

Pólen apícola

Características da produção e da qualidade



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio-Norte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 283

Pólen apícola **Características da produção e da qualidade**

*Maria Teresa do Rêgo Lopes
Ana Lúcia Horta Barreto
Fábia de Mello Pereira
Bruno de Almeida Souza
Luís José Duarte Franco
Schirlayne de Sousa Lima da Silva*

Embrapa Meio-Norte
Teresina, PI
2022

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Comitê Local de Publicações da Unidade Responsável

Embrapa Meio-Norte

Av. Duque de Caxias, 5.650,
Bairro Buenos Aires
Caixa Postal 01
CEP 64008-480, Teresina, PI

Fone: (86) 3198-0500

Fax: (86) 3198-0530

www.embrapa.br/meio-norte

Serviço de Atendimento ao

Cidadão(SAC)

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Presidente

Rosa Maria Cardoso Mota de Alcantara

Secretário-Executivo

Jeudys Araújo de Oliveira

Membros: *Ligia Maria Rolim Bandeira, Edvaldo Sagrilo, Orlane da Silva Maia, Luciana Pereira dos Santos Fernandes, Francisco José de Seixas Santos, Paulo Henrique Soares da Silva, João Avelar Magalhães, Paulo Fernando de Melo Jorge Vieira, Alexandre Kemenes, Ueliton Messias, Marcos Emanuel da Costa Veloso, José Alves da Silva Câmara*

Supervisão editorial

Ligia Maria Rolim Bandeira

Revisão de texto

Francisco de Assis David da Silva

Normalização bibliográfica

Orlane da Silva Maia

Editoração eletrônica

Jorimá Marques Ferreira

Fotos

Maria Teresa do Rêgo Lopes

1ª edição

1ª impressão (2022): formato digital

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Meio-Norte

Pólen apícola : características da produção e da qualidade / Maria Teresa do Rêgo Lopes... [et al.]. - Teresina : Embrapa Meio-Norte, 2022.

PDF (65 p.) : il. ; 16 cm x 22 cm. - (Documentos / Embrapa Meio-Norte, ISSN 0104-866X ; 283).

1. Produto apícola. 2. Composição de alimento. 3. Controle de qualidade. 4. Higiene de alimento. 5. Tecnologia de alimento I. Lopes, Maria Teresa do Rêgo. II. Título. III. Série. IV. Embrapa Meio-Norte.

CDD 638.16 (21. ed.)

Autores

Maria Teresa do Rêgo Lopes

Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia,
pesquisadora da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

Ana Lúcia Horta Barreto

Química Industrial, doutora em Bioquímica, pesquisadora da
Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

Fábia de Mello Pereira

Engenheira-agrônoma, doutora em Zootecnia, pesquisadora
da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

Bruno de Almeida Souza

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador
da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

Luís José Duarte Franco

Engenheiro-agrônomo, mestre em Ciência Animal, analista da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

Schirlayne de Sousa Lima da Silva

Tecnóloga em alimentos, mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins.

Apresentação

No Brasil, a apicultura tem o mel como seu principal produto, com significativos volumes de produção e importância na pauta de exportações. No entanto, outros produtos das abelhas, como o pólen apícola, podem ser considerados promissores para a diversificação da produção e consequente aumento de renda no setor.

O pólen apícola é o produto resultante do pólen das flores que as abelhas recolhem e agregam, com adição de néctar e substâncias salivares, formando pequenas porções (cargas ou bolotas) que são levadas para a alimentação da colônia.

O pólen é a fonte de proteínas das abelhas, mas também é rico em vitaminas, minerais, lipídeos, carboidratos, além de outros compostos bioativos. Em função de seu alto valor nutricional, tem sido utilizado na alimentação humana e de animais como fonte suplementar de energia e nutrientes.

O Brasil apresenta grande potencial para produção de pólen apícola, principalmente pela riqueza e diversidade da flora, clima favorável e eficiência das abelhas africanizadas. Essas condições, aliadas à crescente demanda

do mercado por produtos naturais e com características funcionais, tornam o pólen apícola excelente alternativa para a diversificação da Apicultura. Para o aproveitamento desse potencial produtivo e de mercado, os produtores devem adotar métodos adequados de produção e beneficiamento, além de conhecer os requisitos de qualidade indispensáveis para a comercialização do produto.

Nesse contexto, a Embrapa Meio-Norte apresenta o documento Pólen apícola: características da produção e da qualidade, com o objetivo de divulgar informações básicas sobre o sistema de produção de pólen apícola e as metodologias para as análises físico-químicas exigidas pela legislação brasileira para o controle de qualidade do produto. A publicação apresenta as principais etapas do processo de produção e beneficiamento do produto e as análises laboratoriais para determinação dos padrões qualitativos do pólen apícola, o que pode ser de grande utilidade para técnicos, laboratoristas e produtores e favorecer a obtenção de um produto cada vez mais competitivo no mercado mundial.

Anísio Ferreira Lima Neto
Chefe-Geral da Embrapa Meio-Norte

Sumário

Pólen: definição e características.....	9
Elaboração e utilização do pólen.....	10
Composição do pólen apícola	14
Produção de pólen apícola.....	15
Coletores de pólen apícola e aspectos da produção	16
Coleta e beneficiamento do pólen apícola	19
Controle de qualidade do pólen apícola	22
Preparo de amostras de pólen para realização de análises	
físico-químicas.....	23
Análises físico-químicas	23
Determinação do teor de umidade do pólen apícola (forma original e desidratado)	23
Determinação do teor de cinzas (matéria mineral)	25
Determinação de pH e acidez livre	28

Determinação do pH e da acidez livre	30
Determinação de Lipídios.....	31
Análises de contaminantes orgânicos e inorgânicos no pólen apícola	57
Contaminantes orgânicos – Análises microbiológicas	57
Contaminantes inorgânicos	58
Critérios macroscópicos e microscópicos	59
Referências	59

Pólen: definição e características

O termo pólen, originado do grego “pales” = “farinha” ou “pó”, refere-se ao conjunto dos minúsculos grãos contidos nas anteras dos estames das angiospermas e gimnospermas e representam o gametófito masculino das plantas (Pereira et al., 2009; Alves, 2013a). Além de ser instrumento da polinização, o pólen se constitui na principal fonte proteica para muitos insetos e especialmente para as abelhas (Melo et al., 2009).

