FILHO, J. M., SILVA, E. M. S., FREITAS, B. M., SANTOS, F. A. R. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p.507-511, 2006.

SILVA, R. A., EVANGELISTA-RODRIGUES, A., AQUINO, I. S., FELIX, L. P.,

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. *Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.*

MATA, M F., PERONICO, A. S. Caracterização da flora apícola do semi-árido da Paraíba. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 220, p. 427-438, 2008.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, 2002.

TÓMAS-LORENTE, F., GARCIA-GRAU, M. M., NIETO, J. L., TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Flavonoids from *Cistus ladanifer* bee pollen. **Phytochemistry**, v. 31, p. 2027-2029, 1992.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508-514, 1954.

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. *Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.*

APÊNDICES

APÊNDICE 1: ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA “QUÍMICA NOVA”

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO PÓLEN APÍCOLA PRODUZIDO NA ESTAÇÃO SECA DAS MESORREGIÕES DA ZONA DA MATA, SERTÃO E LITORAL DE ALAGOAS.

Maria Raphaella dos Santos VASCONCELOS*¹; Alysson Wagner Fernandes DUARTE¹; Elane Pereira GOMES¹; Adriana Pereira Domarques de MENEZES; Kelly Fernanda SEARA¹, Sílvio Chagas da SILVA², Ana Maria Queijeiro LÓPEZ¹

¹ Lab. de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival de Melo Mota, s/n, Maceió-AL, CEP 57072-970, vasconcelos.raphaella@gmail.com.

² Instituto de Computação, Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival de Melo Mota, s/n, Maceió-AL, CEP 57072-970.

* vasconcelos.raphaella@gmail.com.

PHYSICAL-CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF BEE POLLEN PRODUCED IN DRY SEASON OF MESOREGIONS THE ZONA DA MATA, BACKLAND AND SEASIDE OF ALAGOAS.

ABSTRACT

Among the bee products, bee pollen resulting from the agglutination of flower pollen and nectar with salivary substances, emerge as food for worker-bees, with therapeutic properties given its composition. In this work, it was assessed and possible antioxidant of bee pollen from three experimental apiaries representative of the mesoregions of “Zona da Mata”, Backlands and Seaside of Alagoas State, in the dry season of 2008/09. Physico-chemical data were submitted the non-parametric test of *Kruskal-Wallis*. From the results we can conclude that the coastal mesoregion was the bee pollen that produced with higher protein content in the dry season 2008/09, on the other mesoregions studied and it has the lowest content of total phenols and flavonoids and low antioxidant activity of these compounds. In contrast, mesoregion of backland with shortage of rain, presented the highest content of total phenols and flavonoids and high antioxidant activity these compounds.

Keywords: bee pollen, physico-chemical composition, antioxidant activity, *Apis mellifera*.

INTRODUÇÃO

A apicultura é uma atividade agropecuária que preenche os requisitos da sustentabilidade e, no Nordeste, esta é uma das poucas atividades capaz de criar uma nova dinâmica de gestão de ocupação e renda, já que a região tem as condições climáticas como um dos principais aliados¹.

Um dos produtos da apicultura é o pólen, alimento básico para o desenvolvimento das larvas, cuja produção tem sido estimulada pelo consumo de produtos naturais complementares à dieta, ou com efeitos terapêuticos². O pólen apresenta alto conteúdo protéico com aminoácidos essenciais, além de minerais, vitaminas, enzimas, reguladores do crescimento, ácidos graxos e demais ácidos orgânicos e lipídeos, flavonóides e glicídeos (glicose, frutose, sacarose, trealose, isomaltose, maltose, rafinose, erlose, ramonose e melizitose)^{3, 4, 5, 6}.

Alguns compostos químicos presentes neste alimento, como fenóis e flavonóides possuem alto potencial antioxidante e esta propriedade lhes confere a característica nutracêutica^{4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14}.

Portanto, este estudo teve como objetivos avaliar a composição físico-química e o potencial antioxidante de amostras de pólen apícola de *Apis mellifera* das mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral de Alagoas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em três municípios com potencial produção de pólen em três mesorregiões do Estado, Zona da Mata, Sertão e Litoral. Nestes municípios foram instalados os seguintes apiários: Princesa das Matas, localizado em Viçosa (Latitude 09°

VASCONCELOS, M. R. S. 2009. *Pólen apícola do Estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.*

22° 47,9" S, Longitude 36° 17', 7,7" O, Altitude 265 m); Fazenda Borboleta, localizado em Batalha (Latitude 09° 40' 35,4" S, Longitude 37° 03' 19,2" O, Altitude 225 m); e Cavalo Russo, localizado Barra de São Miguel (Latitude 09° 47' 56" S, Longitude 35° 52' 50,9" O, Altitude 19 m).

Coleta das amostras de pólen

Foram realizadas trinta coletas, dez em cada apiário, sendo as amostragens quinzenais e sempre no final da tarde. O material foi colhido em potes esterilizados, em coletores de pólen, sendo a trampa (que precede a entrada dos enxames e a retirada das bolotas de pólen das corbículas das abelhas), fechada 24 h antes da coleta. As amostras foram levadas ao Laboratório de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental (LBPMA) do IQB em caixas isotérmicas, e armazenadas sob refrigeração.

Preparação dos Extratos Hidroetanólicos de Pólen (EEP)

Os extratos foram obtidos conforme metodologia descrita por Carpes *et al.* (2007)¹², com algumas modificações. Assim, 1 g de pólen apícola de cada colméia de dez por apiário era misturado aos demais, e a partir dessa mistura, novamente coletou-se 1 g de pólen e macerou-se em 10 mL de etanol p.a. diluído a 70% com água deionizada (Milli Q) em cadinho sobre gelo (5 min). Essas suspensões foram levadas a agitação em banho-Maria (70 °C, 150 rpm, 30 min) e centrifugadas (1368 g, 10 min). Após remoção do sobrenadante, o resíduo do pólen apícola precipitado foi ressuspenso em 10 mL da mesma solução etanólica (70%), submetido novamente ao processo anteriormente descrito e os sobrenadantes somados e filtrados. Esse filtrado global foi armazenado em tubos Falcon sob refrigeração (6-8 °C), e chamado de extrato hidro-etanólico de pólen (EEP),

correspondendo à concentração final de 50 mg.mL⁻¹.

Preparação das Soluções de Pólen (SP)

A solução de pólen foi obtida a partir de amostras de 500 mg de pólen que foi macerado, em cadinho sobre gelo, em 10 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 6.2. Em tubos Falcon, essas SP foram submetidas à centrifugação (906 g), à temperatura de 4° C, por 3 min, resultando em soluções de concentração de 50 mg.mL⁻¹.

Determinação de Proteínas Totais

A partir da solução de pólen (SP), a determinação do conteúdo de proteínas totais foi realizada pelo método de Lowry (1951)¹⁵, com uma curva padrão de albumina de soro bovino (ABS) de 0 a 100 µg.mL⁻¹ (1 mg de ABS em 10 mL de solução salina 0,9 %). Adicionou-se 250 µL de reagente A (preparou-se 2 mL de solução de sulfato de cobre 1 %, 2 mL de solução de tartarato de sódio e potássio 0,1 N. Em 196 mL de água deionizada, adicionou-se 3,92 g de carbonato de sódio e 0,784 g de hidróxido de sódio, para obter-se uma solução a 2 %. Após a dissolução, completou-se o volume para 200 mL com as soluções de sulfato de cobre e tartarato de sódio e potássio. Após 10 min, adicionou-se o reagente B (Folin-Ciocalteu 0,2 N, 1:1). Em seguida, as misturas de reação foram armazenadas no escuro, e após 50 min, suas absorvâncias foram mensuradas a 660 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação de Glicídeos Totais

Os glicídeos totais foram determinados a partir dos extratos hidroetanólicos de pólen (EPP). Para tanto, foi utilizado o método de Antrona descrito por Yemm & Wills

(1954)¹⁶. Uma curva de sacarose, variando de 0 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foi utilizada como padrão. Adicionou-se 1 mL do reagente de antrona (0,4 mg de antrona em 200 mL de H_2SO_4 concentrado) em 0,5 mL de EEP diluído (1:1000). Aqueceu-se (100°C) as misturas de reação por 15 min, seguido de um choque térmico com banho de gelo. Em seguida, as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro FEMTO a 620 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação de Lipídeos Totais

A determinação de lipídeos totais de cada amostra foi realizada pelo método de Bligh & Dyer, conforme descrito por Manirakiza, Covaci e Schepens (2001)¹⁷. Em um tubo de Falcon de 50mL, depositou-se 2,5 g de pólen em 10 mL de metanol e 5 mL de clorofórmio. Essa mistura de cada amostra foi agitada em agitador de tubos por 2 min. Adicionalmente, colocou-se 5 mL clorofórmio e a mistura foi agitada vigorosamente. Adicionou-se 9 mL de água destilada à mistura e novamente levou-se ao agitador por mais 2 min. Após etapa, as camadas foram separadas por centrifugação por 10 min a 906 g. Com uma pipeta de Pasteur, a camada baixa foi transferida para um erlenmeyer. A segunda extração foi feita com 10 mL de 10% de metanol em clorofórmio e novamente levou-se ao agitador de tubos por 2 min. Centrifugou-se mais uma vez e a fase clorofórmica foi adicionada ao primeiro extrato, procedendo-se a evaporação em rotoevaporador (50°C). O resíduo foi levado à secagem por 1h, em forno a 105°C . Este foi posteriormente pesado em balança analítica e o resultado da diferença expresso em porcentagem. As análises foram realizadas em triplicata

Determinação de pH

A determinação de pH das amostras de pólen foram procedidas conforme método descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005)¹⁸.