Por definição, pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia (Brasil, 2001a). Cada grão de pólen apícola é um aglutinado de centenas de grãos de pólen floral. Os grãos de pólen variam quanto à forma, tamanho, cor e características morfológicas, o que possibilita sua utilização na identificação das espécies vegetais (Almeida-Muradian et al., 2005; Melo et al., 2009).

O pólen apícola pode apresentar-se em várias cores (Figura 1), principalmente amarelo, bege, alaranjado e vermelho, como também roxo, esverdeado, cinza e preto. A coloração do pólen apícola varia conforme sua origem botânica e composição química. As práticas utilizadas na coleta, beneficiamento e armazenamento também podem interferir na coloração do pólen apícola. Por exemplo, se ocorrer demora na coleta do pólen na colmeia pelo apicultor, pode ocorrer oxidação do produto, o que vai influenciar na sua coloração (Almeida-Muradian et al., 2005). O grão de pólen apresenta aspecto heterogêneo, de forma e tamanhos variados, tendendo a esféricos, possui aroma, sabor e cor característicos, de acordo com a origem floral (Nogueira-Couto; Couto, 2006).



Foto: Schirlayne de Sousa Lima da Silva

Figura 1. Coloração do pólen apícola oriundo de vegetação silvestre.

Elaboração e utilização do pólen

As abelhas operárias coletam o pólen nos estames das flores, aglutinando-o com néctar e substâncias salivares, e o transportam à colmeia em forma de bolotas aderidas às suas pernas posteriores para utilização na alimentação da colônia (Figura 2).



Foto: Maria Teresa do Rêgo Lopes

Foto: Maria Teresa do Rêgo Lopes

Foto: Ana Lúcia Horta Barreto

Figura 2. Operárias de *Apis mellifera* L. com cargas de pólen nas pernas posteriores.

Para as abelhas, o pólen é fonte de proteínas naturalmente disponível, além de fornecer lipídios, vitaminas, carboidratos e sais minerais (Winston, 2003; Brodschneider; Crailsheim, 2010). É utilizado para a alimentação das crias e de abelhas adultas e seu consumo é essencial para as abelhas nutrizas, operárias responsáveis pela alimentação das crias, pois elas só produzem a geleia real a partir dos nutrientes liberados pela digestão do pólen, que é metabolizado pelas células de suas glândulas hipofaríngeas e mandibulares (Crailsheim, 1990; Winston, 2003; Modro; Message; Meira-Neto, 2007; Epagri, 2017).

A presença de pólen na colônia é indispensável para o desenvolvimento das crias. Pesquisas demonstram a necessidade média de 145 mg de pólen para que uma abelha operária complete seu ciclo de vida (Marchini et al., 2006). As exigências de uma colônia variam, sendo estimada uma coleta anual de 40 Kg a 60 kg de pólen por colônia, com variações em função da disponibilidade de floradas e da produção de crias. Quanto maior a quantidade de cria na colônia, maior a coleta de pólen, e a presença de pólen estimula a postura da rainha (Nogueira-Couto; Couto, 2006). As abelhas despendem grande esforço na coleta desse recurso, sendo estimada a necessidade de realizar cerca de um milhão de viagens por ano para a coleta de 15 kg de pólen e que, para coletar uma carga de pólen (cerca de 15 mg), uma abelha pode visitar de 1 a 500 flores (Winston, 2003; Bogdanov, 2016).

Ao visitar as flores, as abelhas campeiras ou forrageadoras tocam os estames e ficam com os corpos cobertos de grãos de pólen. Em seguida, utilizando pelos presentes nas pernas, escovam-se para recolher e juntar os grãos de pólen formando bolotas, que são acomodadas em estruturas especiais denominadas corbículas ou cestas polínicas, localizadas nas pernas posteriores (Figura 3) (Winston, 2003; Brodschneider; Crailsheim, 2010; Bogdanov, 2016).



Foto: Ana Lúcia Horta Barreto

Foto: Maria Teresa do Rêgo Lopes

Figura 3. Abelha *Apis mellifera* L. com grãos de pólen aderidos ao corpo e bolotas de pólen acomodadas nas pernas posteriores.

No processo de formação das cargas de pólen, os grãos são aglutinados por meio da adição de néctar e de secreções salivares das abelhas que contêm diferentes enzimas, como a amilase e a catalase (Bogdanov, 2016).

Na colmeia, as cargas de pólen são transferidas para os favos (Figura 4), onde são empurradas e compactadas no fundo dos alvéolos por outras operárias, que utilizam a cabeça para isso. Nesse processo, são acrescentados néctar e secreções salivares das operárias, os quais proporcionam a fermentação láctica do pólen e evitam sua deterioração. Esse produto é comumente chamado “pão de abelha” (Brodschneider; Crailsheim, 2010; Milfont et al., 2011; Bogdanov, 2016).



Figura 4. Pólen armazenado em favos na colmeia.

Quando as cargas de pólen são interceptadas por coletores, equipamentos que retiram as cargas de pólen das abelhas quando elas regressam à colmeia (Figura 5), podem ser recolhidas pelo produtor e beneficiadas para comercialização, dando origem ao produto pólen apícola (Modro et al., 2011; Milfont et al., 2011).

O pólen apícola, que é geralmente composto de pólen de várias espécies de plantas, pode ser considerado uma fonte potencial de energia e de nutrientes para humanos e animais por conter carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas e carotenoides, minerais, além de compostos fenólicos, flavonoides, fitoesteróis e terpenos (Almeida-Muradian et al., 2005; Milfont et al., 2011).



Fotos: Schirayne de Sousa Lima da Silva

Figura 5. Operárias de *Apis mellifera* L. em grades de retenção de coletores de pólen apícola.

Por ser um produto rico em nutrientes e compostos bioativos, o consumo de pólen apícola tem sido considerado benéfico à saúde humana, podendo incrementar a nutrição e favorecer o bom funcionamento do organismo, o que o caracteriza como alimento funcional (Kroyer; Hegedus, 2001; Kieliszek et al., 2018). Benefícios do uso do pólen apícola na alimentação animal também têm sido reportados (Rodrigues et al., 2018; Demir; Kaya, 2020; Genova et al., 2020).

As propriedades antioxidantes e antimicrobianas do pólen apícola têm sido investigadas, especialmente em razão do conteúdo de vitaminas e de compostos fenólicos (Leja et al., 2007; Denisow; Denisow-Pietrzyk, 2016; Velásquez et al., 2017), motivo pelo qual o pólen apícola tem sido reportado como produto bioativo, com propriedades potencialmente terapêuticas (Almaraz-Abarca et al., 2007; Campos et al., 2010; Komosinska-Vassev et al., 2015; Kieliszek et al., 2018).

No entanto, uma vez que a composição química do pólen sofre grande variação em função de sua origem botânica, sua atividade biológica também pode variar, o que dificulta sua padronização e, conseqüentemente, seu uso para fins terapêuticos ou medicinais (Melo et al., 2009; Campos et al., 2010; Denisow; Denisow-Pietrzyk, 2016).

O pólen também tem sido usado como ingrediente em produtos aromáticos (tinturas e óleos essenciais), em cosméticos (cremes, máscaras, batons,

sabonetes e xampus) e em alimentos (barras de cereais, chocolates e biscoitos) (Alves, 2013a). Recentemente, tem sido investigado seu uso como antioxidante natural para conservação de produtos alimentícios (Almeida et al., 2017).

Composição do pólen apícola

O pólen apícola apresenta composição química complexa e de difícil padronização, pois varia, principalmente, com a espécie botânica que o originou, idade e estado nutricional da planta, fatores climáticos, estações do ano e práticas utilizadas durante a coleta e beneficiamento do produto (Campos et al., 2008; Carpes, 2008; Melo et al., 2009; Negrão; Orsi, 2018)

Em sua composição, o pólen apícola apresenta de 10% a 40% de proteínas, 13% a 55% de carboidratos, 1% a 13% de lipídios, 0,3–% a 20% de fibra bruta e 2% a 6% de cinzas. Apresenta todos os aminoácidos essenciais, além de enzimas, ácidos graxos linoleico e linolênico e diversos elementos minerais de importância, tais como, potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco, fósforo, entre outros, e vitaminas como β -caroteno, vitaminas C, D, E, vitaminas do complexo B e ácido fólico (Campos et al., 2008; Bogdanov, 2016; Negrão; Orsi, 2018).

Além desses componentes, o pólen apícola também tem fitoesteróis e compostos fenólicos, especialmente ácidos fenólicos e flavonoides, que lhe conferem propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Bogdanov, 2016; Almeida et al., 2017; Negri et al., 2018; Hemmami et al., 2020). Entre os flavonoides presentes no pólen, encontram-se quercetina, rutina, isorhamnetina, kaempferol e os ácidos fenólicos, que correspondem principalmente ao ácido clorogênico (Komosinska-Vassev et al., 2015).

Quando desidratado, o pólen apresenta cerca de 9% de umidade, 7,4% de lipídios, 2,2% de cinzas, ausência de β -caroteno e vitamina C, que são perdidas no processo de desidratação (Almeida-Muradian et al., 2005).

Produção de pólen apícola

O Brasil apresenta grande potencial para produção de pólen apícola, principalmente pela riqueza e diversidade da flora, aliada ao clima tropical e à eficiência das abelhas africanizadas. No Brasil, a produção de pólen apícola iniciou-se no final da década de 1980 (Barreto et al., 2006), no entanto essa produção ainda é pequena, quando comparada com a de mel, e estima-se que a oferta do produto é insuficiente para atender a demanda do mercado (Sebrae, 2017). Existem dois importantes polos produtivos no País: a região Sul, tendo Santa Catarina como principal estado produtor, e o Nordeste, com a Bahia como principal produtor (Barreto et al., 2005a) e Sergipe, cuja produção tem crescido significativamente (Alves, 2013a). No entanto, em função de condições de clima e de flora favoráveis, outras regiões brasileiras podem ser consideradas de grande potencial para a produção de pólen apícola (Oliveira et al., 2020).

De forma geral, a produção de pólen apícola no Brasil é realizada por pequenos ou médios produtores, com número de colmeias produtivas por estabelecimento que variam de 3 a 300 (Melo et al., 2018). Não existem registros sistemáticos de produção de pólen apícola no Brasil. Na Bahia, existem informações de que uma única cooperativa do município de Canavieiras produziu de 4 a 5 toneladas em 2016 (Sebrae, 2017). Em Sergipe, estima-se que a produção anual seja de 6 toneladas (Alves, 2013a).

Atualmente, a procura de pólen apícola, tanto no mercado interno como externo, tem impulsionado sua produção. O preço pago ao produtor é superior ao do mel, com variações entre R\$ 45,00/kg e R\$ 100,00/kg (Sebrae, 2017; Senar, 2020) ou valores superiores, de acordo com a região, o que reforça o potencial do pólen para a diversificação da produção apícola.

Coletores de pólen apícola e aspectos da produção

Para a produção do pólen apícola, o apicultor deve realizar um manejo diferenciado das colmeias, com uso de coletores específicos para esse fim. Os coletores apresentam uma grade de retenção ou tela (também chamada trampa), com orifícios de 4,3 mm a 5 mm, que possibilitam a passagem das abelhas, mas forçam o desprendimento das bolotas de pólen presas em suas pernas (Figura 5).