Determinação do conteúdo de fenóis totais em EEP

O conteúdo total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado por Carpes *et al.* (2007)¹², pela regressão linear de uma curva padrão de ácido gálico (0,5-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ vs. absorvância): $\text{Abs}_{740\text{nm}} = 0,00078335x - 0,05719$, com um coeficiente de correlação $r = 0,9995$. A cada 0,5 mL de EEP diluído (1:100) foi adicionado 2,0 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (p/v) e 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. O reagente de Folin-Ciocalteu foi preparado adicionando-se 100 g de tungstato de sódio, 25 g de molibdato de sódio, 50 mL de ácido fosfórico 85% e 100 mL ácido clorídrico concentrado, em 700 mL de água destilada, em seguida, um balão contendo essa mistura foi levado a uma manta acoplado a um condensador de refluxo por 8h. A partir disso, adicionou-se 150 g de sulfato de lítio, cerca de 100 μL de solução saturada de bromo e o volume foi completado com água destilada para 1L. Os tubos de ensaio foram guardados à temperatura ambiente e no escuro, por 2h. A absorvância de todas as amostras foi medida a 740 nm usando espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em equivalentes miligramas de ácido gálico por g de pólen (Eq mg AG .g⁻¹). As análises foram feitas em triplicata.

Determinação do conteúdo de flavonóides totais em EEP

O conteúdo de flavonóides totais foi determinado a partir dos extratos hidroetanólicos de pólen (EEP), através do método descrito por Al *et al.* (2009)¹⁹, pela regressão linear de uma curva de calibração de quercetina (5,0 -150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ vs.

absorvância): $Ab_{S_{510nm}} = 0,01619x - 0,00308$, com um coeficiente de correlação $r = 0,99715$. Dessa forma, a cada 1mL de EEP (1:1000) foi adicionado 0,3 mL de $NaNO_3$ 5% e depois de 5 min, adicionou-se 0,3 mL de $AlCl_3$ 10%. Homogeneizou-se e depois de 6 min, neutralizou-se a mistura com 2 mL de NaOH 1M. As absorvâncias das soluções foram medidas a 510 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação da capacidade antioxidante em EPP

A atividade antioxidante foi determinada através do método de seqüestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), descrito por Baltrusaityte, Venkutonis & Ceksteryte (2007)²⁰. Como padrões, utilizou-se os compostos fenólicos quercetina (Q) e ácido gálico (AG), e o ácido ascórbico (AA), em concentrações de 50 mg.mL^{-1} , cada. O reagente foi preparado utilizando 2 mg do DPPH adicionado à 100 ml de etanol 70%, resultando numa concentração de $6,5 \times 10^{-5} \text{ M}$. Em cada 50 μL de EPP de cada amostra de pólen foi adicionado 2 mL do radical DPPH. O branco foi preparado com 50 μL de etanol 70% e 2 mL do reagente e lido no tempo igual a zero. As misturas de reação, depois de 16 min, foram lidas em absorvância de 515 nm. As análises foram realizadas triplicata. A inibição foi dada segundo a fórmula abaixo:

$$I = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100, \text{ em que:}$$

I = Percentagem de inibição;

A_A = correspondente à absorvância da amostra;

A_B = correspondente à absorvância do branco.

Determinação do Potencial Antioxidante Redutor do Ferro (FRAP) em EEP

O potencial antioxidante redutor do ferro do EEP foi determinado de acordo com método descrito por Kuçük *et al.* (2007)²¹. Assim, a cada 1 mL de EEP (1:25) adicionou-se 2,5 mL de tampão fosfato (0,2 M, pH 6.2) e 1,0 mL de ferricianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$). Essa mistura de reação foi incubada a 50° C por 20 min e, em seguida, acrescentou-se à mesma 2,5 mL de ácido tricloroacético. A mistura foi levada ao agitador de tubos e depois centrifugada (1368 g, 10 min). Em seguida, a 2,5 mL do sobrenadante misturou-se 2,5 mL de água Milli Q e 0,5 mL de 0,1% $FeCl_3$. As absorvâncias foram medidas a 700 nm. Todas as amostras foram analisadas em triplicatas, e os ensaios repetidos três vezes.

Análises Estatísticas

Os dados dos parâmetros físico-químicos das amostragens de pólen apícola de diferentes mesorregiões, na estação seca de 2008/09, foram submetidos aos testes de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*. Para a comparação das médias dos parâmetros das regiões estudadas, foram utilizados o teste do Qui-quadrado para avaliar significância e o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*. A correlação utilizada entre os parâmetros analisados foi a não-paramétrica de *Sperman*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta dados de altitude, temperatura e índice pluviométrico dos municípios onde as estações de coleta das amostras de pólen foram implantadas. Na Tabela 2, verifica-se a média de precipitação diária nestes municípios, nos meses estudados.

Na Tabela 3 são apresentadas as médias obtidas para os parâmetros analisados nas amostras de polens coletadas nas mesorregiões da Zona da Mata, Sertão e Litoral.

Quanto ao conteúdo de proteínas totais, o litoral foi a mesorregião que apresentou maior média (176,0 eq. mg de albumina de soro bovino. g⁻¹), bem como as maiores médias de precipitação diária nos meses estudados, chegando a 6,8 mm/dia no mês de fevereiro (Tabela 1). Apesar das médias das amostras das três mesorregiões estudadas ficarem muito próximas, houve diferença significativa entre elas ao nível de 95% (p<0,05) (Tabela 4) e este parâmetro demonstrou correlação inversa (-0,412) com fenóis totais ao nível de 95% (p< 0,05) (Tabela 6).

Com relação aos glicídios totais, a Zona da Mata apresentou média de 386,7 eq. mg. g⁻¹, no Sertão, a média foi de 431,1 eq. mg. g⁻¹ e, no Litoral, 461,4 eq. mg. g⁻¹. As amostras das mesorregiões na estação seca de 2008/09 não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, ao nível de 95% (Tabela 4).

O método correntemente utilizado para avaliar proteínas em alimentos, incluindo o pólen, é o micro Kjedahl, que quantifica nitrogênio total e através de um fator de correção (6,25), obtém-se a porcentagem de proteína bruta^{13, 22, 23}. No entanto, o método de Lowry é bem mais específico e sensível para ligações peptídicas, tendo sido utilizado neste trabalho apesar de requerer mais tempo para a análise e a absorvidade ser altamente variável para diferentes proteínas.

Modro (2006)²³ encontrou média de 66,3% de glicídios em pólen apícola do município de Viçosa em Minas Gerais, que é de domínio de Mata Atlântica. Marchini, Reis e Moreti (2006)²² obtiveram média de 28,4% para as amostragens de pólen apícola por tais pesquisadores estudadas. A comparação entre os resultados é dificultada não só pela sazonalidade e regionalidade, mas pelo uso de diferentes métodos. Segundo Almeida-Muradian & Penteadó (2007)²⁴, o método utilizado para o controle de qualidade é o

titulométrico de Fehling, que determina o conteúdo de glicídeos totais e de glicídeos redutores.

Demiate *et al.* (2002)²⁵, analisando glicídeos redutores e totais em diferentes tipos de alimentos, empregando métodos titulométricos e colorimétricos, concluíram que estes não apresentaram diferença significativa ao nível de 99% ($p < 0,01$), indicando que qualquer dos tipos pode ser usado na quantificação de glicídeos em alimentos, com a obtenção de resultados confiáveis e seguros.

A média registrada para lipídeos foi maior na mesorregião sertaneja (5,97%) e o litoral foi a que apresentou menor média (3,15%). Porém, todas as mesorregiões apresentaram médias dentro dos limites preconizados pela legislação vigente, que requer o mínimo de 1,8 % de lipídeos totais em pólen apícola²⁶. Com relação a este parâmetro, as médias entre as mesorregiões apresentaram diferença significativa (Tabela 4) e correlação com fenóis e flavonóides totais de 0,660 e 0,648, respectivamente, ao nível de 99% ($p < 0,01$) (Tabela 6).

Estudos de Carpes (2008)¹⁴ com pólen apícola dos Estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná, revelam que os teores médios de lipídios variaram de 3,72-6,47%. Modro (2006)²⁴, avaliando amostras de pólen coletadas em apiário experimental em Viçosa (Minas Gerais), durante os meses de Agosto-Novembro, detectou o conteúdo de 0,19- 5,56 % de lipídios totais. Da mesma forma, estudos de Marchini, Reis & Moreti (2006)²³, durante um ano, demonstraram que os teores lipídicos nas amostras de pólen coletadas em Piracicaba (SP) variaram de 2,2-5,1 %. O método utilizado por estes autores é o método do extrator de Soxhlet, indicado pela legislação vigente²⁴.

Em relação ao pH, todas as amostras apresentaram valores dentro dos limites prescritos na legislação vigente²⁶.

Em relação ao conteúdo de fenóis totais, o pólen da mesorregião sertaneja foi o que mais se destacou nesta época, em termos de conteúdo de fenóis totais (25,85 eq. mg ác. gálico.g⁻¹), apesar da escassez de chuvas neste período, corroborando com o estudo de LeBlanc *et al.* (2009)²⁷ que, avaliando polens do deserto de Sonora (EUA), encontraram conteúdo de fenóis totais de 29,38 mg.g⁻¹, valor próximo aos encontrados no presente trabalho e que podem estar envolvidos com a fenologia da planta relacionada à sua origem geográfica. Segundo Almaráz-abarca *et al.* (2004)²⁸, o perfil de compostos fenólicos do pólen apícola é mais importante que o de conteúdo de flavonóides na identificação de ação antioxidante desses polens.

No Litoral, as amostras de pólen apícola apresentaram menor conteúdo de fenóis totais, região onde a precipitação média anual e a observada (Tabelas 1 e 2) foram as maiores. Entre as mesorregiões foi observada diferença estatisticamente significativa ao nível de 95% (p<0,05) (Tabela 4) e correlação com lipídeos (0,660) ao nível de 99% (p<0,01) (Tabela 6).

Carpes *et al.* (2007)¹², analisando estes compostos em extrato etanólico de pólen 70% (EEP) de amostra de pólen alagoano encontrou concentração menor que 8,1 mg ác.gálico. g⁻¹ de pólen. Bonvehí, Torrentò & Lorente (2001)⁴, estudando 11 amostras de pólen apícola do oeste da Espanha, detectaram concentrações de fenóis totais entre 8,7 e 14,6 mg ác.gálico. g⁻¹. Campos *et. al.* (2003)²⁹, por sua vez, avaliando o conteúdo fenólico de amostras de pólen coletadas em Portugal e Nova Zelândia, obtiveram teores de 10,0 - 32,5 mg. g⁻¹. Liu *et al.* (2006)³⁰, em estudo sobre a preferência de *Apis cerana* por pólen de espécies de plantas com baixo teor fenólico, detectaram valores de 8,0-11,2 mg.g⁻¹. Quando foram comparadas extrações com diferentes solventes, Kroyer & Hegedeus (2001)⁷ verificaram que o extrato etanólico a 50% permitiu uma extração mais eficiente destes compostos em pólen, obtendo concentração média de 24,6 mg.g⁻¹.

Leja *et al.* (2007)³¹, detectaram valores semelhantes aos do presente trabalho para duas espécies de pólen apícola das 12 que estudaram (12,9 mg.g⁻¹ para pólen apícola de área cultivada com *Zea mays* e 15,1 mg.g⁻¹ para pólen apícola de área com *Trifolium* sp).

Na Tabela 5, a partir do teste de *Kruskal – Wallis*, uma escala crescente de diferença entre as médias foi estabelecida através de um *ranking* de 1-3.

Em relação ao conteúdo de flavonóides totais (Tabela 3), o Sertão apresentou a maior média (45,62 eq. mg Quercetina. g⁻¹), seguido da Zona da Mata (41,22 eq. mg Quercetina. g⁻¹), enquanto que o Litoral apresentou a menor média (23,22 eq. mg Quercetina. g⁻¹). Entre flavonóides e lipídeos totais, apresentou-se correlação de 0,648, ao nível de 99% (p<0,01). Segundo Tomás-Lorente *et al* (1992)³², estes compostos podem ser utilizados na determinação da origem botânica do pólen apícola.

No tocante à atividade antioxidante, determinada através do método FRAP, a média do Sertão foi a mais elevada (131,47 mg ác. gálico. g⁻¹), dado esse que corrobora estudos de LeBlanc *et al.* (2009)²⁷, segundo os quais o pólen coletado durante o período de seca, em lugares onde as chuvas são escassas, tem uma maior atividade antioxidante que o pólen coletada na estação de chuva. No Litoral, encontrou-se a menor média (49,35 mg ác. gálico. g⁻¹), devendo-se, provavelmente, ao clima mais ameno do que o do Sertão, e aos índices pluviométricos, que nestas regiões também são bem mais elevados que no Sertão.

Os antioxidantes incluem compostos fenólicos, vitaminas E e C, e carotenóides, e são aceitos como nutrientes efetivos na prevenção do estresse oxidativo e doenças correlacionadas³³.

Segundo Sánchez-Moreno (2002)³⁴, o método do DPPH é considerado fácil e acurado para medir a capacidade antioxidante de frutas, vegetais ou extratos, porém, as médias avaliadas para a atividade antioxidante através deste método foram muito

semelhantes para as três mesorregiões, não existindo diferença significativa entre estas (Tabela 4).

As correlações entre o conteúdo de fenóis e flavonóides totais e o método FRAP de 0,582 e 0,488, respectivamente, ambas ao nível de 99%. Em relação ao conteúdo de fenóis totais e método do DPPH, a correlação foi de 0,515, ao nível de 99% (Tabela 6).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que a mesorregião litorânea foi a que produziu pólen apícola com maior conteúdo protéico, na estação seca 2008/09, em relação às demais mesorregiões estudadas e a que possui o menor conteúdo de fenóis e flavonóides totais e baixa atividade antioxidante destes compostos. Em contrapartida, a mesorregião sertaneja, com escassez de chuvas, foi a que apresentou maiores conteúdos de fenóis e flavonóides totais e alta atividade antioxidante destes compostos.

AGRADECIMENTOS:

Ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas (FAPEAL).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - SANTOS, R. F.; KILL, L. H. P.; ARAUJO, J. L. P. **Rev. Caatinga**, 2006, 19, 3, 221-227.
- 2 - BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O., DIB, A. P. S. Ed. Cabral, Taubaté-SP, 2006, 99.

- 3 - BONVEHÍ, J. S.; JORDÀ, R. E. **J. Agric. Food Chem.**, 1997, 45, 725-732.
- 4 - BONVEHÍ, J. S.; TORRENTÓ, M. S.; LORENTE, E. C. **J. Agric. Food Chem.**, 49, 2001, 1848-1853.
- 5 - ALMEIDA-MURADIAN, L.B. **XVI Congresso Brasileiro de Apicultura**, Aracaju, Brasil, 2006.
- 6 - QIAN, W. L.; KHAN, Z.; WATSON, D. G.; FEARNLEY, J. J. **Food Comp. Anal.**, 2008, 21, 78-83.
- 7 - KROYER, G.; HEGEDEUS, N. **Food Sc. & Emerg. Technol.**, 2001, 2, 171-174.
- 8 - NAGAI, T.; INOUE, R.; SUZUKI, N.; TANOUE, Y.; KAI, NORIHISA, NAGASIMA, T. **J. Food Agric. & Envir.**, 2007, 5, 86-89.
- 9 - SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; SANTOS, F. A. R. **J. Food Comp. and Anal.**, 2006, 19, 507-511.
- 10 - ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. **J. Food Comp. and Anal.**, 2005, 18, 105-111.
- 11 - ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M. G.; ÁVILA-REYES, J. A.; NARANJO-JIMÉNEZ, N.; CORRAL, J. H.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L. S. **J. F. Comp. and Anal.**, 2007, 20, 119-124.
- 12 - CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. **C. Agrot.**, Lavras, 2007, 31, 6, 1818-1825.
- 13 - CARPES, S. T. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2008.
- 14 - LEE, K. H.; KIM, A. J.; CHOI, E. M. **Phytot. Res.**, 2009, 23, 41-48.
- 15 - LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. **J. Biol. Chem.**, 1951, 193, 265-275.
- 16 - YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. **Biochem. J.**, 1954, 57, 508-514.
- 17 - MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. **J. Food Comp. and Anal.**, 2001, 14, 93-100.
- 18 - INSTITUTO ADOLFO LUTZ, Manual de métodos de análises físico-químicas, 2005.
- 19 - AL, M. L.; DANIEL, D.; MOISE, A.; BOBIS, O.; LASLO, L.; BOGDANOV, S. **Food Chem.**, 2009, 112, 863-867.