As cargas de pólen caem em recipiente coletor (Figura 6), posicionado abaixo, em forma de gaveta ou cocho, de onde são recolhidas pelo apicultor. Esse recipiente coletor é recoberto por uma tela (malha de 3 mm) que impede o acesso das abelhas ao pólen coletado. É recomendável que o fundo da gaveta seja constituído por uma tela fina para favorecer a circulação de ar e evitar a deterioração do pólen por excesso de umidade. Os coletores são geralmente confeccionados em madeira, com as grades de retenção de chapa de plástico ou acrílico de 2 mm a 3 mm de espessura (Alves, 2013a).

Fotos: Maria Teresa do Rêgo Lopes



Figura 6. Recipiente coletor ou gaveta com o pólen a ser coletado.

De maneira geral, podem ser utilizados modelos de coletores internos ou externos à colmeia. O mais utilizado é o externo, posicionado no alvado (entrada da colmeia) (Figura 7), que apresenta praticidade de manuseio pela facilidade de retirada da gaveta para coleta do pólen, sem necessidade de abertura da colmeia. No entanto, nesse coletor, o pólen fica exposto ao ambiente, devendo ser recolhido diariamente para evitar exposição a fatores ambientais e contaminações.



Fotos: Maria Teresa do Rêgo Lopes

Figura 7. Coletores de pólen externos posicionados no alvado da colmeia.

Os coletores internos podem ser de fundo ou piso, quando substituem o fundo e o alvado da colmeia, ou do tipo topo ou superior, quando posicionados acima do ninho ou da melgueira, ficando o alvado antigo fechado (Alves, 2013a). Os coletores internos apresentam a vantagem de que o pólen coletado fica protegido da umidade, no interior da colmeia, por isso é recomendado para regiões com chuvas frequentes e elevada umidade do ar (Epagri, 2017).

Antes da instalação, os coletores devem ser lavados em água corrente, higienizados com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e expostos ao sol, protegidos de poeira ou de outros contaminantes. É recomendável dispor de uma gaveta sobressalente para que, no momento da coleta do pólen, a gaveta em uso seja substituída por outra já higienizada (Alves, 2013a; Epagri, 2017).

Após a instalação do coletor, recomenda-se deixá-lo sem a grade de retenção por um período de 2 a 4 dias para permitir a adaptação das abelhas (Figura 8). A coleta do pólen não deve ser feita por longos períodos sem interrupção, pois a colônia necessita de pólen para o seu desenvolvimento. Uma das formas de manejo, para que não falte pólen na colmeia, consiste em utilizar a grade de retenção por 2 dias consecutivos e retirá-la, deixando a entrada livre por 1 dia (Milfont

et al., 2011). Esses intervalos devem ser ajustados de acordo com a disponibilidade de floradas, devendo ser aumentado o período sem coleta em épocas de escassez de flores.



Foto: Schiflayne de Sousa Lima da Silva

Foto: Maria Teresa do Rêgo Lopes

Figura 8. Colocação/retirada da grade de retenção de coletores de pólen de alvado.

As colmeias destinadas à produção de pólen apícola devem apresentar uma população média (cerca de 50 a 60 mil abelhas) e em crescimento, pois a presença de crias estimula a coleta de pólen. Para isso, é importante que as rainhas sejam novas (menos de 1 ano de idade) e com boa produção de crias. Além disso, deve-se realizar manejo criterioso, com substituição de quadros velhos e danificados por quadros com cera nova, para que exista sempre espaço disponível para a postura da rainha. É importante que exista alimento na colmeia (pelo menos dois quadros com mel) e, sempre que necessário, fornecer alimentação suplementar (Milfont et al., 2011; Alves, 2013a; Epagri, 2017).

A época de produção do pólen é muito diversificada e variável, mesmo em locais muito próximos. O volume de produção sofre grande variação, pois está diretamente relacionado à existência de plantas poliníferas em florescimento na área. Considera-se razoável uma média de 5,0 kg a 7,0 kg por colmeia por mês, entretanto há locais com abundância de palmáceas que permitem produção intermitente de janeiro a dezembro, podendo atingir um volume excepcional de 40 kg por colmeia por mês (Alves, 2013a).

Assim torna-se importante o conhecimento do potencial produtivo de cada região, com a identificação de plantas com elevada oferta polínica e suas épocas de florescimento, de forma a orientar o manejo das colônias para obtenção de bons níveis de produção. O enriquecimento do pasto apícola no entorno dos apiários com espécies poliníferas também é uma importante estratégia para o incremento da produção de pólen apícola.

Além do conhecimento sobre o potencial produtivo de cada região, torna-se importante também a avaliação das características físico-químicas e aspectos da composição desse produto como ferramentas para determinação de sua qualidade visando a inserção no mercado (Souza et al., 2004).

Coleta e beneficiamento do pólen apícola

Quando se utilizam coletores frontais, a coleta do pólen deve ser feita diariamente, já que nesses equipamentos o pólen fica exposto ao ambiente e, conseqüentemente, a temperatura e a umidade do ar podem modificar suas características. No caso dos coletores internos, a coleta pode ser feita a cada 2 ou 3 dias. Em dias chuvosos ou com alta umidade do ar, deve-se evitar o uso da grade de retenção para coleta de pólen (Camargo et al., 2003).

Durante a coleta, a fumaça deve ser utilizada de forma moderada e o fumegador não deve ser direcionado para os coletores, de forma a evitar que o pólen absorva o cheiro da fumaça.

A gaveta com pólen deve ser substituída por outra higienizada e o pólen coletado deve ser transferido para recipientes (bandejas ou baldes) devidamente limpos, secos e com tampa, para o transporte até a sala de manipulação. As gavetas dos coletores retiradas devem ser higienizadas a cada coleta (Camargo et al., 2003; Alves, 2013b; Epagri, 2017).