- 20 - BALTRUSAITYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; CEKSTERYTE, V. **Food Chem.**, 2007, 101, 502–514.
- 21 - KUÇUK, M.; KOLAYLI, S.; KARAOGLU, S.; ULSOY, E.; BALTACI, CEMALETTIN, CANDAN, F. **Food Chem.**, 2007, 100, 526-534.
- 22 - MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A.; MORETI, A. C. C. C. **C. Rural**, 2006, 36, 3.
- 23 - MODRO, A. F. H.; **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal de Viçosa, 2006.
- 24 - ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PENTEADO, M. V. C. Rio de Janeiro: **Guanabara-Koogan Ed.**, 2007.
- 25 - DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. **Ciênc. Exat. e da Terra, Ciênc. Ag. e Eng.** 2002, 8, 1, 65-78.
- 26 - BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa nº 3, 19 de janeiro de 2001.**
- 27 – LEBLANC, B. W.; DAVIS, O. K.; BOUE, S.; DE LUCCA, A.; DEEBY, T. **Food Chem.**, 2009, 115, 1299-1305.
- 28 - ALMARÁZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M. G.; REYES, J. A.; JIMÉNEZ, N. N.; CORAL, J. H.; VALDEZ, L. S. G. **Interc.**, 2004, 29, 10.
- 29 - CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM K. R.; MITCHELL, K. A.; CUNHA, A. P. **J. Agric. Food Chem.**, 2003, 51, 742-745.
- 30 - LIU, F. L.; ZANG, X. W.; CHAI, J. P.; YANG, D. R. **Behav. Ecol. Sociob.**, 2006, 56, 582-588.
- 31 - LEJA, M.; MARECZEK, A.; WZGOLIK, G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKÓNSKA, K. **Food Chem.**, 2007, 100, 237-240.
- 32 - TÓMAS-LORENTE, F.; GARCIA-GRAU, M. M.; NIETO, J. L.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. **Phytochem.**, 1992, 31, 2027-2029.
- 33 - HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. **J. Agric. Food Chem.**, 2005, 53, 1841-1856.
- 34 - SÁNCHEZ-MORENO, C. **Food Sc. and Techn. Intern.**, 2002, 8, 3, 121-137.

TABELA 1. Municípios de coleta das amostras de polens (com códigos) de abelhas africanizadas, temperatura e índice pluviométrico dos mesmos na estação seca de 2008/09.

Municípios de Coleta de Pólen	Amostras*	Altitude (m) **	Temperatura Média (°C) **	Índice Pluviométrico (mm) **
Barra de São Miguel (Litoral Sul)	L	2	29	2050,0
Batalha (Sertão)	S	256	31	481,3
Viçosa (Zona da Mata)	ZM	210	29	1500,0

* Amostras: L (Litoral); S (Sertão) e ZM (Zona da Mata); ** Dados da SRHMA -AL, 2009.

TABELA 2. Média da precipitação diária (outubro a fevereiro) das mesorregiões do Litoral (L), Sertão (S) e Zona da Mata (ZM) nos meses de outubro/2008 a fevereiro/2009.

Municípios de Coleta de Pólen	Amostras*	Média da precipitação diária (mm/dia) **				
		Meses				
		Out	Nov	Dez	Jan	Fev
Barra de São Miguel (Litoral Sul)	L	0,3	0,3	0,7	1,5	6,8
Batalha (Sertão)	S	0	0	0	1,11	0
Viçosa (Zona da Mata)	ZM	0,61	0	0	0,1	0,1

*Amostras: L (Litoral); S (Sertão); ZM (Zona da Mata); ** Dados coletados pelos apicultores das mesorregiões estudadas na estação seca 2008/09.

TABELA 3. Conteúdo de proteínas, glicídeos, lipídeos totais, pH, fenóis, flavonóides, e atividade antioxidante através dos métodos FRAP e DPPH de amostras de pólen das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Sertão (S) e Litoral (L) do Estado de Alagoas (estação seca de 2008/09).

PARÂMETROS E MÉTODOS	ZONA DA MATA	SERTÃO	LITORAL
Proteínas totais (eq. mg ASB. g ⁻¹)	162,0± 43,0	122,0± 19,0	176,0 ± 65,0
Glicídeos totais (eq. mg sacarose. g ⁻¹)	386,7± 106,2	432,1± 64,3	461,4± 100,9
Lipídeos totais (%)	4,91 ± 0,006	5,92 ± 0,010	3,15 ± 0,002
pH	5,40 ± 0,34	6,10 ± 0,22	5,49 ± 0,36
Fenóis (eq. mg ác. gálico g ⁻¹)	18,31± 5,54	25,85 ± 10,80	7,57± 2,45
Flavonóides (eq. mg quercetina . g ⁻¹)	41,22 ± 21,94	45,62 ± 32,19	23,13 ± 11,18
FRAP (mg . g ⁻¹ ác. gálico g ⁻¹)	63,63 ± 49,02	131,47 ± 75,08	49,35 ± 25,21
DPPH (%)	72,46 ± 5,25	70,22 ± 4,50	60,26 ± 13,23

TABELA 4. Teste de *Kruskal-Wallis* para verificar se há diferença significativa entre as amostras de pólen apícola de diferentes regiões do Estado de Alagoas, analisadas dentro de cada parâmetro (estação seca de 2008/09).

ESTATÍSTICA	Qui-quadrado	Índice de significância
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS		
Proteínas mg de ABS . g ⁻¹	8,703	0,013*
Glicídeos Totais mg de sacarose . g ⁻¹	2,341	0,310
Lipídios %	10,238	0,006*
Fenóis eq . mg de Ac. gálico . g ⁻¹	18,351	0,000*
Flavonóides eq. mg de Quercetina . g ⁻¹	3,498	0,174
FRAP eq. mg de Ac. gálico . g ⁻¹	9,458	0,009*
DPPH (%)	6,170	0,046*

*95 % de probabilidade, p<0,05.

TABELA 5. *Ranking* (1-3) comparativo das médias estatisticamente diferentes entre si para cada parâmetro físico-químico entre pólen apícolas de diferentes mesorregiões do Estado de Alagoas (estação de seca 2008/09), segundo teste não paramétrico de *Kruskal Wallis*. Grupos de pólen apícola com números iguais a 1 não foram diferentes entre si, e a partir desse, as médias foram diferentes em ordem crescente.

PÓLEN DE DIFERENTES REGIÕES	Zona da Mata	Sertão	Litoral
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS			
Proteínas mg ABS . g ⁻¹	2	1	3
Glicídeos Totais mg sacarose. g ⁻¹	1	1	1
Lipídios %	2	3	1
Fenóis eq. mg Ác. gálico g ⁻¹	2	3	1
Flavonóides eq. mg Quercetina . g ⁻¹	1	1	1
FRAP eq. mg de Ac. gálico . g ⁻¹	1	3	2
DPPH (%)	3	2	1

TABELA 6. Coeficiente de correlação de *Spearman* entre os parâmetros avaliados em

Parâmetros	Proteínas (mg . mL ⁻¹)	Glicídeos (mg . mL ⁻¹)	Lipídeos (%)	Fenóis totais (mg . g ⁻¹)	Flavonóides (mg . g ⁻¹)	FRAP (mg . g ⁻¹)	DPPH (%)
Proteínas (mg . g⁻¹)	1,000	0,124	-0,150	-0,412*	-0,191	-0,311	-0,058
Glicídeos (mg . g⁻¹)	0,124	1,000	0,159	0,080	-0,141	0,256	0,037
Lipídeos (%)	-0,150	0,159	1,000	0,660**	0,648**	0,375	0,202
Fenóis totais (mg . g⁻¹)	-0,412*	0,080	0,660**	1,000	0,361	0,582**	0,515**
Flavonóides (mg . g⁻¹)	-0,192	-0,041	0,648**	0,361	1,000	0,488**	0,330
FRAP (mg . g⁻¹)	-0,311	0,256	0,375	0,582**	0,488**	1,000	0,317
DPPH (%)	-0,058	0,037	0,202	0,515**	0,330	0,317	1,000

pólen apícola das mesorregiões da Zona da Mata (ZM), Litoral (L) e Sertão (S).

*Correlação significativa ao nível de 95% (p<0,05);

** Correlação significativa ao nível de 99% (p<0,01).

**APÊNDICE 2: ASPECTO DOS GRÃOS DE PÓLEN, PLANTAS E ABELHAS
AFRICANIZADAS EM SEU AMBIENTE NATURAL**

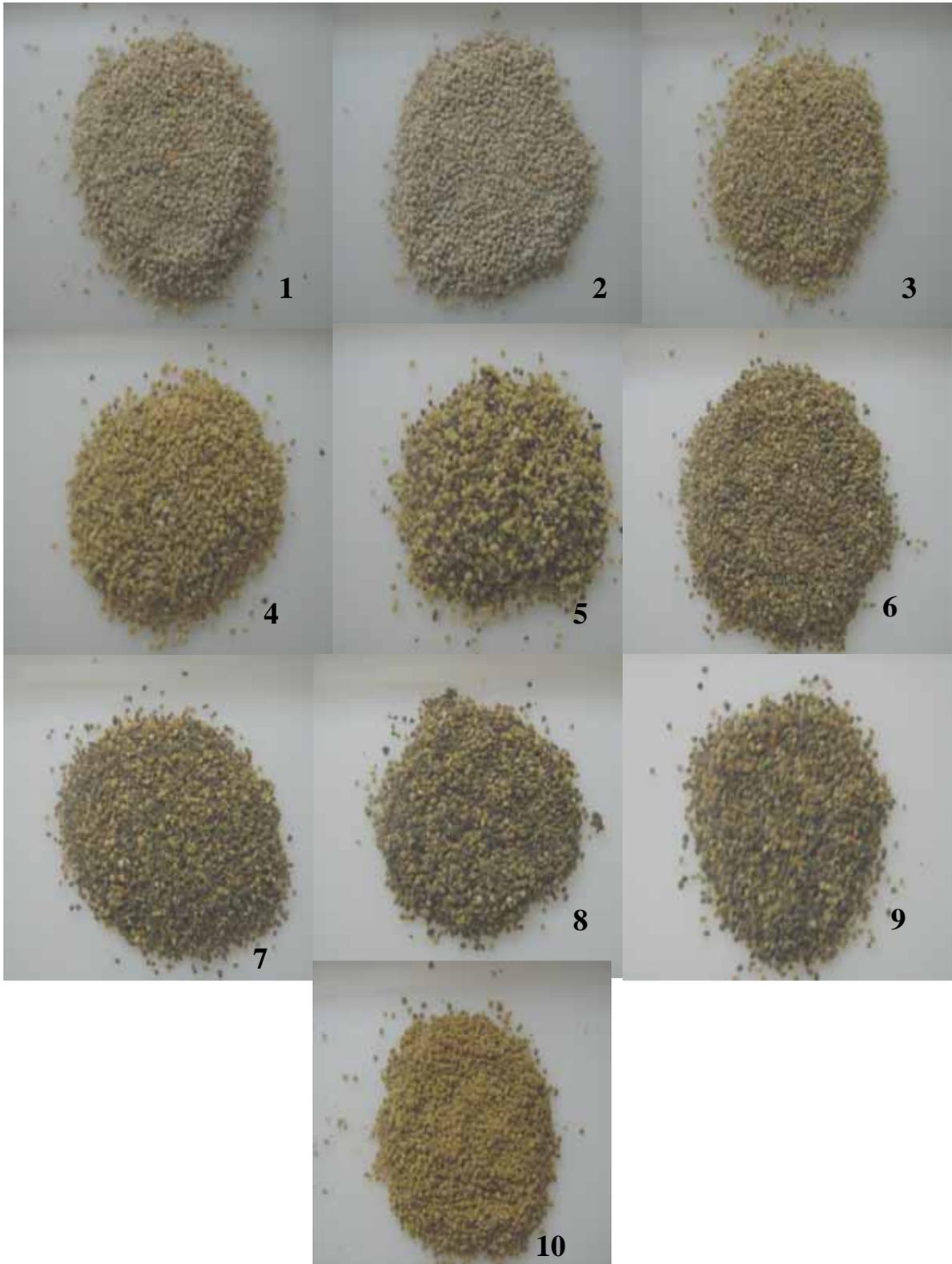


FIGURA 1. Aspecto de dez amostras de pólen apícola coletadas quinzenalmente do apiário “Princesa das Matas”, localizado na Zona da Mata (ZM), município de Viçosa, em Alagoas, durante a estação seca de 2008/09.

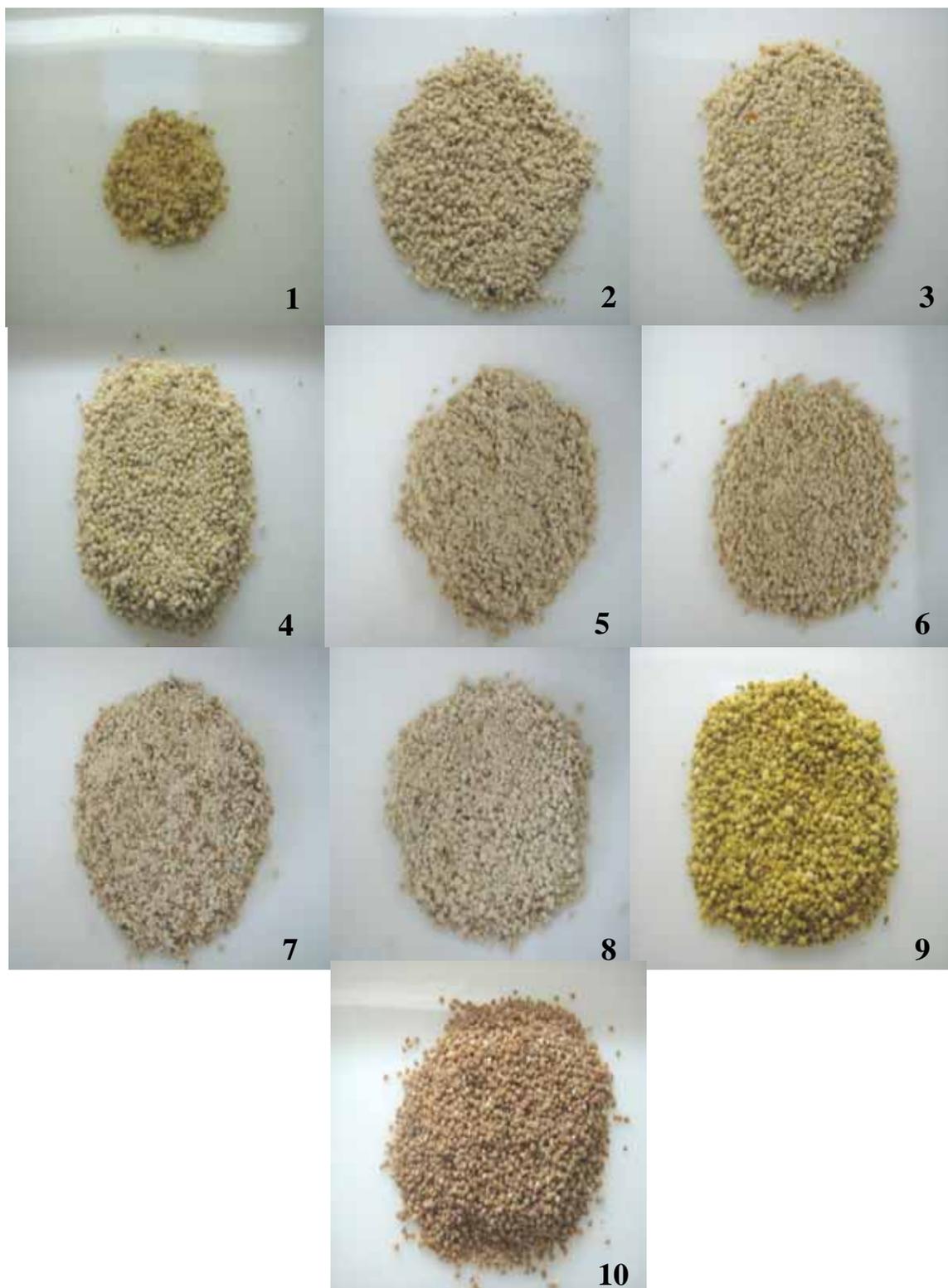


FIGURA 2. Aspecto de dez amostras de pólen apícola coletadas quinzenalmente do apiário “Cavalo Russo”, localizado no Litoral (L) município de Marechal Deodoro, em Alagoas, durante a estação seca de 2008/09.