O pólen apícola recolhido deve ser levado a ambiente adequado, onde serão realizadas todas as etapas necessárias ao beneficiamento/processamento

para originar o produto “pólen apícola desidratado”, de forma a manter suas propriedades e proporcionar maior “tempo de prateleira” (Barreto et al., 2006). A Instrução Normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001, define e caracteriza o pólen apícola desidratado como o produto submetido ao processo de desidratação em temperatura não superior a 42 °C e com teor de umidade não superior a 4% (Brasil, 2001a).

O ambiente e as ações para o processamento devem seguir as normas estabelecidas no Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/industrializadores de alimentos, as quais constam na Portaria Nº 368, de 04/09/1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2001a).

No ambiente para manipulação e processamento do produto, o pólen recém-coletado deve ser inicialmente submetido a uma pré-limpeza. Para isso, o pólen deve ser distribuído em bandejas (de plástico atóxico ou de inox) e, com o auxílio de pinças de aço inoxidável, devem ser retiradas impurezas como abelhas mortas, folhas ou outras impurezas. Em seguida, o produto deve ser acondicionado em recipientes com tampa, próprios para alimentos, e levados ao freezer para congelamento por, no mínimo, 48 horas. O congelamento servirá para matar ovos e larvas de insetos, ácaros e para evitar a proliferação de fungos e bactérias (Milfont et al., 2011; Bogdanov, 2016).

Para a realização das próximas etapas de processamento, o pólen apícola deve ser descongelado, de preferência de forma lenta, para que a água congelada no interior do pólen possa reintegrar-se gradativamente. Para isso, o produto deve ser mantido em refrigerador por um período de 4 a 8 horas (Camargo et al., 2003; Milfont et al., 2011).

Após descongelado, o produto deve passar pelo processo de desidratação. Essa etapa pode ser realizada por meio de estufas com circulação de ar. O pólen deve ser distribuído em finas camadas, em bandejas teladas colocadas em forma de prateleiras na estufa, para que o processo ocorra

de forma homogênea. O revolvimento do pólen nessa etapa também ajuda a uniformizar a desidratação (Milfont et al., 2011). A temperatura da estufa deve ser mantida entre 40 °C e 42 °C por um período de 8 a 12 horas, em média, após o qual o produto deve apresentar umidade não superior a 4% (Brasil, 2001). Como a umidade inicial do produto varia de 15% a 30% e é bastante influenciada pelas condições ambientais no período de coleta, muitas vezes é necessário que o período de desidratação seja maior (24 horas ou mais).

A etapa seguinte à desidratação é a aeração ou ventilação, que consiste em submeter o produto a um sistema de ventilação com o objetivo de retirar impurezas menores e mais leves, como fragmentos de abelhas, resíduos vegetais, poeira, própolis e outros elementos estranhos que ainda permanecem no pólen. Para essa finalidade, podem ser utilizados equipamentos específicos chamados sopradores de pólen, que utilizam jatos de ar seco de forma a não interferir no teor de umidade do produto (Milfont et al., 2011). Após a aeração, ainda se realiza uma limpeza final por meio de catação manual, com o auxílio de pinças, quando são retiradas impurezas que porventura ainda persistam no pólen apícola. Nessa etapa, podem ser utilizadas lupas para auxiliar a identificação das impurezas (Camargo et al., 2003; Alves, 2013a).

Para comercialização, o pólen apícola desidratado pode ser envasado em embalagens diversas como recipientes de vidro ou de plástico atóxico (potes, sacos ou baldes) próprios para acondicionar alimentos. O envase deve ser realizado de forma rápida e em ambiente seco, de preferência com desumidificadores para evitar a absorção de umidade pelo produto, que é altamente higroscópico. O armazenamento do pólen apícola beneficiado e envasado deve ser feito em local seco, arejado e ao abrigo da luz, com o objetivo de preservar as características do produto e manter suas propriedades nutricionais (Milfont et al., 2011).

Controle de qualidade do pólen apícola

As características do pólen apícola estão estreitamente relacionadas à sua origem floral, no entanto a qualidade do produto final depende da realização das etapas de coleta e de beneficiamento de forma adequada, para que sejam preservadas tanto quanto possível as características originais do produto.

Para garantir o controle da qualidade do pólen apícola e possibilitar sua comercialização para os mercados interno e externo, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou em 2001 uma legislação específica com padrões de identidade e qualidade do pólen apícola produzido no País. Esse regulamento consta na Instrução Normativa Nº 03, de 19 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001a), em que são estabelecidos os requisitos físico-químicos para avaliação da qualidade do pólen apícola (Tabela 1).

Tabela 1. Requisitos físico-químicos e limites estabelecidos pela legislação brasileira para avaliação da qualidade do pólen apícola.

Requisito físico-químico	Limite estabelecido pela legislação brasileira
Umidade	Pólen apícola: máximo de 30% Pólen apícola desidratado: máximo de 4%
Cinzas	Máximo de 4%; m/m, na base seca
Lipídios	Mínimo de 1,8%; m/m, na base seca
Proteínas	Mínimo de 8%; m/m, na base seca
Açúcares totais	14,5% a 55,0%; m/m, na base seca
Fibra bruta	Mínimo de 2%; m/m, na base seca
Acidez livre	Máximo de 300 mEq/kg
pH	4 a 6

Fonte: Brasil (2001a).

Em relação às características sensoriais, a legislação estabelece que o pólen apícola deve apresentar aroma, cor e sabor característicos, de acordo com a origem floral, aspecto dos grãos heterogêneo, de forma e tamanho variados, tendendo a esféricos (Brasil, 2001a).