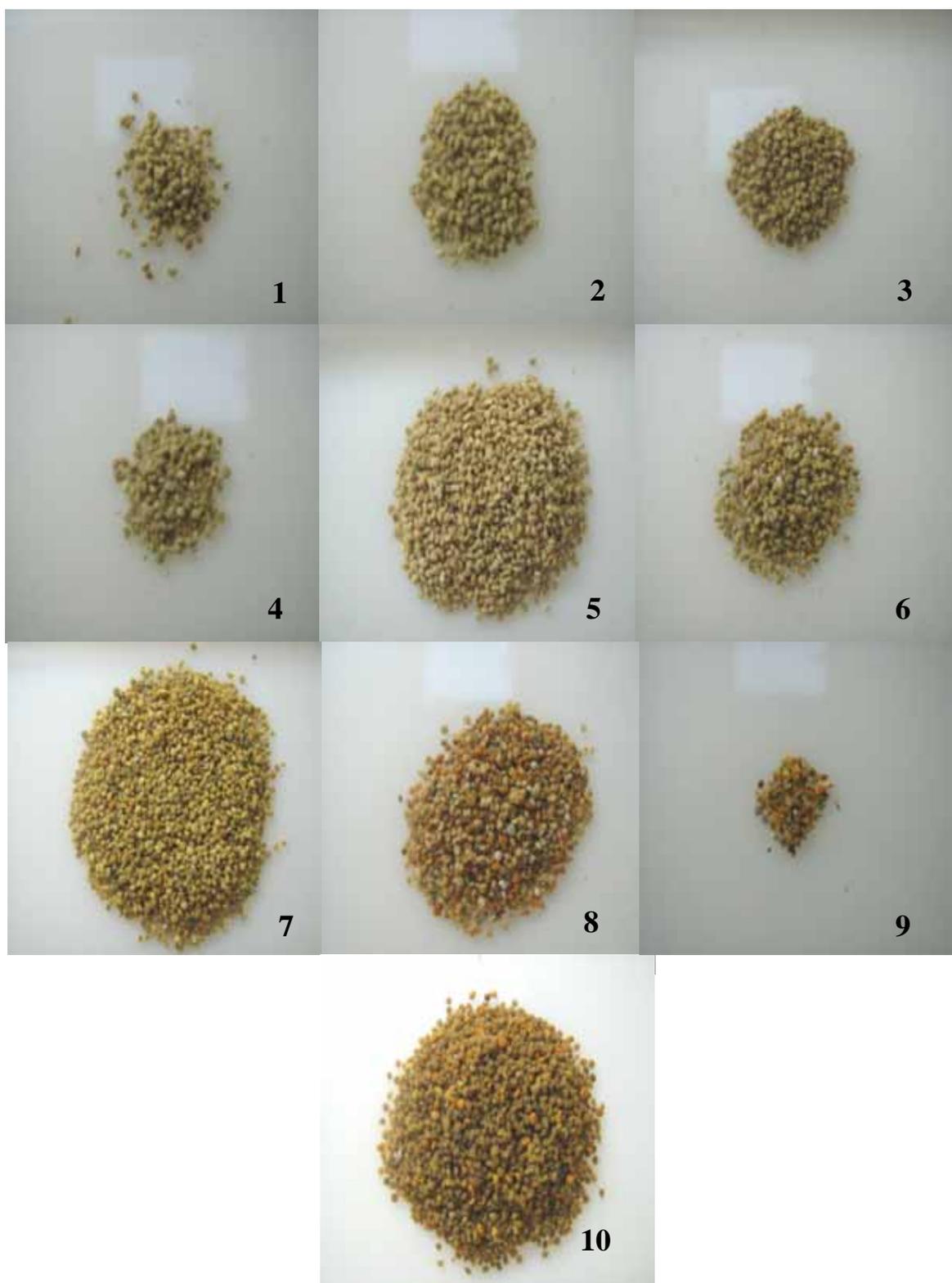


FIGURA 3. Aspecto de dez amostras de pólen apícola coletadas quinzenalmente do apiário “Fazenda Borboleta”, localizado no Sertão (S) município de Batalha, em Alagoas, durante a estação seca de 2008/09.

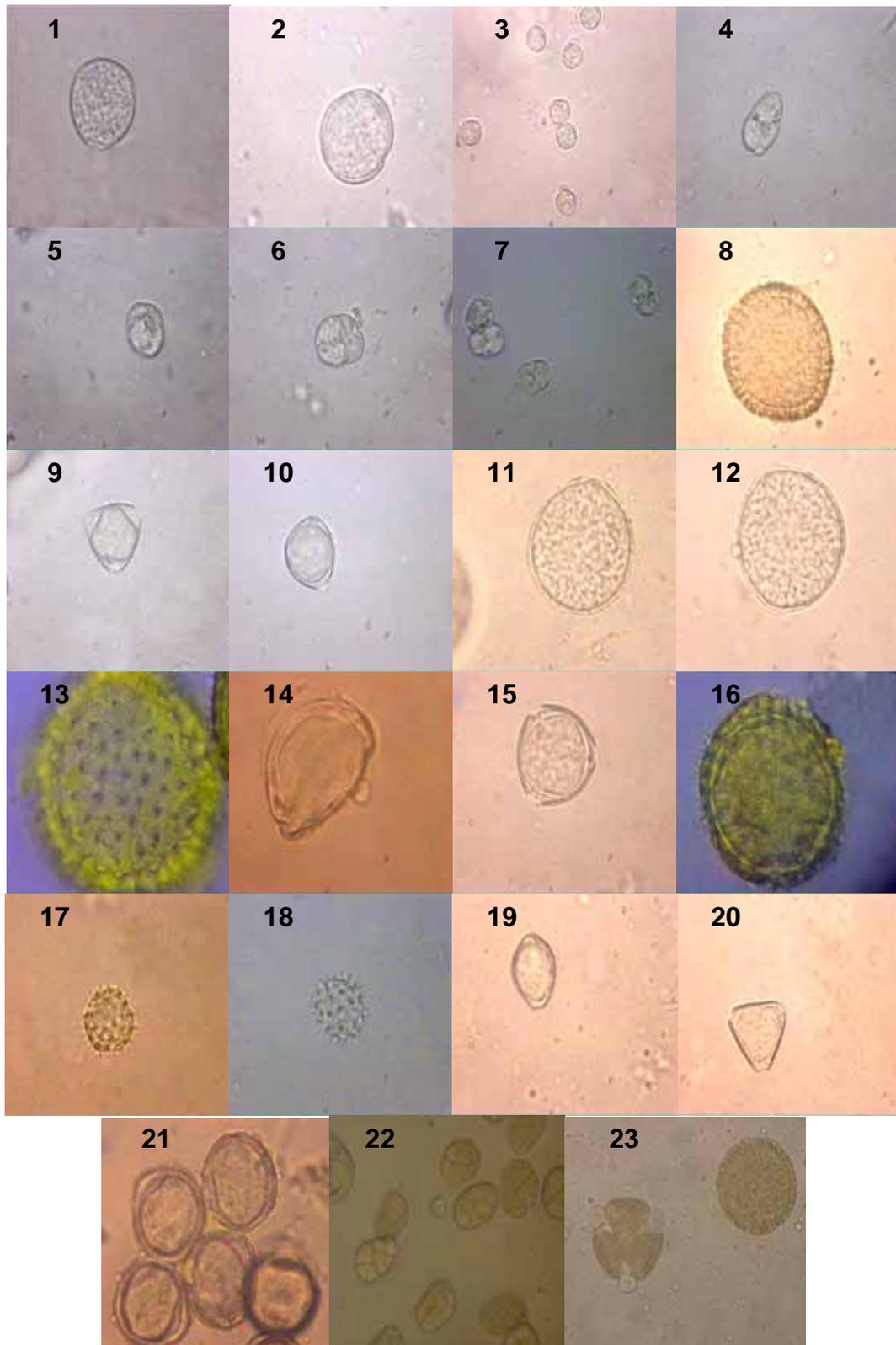


FIGURA 4. Fotomicrografias dos tipos polínicos observados em grãos de pólen coletados nos apiários “Princesa das Matas” (ZM – Zona da Mata), “Cavalo Russo” (L-litoral) e “Fazenda Borboleta” (S-sertão), no Estado de Alagoas, durante a estação seca de 2008/09. Magnitude 640 x. **1-2:** *Prosopis juliflora* (Sw) DC (algaroba). **3:** *Mimosa misera* Benth (malícia). **4-6:** *Mimosa tenuiflora* (jurema). **7:** *Mimosa caesalpinifolia* Benth (sabiá). **8:** *Croton moritibensis* Baill (velame). **9-10:** *Zizyphus joazeiro* Mart (juazeiro). **11-12:** *Erythrina velutina* Willd (mulungu) **13:** *Centratherum punctatum* (vassoura roxa). **14:** *Hyptis suaveolens* (bamburral). **15:** *Maytenus rigida* (bom nome); **16:** *Sida* sp (relógio); **17-18:** *Elephantopus mollis* (fumo bravo) **19-20:** *Coutarea hexandra* (quina-quina); **21:** *Spondias mombin* (cajá); **22:** *Piptadenia macrocarpa* (angico); **23:** *Croton sonderianus* (marmeleiro).