Preparo de amostras de pólen para realização de análises físico-químicas

Para a realização das análises físico-químicas de pólen apícola, as amostras obtidas por meio de coletores instalados nas colmeias devem ser submetidas aos procedimentos de pré-limpeza, congelamento e limpeza final, conforme descrito no item Coleta e Beneficiamento do Pólen Apícola. No caso de pólen apícola desidratado, devem ser realizadas todas as etapas descritas no referido item até a limpeza final.

Tanto para o produto em sua forma original como para o pólen apícola desidratado, é necessário ter cerca de 30 g de amostra para a realização de todas as análises físico-químicas.

Análises físico-químicas

Determinação do teor de umidade do pólen apícola (forma original e desidratado)

O teor de água é um parâmetro de grande relevância na avaliação da qualidade do pólen apícola, pois interfere em suas características sensoriais e na sua conservação. Valores elevados de umidade podem favorecer o crescimento microbiano, especialmente de fungos e leveduras, e a ocorrência de reações bioquímicas responsáveis pela deterioração, o que vai alterar as características originais do produto e reduzir sua vida útil (Marchini et al., 2006; Morgano et al., 2011). Por outro lado, a desidratação

excessiva do pólen apícola (teor de água abaixo de 4%) também traz prejuízos às suas características sensoriais (Bogdanov, 2016). De acordo com a legislação brasileira, o teor máximo de umidade permitido para o pólen apícola (produto coletado em sua forma original) é de 30%, enquanto para o pólen apícola desidratado (produto submetido à desidratação à temperatura não superior a 42 °C) o limite de umidade é de 4% (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Fundamenta-se na medida gravimétrica (determinação da massa) do teor de água presente na amostra, utilizando-se estufa à temperatura de 105 °C (Pregnoatto; Pascuet, 1985; AOAC, 2000; Zenebon et al., 2008). A metodologia de análise utilizada é baseada na diferença de massa, antes e após a secagem da amostra em estufa, expressa em porcentagem.

O método é aplicado tanto para o pólen apícola em sua forma original como para o pólen apícola desidratado.

Materiais

- Dessecador
- Cadinho de porcelana
- Espátula
- Pinça

Equipamentos

- Estufa
- Balança analítica

Procedimento

- Colocar três cadinhos de porcelana em uma estufa de esterilização a 105 °C por 1 hora.

- Retirar os cadinhos com o auxílio de uma pinça e colocar em um dessecador por aproximadamente 60 minutos.
- Pesquisar os cadinhos em balança analítica e anotar o peso 1 (P1).
- Pesquisar aproximadamente 3,0 g da amostra de pólen previamente homogeneizada e triturada em cada cadinho e levar à estufa a 105 °C por 2 horas.
- Retirar os cadinhos da estufa com o auxílio de uma pinça e colocar no dessecador até esfriar.
- Pesquisar os cadinhos e anotar o peso 2 (P2).
- O cálculo do teor de umidade em pólen apícola é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ de umidade} = \frac{P2 - P1}{W} \times 100$$

Em que:

P1 = peso do cadinho tarado a 105 °C

P2 = peso do cadinho + amostra seca a 105 °C

W = peso da amostra

Determinação do teor de cinzas (matéria mineral)

O conteúdo de minerais ou cinzas é essencial para manter a proteção, a atividade, a homeostase e a saúde das células (Thakur; Nanda, 2020). O conteúdo de cinzas no pólen apícola varia em função de sua origem floral; dessa forma, varia em função dos diferentes locais de produção e épocas do ano. O teor de cinzas também pode ser influenciado pela poluição ambiental e por práticas inadequadas de coleta e de beneficiamento do produto (Nogueira et al., 2012). Altos teores de cinza apontam a presença de contaminantes inorgânicos, como sílica, terra, areia, fuligem de fumigador e

metais (Almeida-Muradian et al., 2012), o que pode sinalizar irregularidades no processo produtivo e/ou no beneficiamento. Assim o teor máximo de cinzas estabelecido pela legislação brasileira vigente em pólen apícola é no máximo de 4% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Fundamenta-se na medida gravimétrica do teor de cinzas, utilizando-se mufla à temperatura de 550 °C a 600 °C, calcinando por 6 horas. O teor de cinzas é obtido ao se calcinar o pólen em cadinho, eliminando-se toda a matéria orgânica, ficando apenas a matéria de origem mineral. As determinações são feitas em triplicata e o resultado é determinado por diferença de pesagem entre a massa do cadinho vazio e a massa do cadinho com o resíduo, expresso em porcentagem (AOAC, 1995; Brasil, 2019)

Materiais

- Dessecador
- Cadinho de porcelana
- Espátula
- Pinça para cadinho (35 cm ou maior)

Equipamentos

- Mufla
- Balança analítica

Procedimento

- Colocar três cadinhos, identificados com lápis grafite na parte inferior, em forno mufla a 550 °C a 600 °C por 20 a 30 minutos.

- Desligar a mufla e aguardar diminuir a temperatura para aproximadamente 200 °C.
- Retirar os cadinhos da mufla com o auxílio de uma pinça.
- Colocar os cadinhos em um dessecador por aproximadamente 2 horas.
- Pesar cada cadinho depois de frios em balança analítica e anotar o peso 1 (P1).
- Pesar aproximadamente de 2 g a 3 g da amostra de pólen triturada em cada cadinho.
- Colocar em mufla a 550 °C a 600 °C por 6 horas.
- Desligar a mufla e aguardar diminuir a temperatura para aproximadamente 250 °C.
- Retirar os cadinhos da mufla com o auxílio de uma pinça e colocar no dessecador até esfriar.
- Pesar os cadinhos e anotar o peso (P2).
- O cálculo do teor de cinzas em pólen é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ cinzas} = \frac{P2 - P1}{W} \times 100$$

Em que:

P1 = peso do cadinho tarado a 600 °C

P2 = peso do cadinho tarado + amostra calcinada a 600 °C

W= peso da amostra de pólen

Determinação de pH e acidez livre

As medidas de acidez (pH e acidez livre) são parâmetros importantes em análise de alimentos por estarem associadas ao estado de conservação do produto, visto que processos de decomposição (como oxidação e fermentação) geralmente alteram esses parâmetros (Zenebon et al., 2008). A acidez é uma característica do pólen apícola influenciada pela presença de ácidos orgânicos em sua composição e pode variar de acordo com sua origem botânica (Marchini et al., 2006). Pela legislação brasileira vigente, a faixa de pH permitida para pólen apícola é de 4 a 6 e o teor máximo de acidez livre é de 300 mEq/kg (Brasil, 2001a).