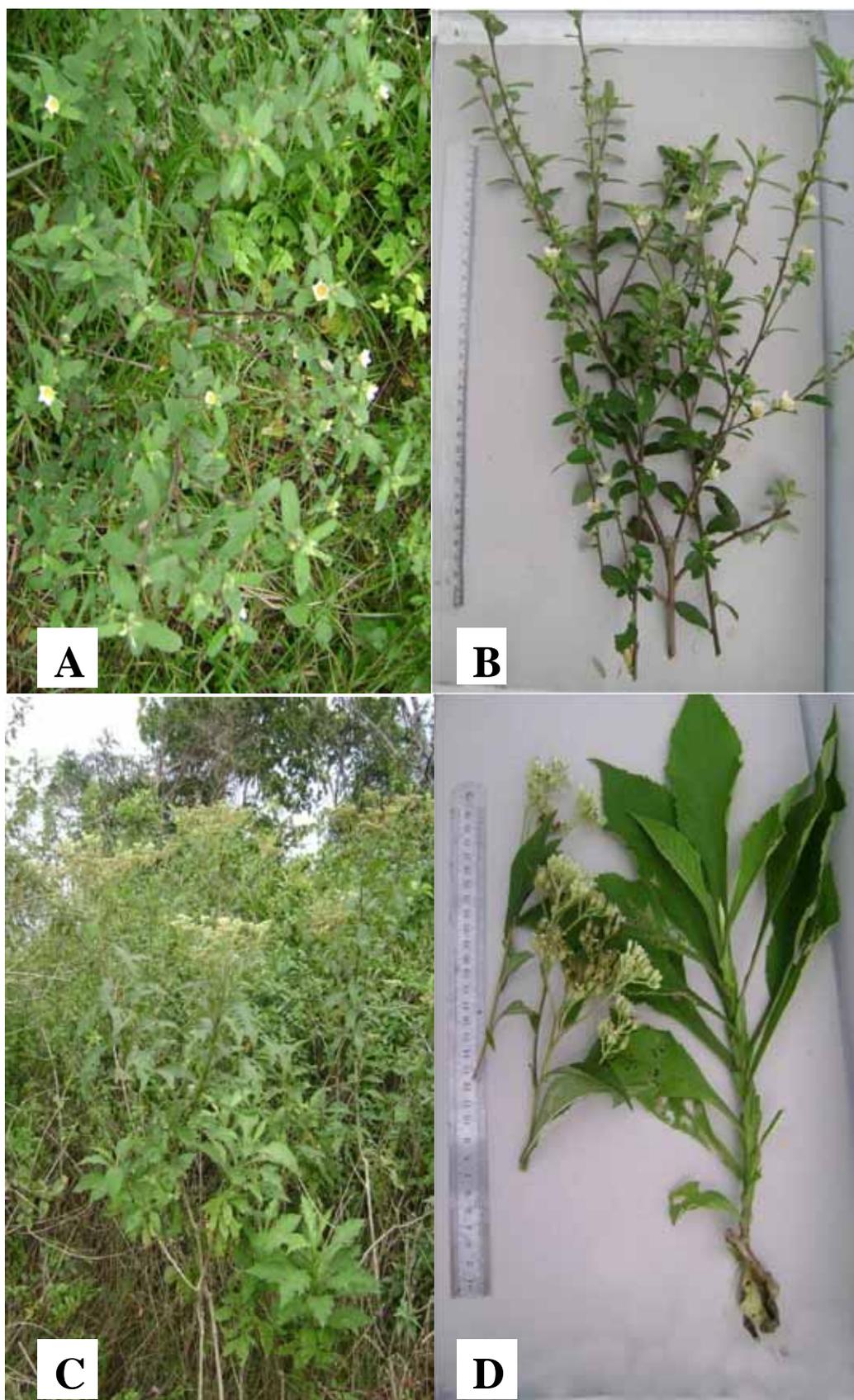


FIGURA 5. Fotografias das plantas coletadas durante a estação de seca de 2008/09, em seu habitat natural nos três apiários representativos de mesoregiões do Estado de Alagoas, e suas exsicatas. **A-B:** *Centratherum punctatum* (vassoura roxa). **C-D:** *Elephantopus mollis* (fumo bravo).

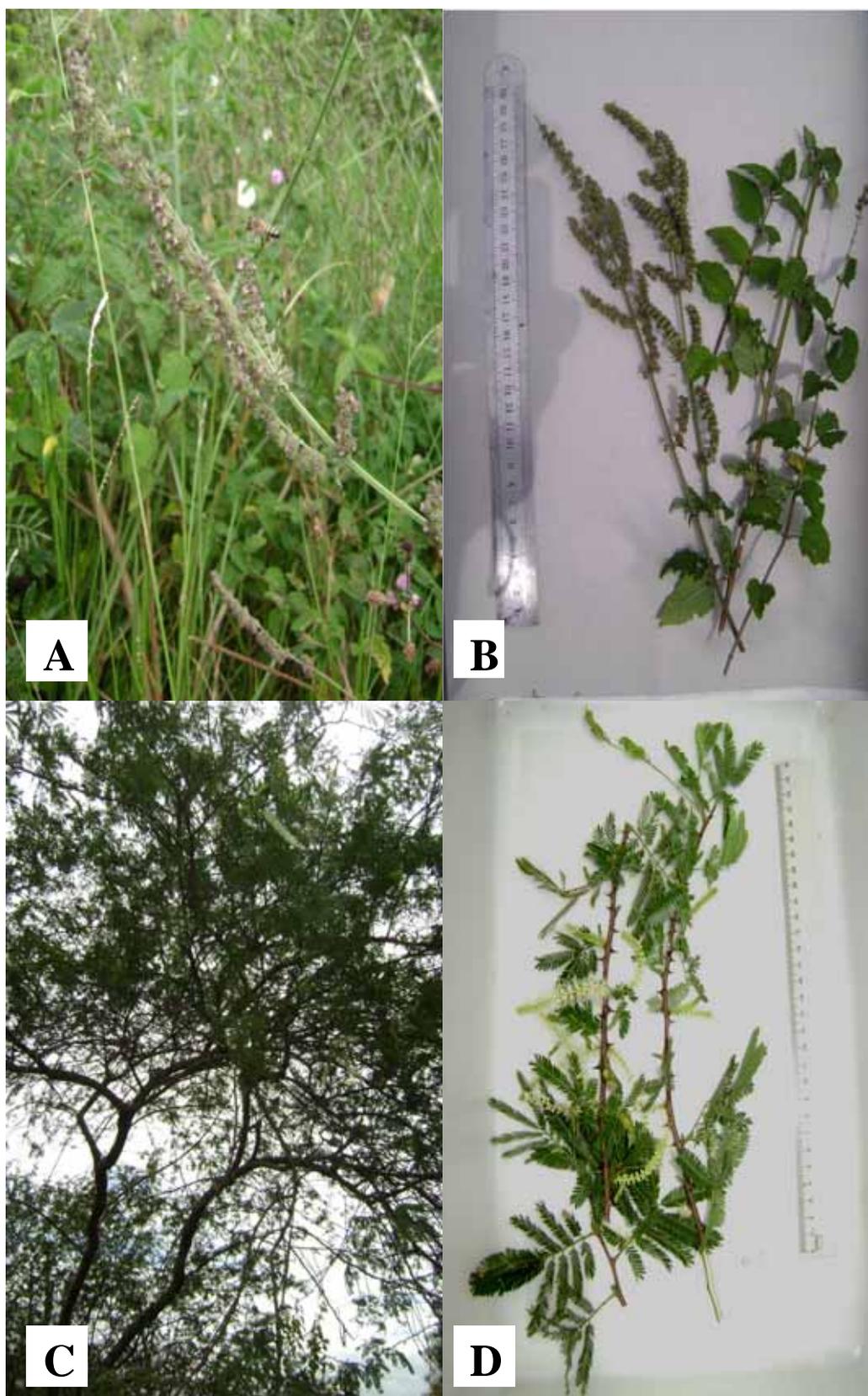


FIGURA 6. Fotografias das plantas coletadas durante a estação de seca de 2008/09, em seu habitat natural nos três apiários representativos de mesoregiões do Estado de Alagoas, e suas exsicatas. **A-B:** *Hyptis suaveolens* Pait (bamburral). **C-D:** *Mimosa macrocarpa* (jurema).

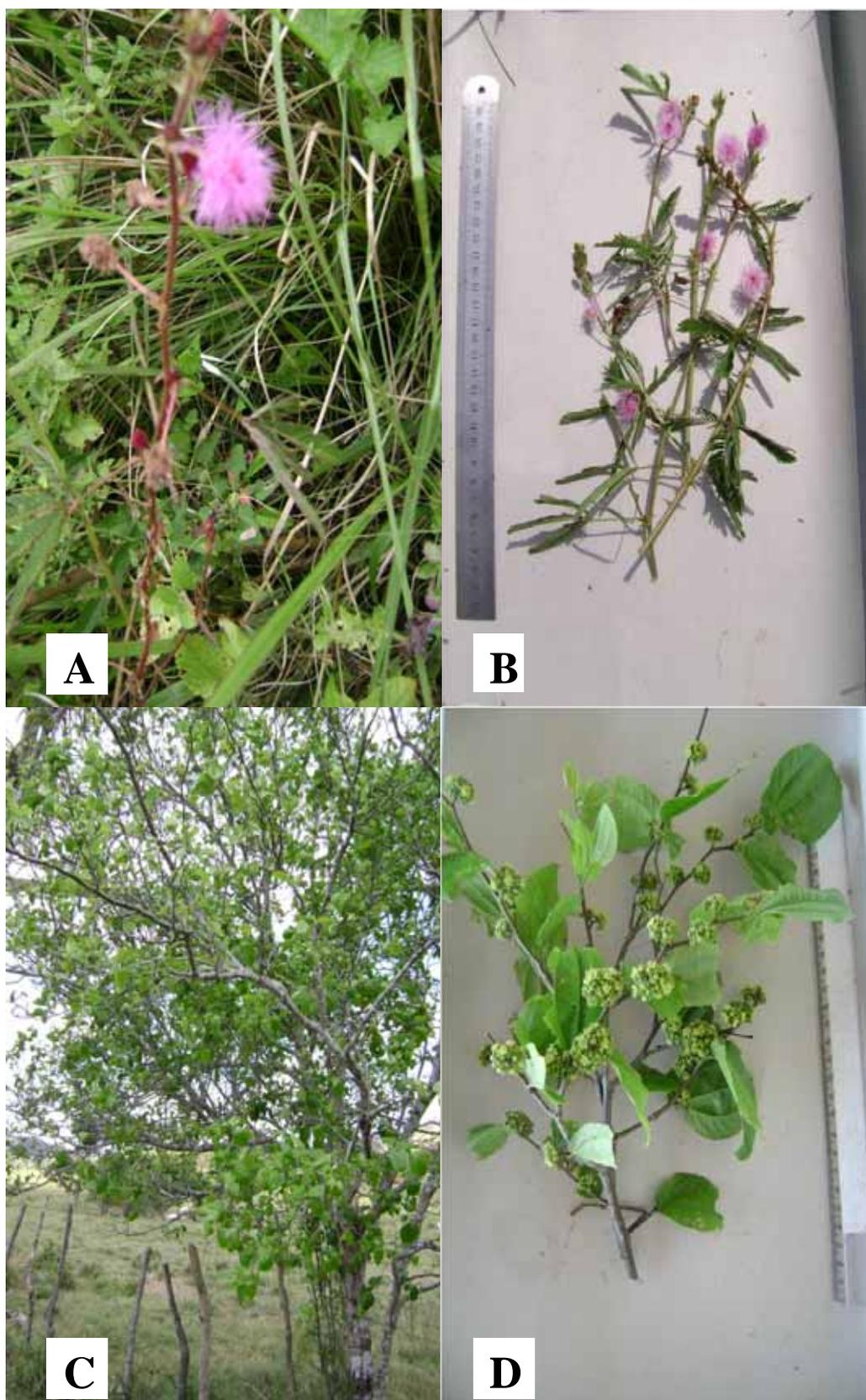


FIGURA 7. Fotografias das plantas coletadas durante a estação de seca de 2008/09, em seu habitat natural nos três apiários representativos de mesoregiões do Estado de Alagoas, e suas exsicatas. **A-B:** *Mimosa misera* Benth (malícia). **C-D:** *Spondias mombin* L. (cajá).

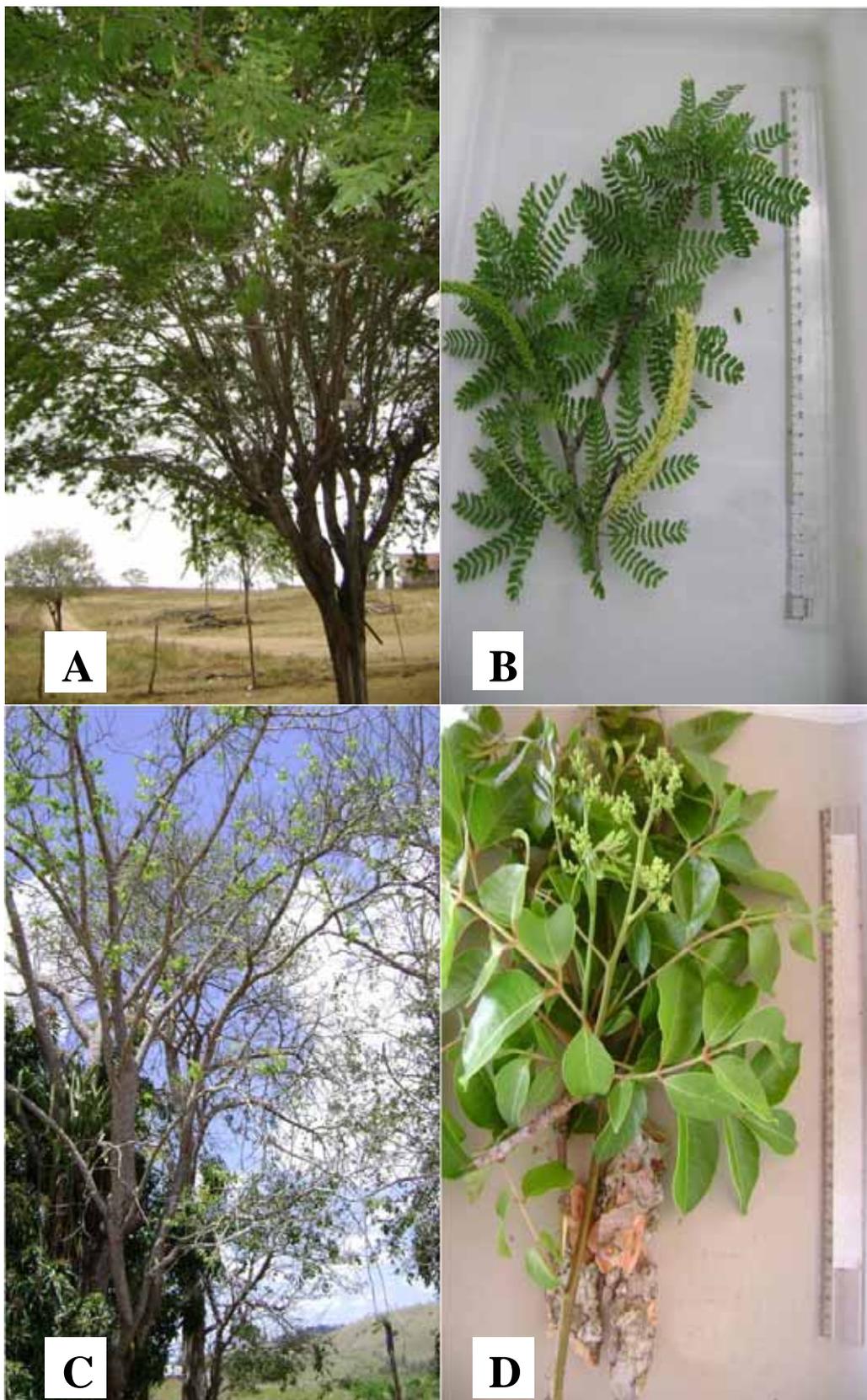


FIGURA 8. Fotografias das plantas coletadas nos três apiários alagoanos alvo do estudo, durante a estação de seca de 2008/09, em seu habitat natural e suas exsicatas. **A-B:** *Prosopis juliflora* (Sw) DC (algaroba). **C-D:** *Zizyphus joazeiro* Mart (juazeiro).

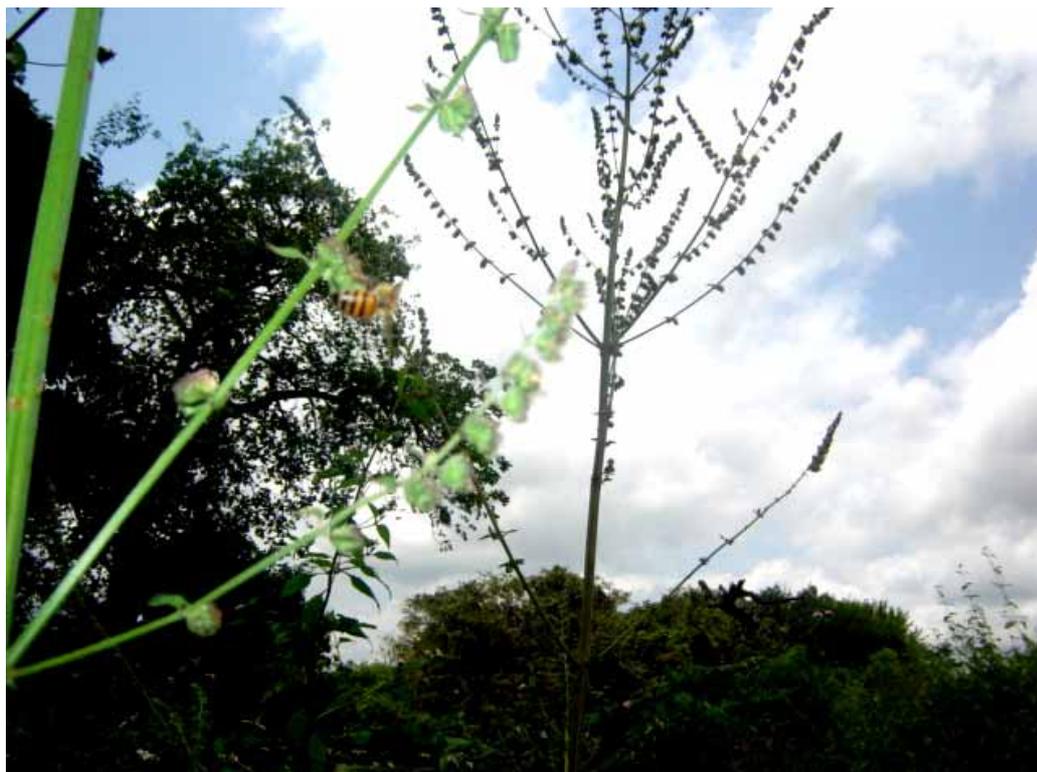


FIGURA 9. Fotografia de abelha africanizada (*Apis mellifera*) visitando espécime de *Hyptis suaveolens*, na estação seca de 2008/09, o apiário “Princesa das Matas”, localizado em Viçosa, Estado de Alagoas.