Princípio do método: A acidez pode ser determinada por métodos que avaliam a concentração de íons de hidrogênio livres (pH) ou métodos que avaliam a acidez titulável (acidez livre). O pH pode ser determinado por processo eletrométrico, com a utilização de equipamentos que são potenciômetros especialmente adaptados que permitem a leitura direta do pH (Zenebon et al., 2008). A determinação da acidez titulável, ou acidez livre, fundamenta-se na titulometria de neutralização dos compostos ácidos presentes no produto, com o uso de solução de hidróxido de sódio 0,1 N até atingir pH 8,3 (AOAC, 1998; Zenebon et al., 2008).

Materiais

- Barra magnética
- Béquer de 100 mL
- Balão de 1.000 mL
- Bureta digital de 50 mL

Equipamentos

- Agitador magnético
- Balança analítica
- pHmetro

Reagentes

- Solução tampão pH 4,0
- Solução tampão pH 7,0
- Fenolftaleína
- Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N

Preparo da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N

- Pesar 4,0 g de NaOH em um béquer de 100 mL.
- Dissolver em água destilada e transferir para um balão de 1000 mL.
- Completar o volume com água destilada.

Padronização da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N

- Utilizar o padrão primário biftalato de potássio ($C_8O_4H_5K$) para a padronização da solução.
- Inicialmente secar o biftalato em estufa a 105 °C por 2 horas.
- Esfriar em dessecador por 30 minutos.
- Pesar cerca de 0,200 g em erlemneyer de 125 mL, em triplicata.
- Anotar os pesos exatos do biftalato.
- Dissolver com 40 mL de água destilada e adicionar três gotas de fenolftaleína.
- Titular com a solução de NaOH 0,1 N (utilizar bureta de 50 mL).
- Anotar os volumes gastos de NaOH.

Determinação do pH e da acidez livre

- Fazer a calibração do pHmetro conforme as instruções do fabricante, com as soluções tampão pH 4 e 7.
- Pesar em um béquer de 100 mL 3,0 g da amostra de pólen, em triplicata, previamente triturada.
- Dissolver com aproximadamente 75 mL de água destilada.
- Agitar no agitador magnético com o auxílio de uma barra magnética para melhor dissolução e homogeneização da solução aquosa de pólen.
- Levar a solução a um pHmetro e anotar o pH. Observar se o bulbo do eletrodo está totalmente imerso na solução.
- Titular com solução de NaOH 0,1 N até pH 8,3 com o auxílio de um agitador magnético e uma bureta (digital, de preferência).
- Anotar o volume gasto.
- O teor de acidez livre é dado em Meq/kg.
- O cálculo do teor de acidez livre em pólen é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ acidez (meq/Kg)} = \frac{V \times f \times 1000}{W(kg)}$$

Em que:

V = mL de solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação

W = peso da amostra de pólen em kg

f = Fc = fator de correção da solução de NaOH 0,1 N

Fc = normalidade real / normalidade esperada (0,1 N)

Normalidade Real

Molaridade (M) = normalidade (N); equivalente grama do NaOH = 1

$M = N = m / PM \times V (L)$ (normalidade real)

m = massa do biftalato

PM = peso molecular do biftalato (204 g)

V (L) = volume em litro

Determinação de lipídios

Os lipídios consistem no terceiro maior constituinte do pólen apícola e são essenciais à produção da geleia real (Sattler et al., 2015; Thakur; Nanda, 2020). O pólen das espécies botânicas apresenta conteúdo de lipídios totais, que varia de 1% a 13% do peso seco do pólen (Campos et al., 2008; Bogdanov, 2016). Os lipídios e açúcares contribuem para aumentar o suprimento de energia do pólen apícola. O teor de lipídeos no pólen apícola pode ser diferenciado em função das espécies florais visitadas e das condições ambientais e climáticas (Melo et al., 2009; Ares et al., 2018; Oliveira et al., 2020) e é influenciado pelos métodos de beneficiamento e de armazenamento (Domínguez-Valhondo et al., 2011) que, se forem realizados de forma inadequada, podem provocar perdas e prejuízos nutricionais ao produto.

Teores de lipídios inferiores aos preconizados pela legislação vigente podem indicar a degradação dos lipídios presentes no pólen apícola (Barreto, 2004). Nesse sentido, o teor de lipídios estabelecido pela legislação para o pólen apícola é de, no mínimo, 1,8% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Fundamenta-se na medida gravimétrica do teor de lipídios extraído por solvente orgânico (éter de petróleo), utilizando-se extrator soxhlet em aquecimento em bloco, à extração contínua, com refluxo por 6 horas. O resíduo extraído é transferido para uma estufa a 105 °C, resfriado em dessecador e pesado (Pregnotto; Pascuet, 1985; AOAC, 1995). O resultado é expresso em porcentagem.

O éter de petróleo tem grande capacidade de solubilizar gorduras, óleos e outras substâncias gordurosas solúveis contidas em amostras de pólen.

Materiais

- Cartucho extrator
- Balão de fundo chato cap. 250 ml
- Conjunto de extrator de soxhlet
- Dessecador
- Espátula
- Papel-filtro
- Pérolas de vidro
- Piceta
- Pinça
- Vidro de relógio

Equipamentos

- Balança analítica
- Capela
- Manta aquecedora
- Estufa

Reagentes

- Éter de petróleo

Procedimento

Preparo da amostra de pólen

- A amostra é homogeneizada e triturada em micromoinho com paletas de aço inox para posterior pesagem.

Extração de lipídios por soxhlet

- Colocar um balão de 250 mL com pérolas de vidro ou cacos de porcelana por 1 hora em estufa a 105 °C.
- Após o término do tempo, retirar e colocar em dessecador e aguardar o resfriamento.
- Pesar e anotar o valor ($Pb1$ = peso do balão).
- Pesar aproximadamente 2 g de pólen pulverizado (W = peso do pólen) em um papel-filtro, em triplicata, dobrar o papel-filtro de forma que a amostra de pólen fique bem acondicionada e colocar o papel no cartucho.
- Acoplar o extrator soxhlet + cartucho com amostra.
- Adicionar aproximadamente 170 mL de éter de petróleo no balão de fundo chato anteriormente pesado e acoplar ao extrator soxhlet.
- Colocar na placa de aquecimento.
- Ligar a água de resfriamento e em seguida a placa aquecedora (controlar a temperatura para aproximadamente 80 °C).
- Deixar o sistema em refluxo por 6 horas.
- Após o término do tempo, recuperar parte do éter de petróleo, de forma que fique aproximadamente uns 10 mL a 20 mL do líquido no balão.
- Desligar o sistema e retirar o balão.
- Colocar na estufa a 105 °C por 3 a 4 horas.
- Retirar o balão e colocar no dessecador.
- Aguardar esfriar e fazer a pesagem ($Pb2$ = peso balão + lipídios).
- O cálculo do teor de lipídios em pólen é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ lipídios} = \frac{Pb2 - Pb1}{W} \times 100$$

Em que:

Pp1 = peso do balão tarado a 105 °C

Pp2 = peso do balão + lipídios seco a 105 °C

W = peso da amostra de pólen

Determinação de fibra bruta (digestor de fibra ANKON 200/220)

A legislação para pólen apícola ainda determina utilizar a análise de fibra bruta, que consiste basicamente na determinação de celulose com pequenas quantidades de lignina e hemicelulose e que atualmente é mais utilizada para análise de rações animais. Esse método pode ser justificado pelo fato de a origem da fibra presente no pólen apícola ser proveniente principalmente da celulose, que forma a parede celular (exina) dos grãos de pólen e o protege contra estresses ambientais (Rebello, 2011). A fibra bruta representa o resíduo das substâncias das paredes celulares. Pela legislação vigente, o teor de fibra bruta permitido em pólen é de, no mínimo, 2% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Fundamenta-se na determinação da parte dos carboidratos resistente ao tratamento sucessivo com ácido e base diluídos, representando a grande parte da fração fibrosa do pólen, constituindo-se, basicamente, de celulose e lignina insolúvel. Nesse método, o teor de fibra bruta é determinado por um equipamento denominado digestor de fibra ANKON 200/220, cujo princípio de funcionamento baseia-se na digestão e filtragem das amostras de alimentos contidas em bolsa de tecido de TNT-100, em ambiente fechado. Essa técnica garante condição homogênea de digestão e filtragem para todas as amostras e possibilita ainda a realização de um número bem maior de análises por dia, pois algumas etapas do método, como as lavagens e filtrações sucessivas, passam a ser feitas no próprio sistema (Komarek et al., 1993, 1994; Berchielli et al., 2001).

A amostra de pólen (1 g) é acondicionada em bolsa de tecido de TNT-100 e submetida à digestão ácida com uma solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 1,25%, com agitação e aquecimento, em refluxo por 40 minutos. Após

filtração e lavagens sucessivas com água destilada até neutralização, é feita a digestão básica com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1,25%, com agitação e aquecimento, em refluxo por 40 minutos. A bolsa com a amostra de pólen é submetida à secagem em estufa a 105 ± 2 °C por 2 horas, resfriada em dessecador e pesada. Em seguida, incinerada em forno do tipo mufla a 600 °C, resfriada e o cadinho com o resíduo é pesado. O teor de fibra bruta é determinado por diferença de pesagem antes e após o processo de queima do resíduo em mufla a 600 °C e expresso em porcentagem.

Materiais

- Balão volumétrico de 1.000 ml
- Bastão de vidro
- Bolsas de TNT (100)
- Bolsa dessecante

Equipamentos

- Balança analítica (precisão de 0,0001 g)
- Digestor de fibra ANKON 200/220
- Estufa de secagem
- Forno mufla
- Seladora

Reagentes

- Acetona
- Ácido sulfúrico PA
- Hidróxido de sódio (NaOH)

Procedimento

Preparo de soluções

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1,25%

- Pipetar 7,0 mL de ácido sulfúrico PA em balão volumétrico de 1.000 mL.
- Completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1,25 %

- Pesar 12,5 g de NaOH em um béquer de 100 mL. Dissolver em água destilada.
- Transferir para um balão de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.

Preparo das bolsas

- Cortar tiras de 10,5 cm x 4,5 cm de tecido de TNT-100 e dobrar ao meio.
- Com uma seladora a quente, dobrar as tirinhas e vedar as laterais formando saquinhos.
- Selar uma bolsa nos três lados para usar o valor do peso para eventual correção de pesagem (C1).

Procedimento

- Utilizar um grafite para identificar as bolsas.
- Pesar a bolsa (W1) e zerar a balança.
- Pesar 0,95 g - 1,00 g de amostra de pólen previamente moída (W2), em triplicata, dentro da bolsa de TNT. Selar completamente a bolsa de filtro dentro do limite de 4 mm do topo com o selador a quente.
- Para efetuar a extração dos materiais não fibrosos da amostra, acondicionar três bolsas por bandeja do equipamento da ANKOM, colocar uma bolsa vazia que vai ser usada como branco C1).

- Inserir o suspensório com as nove bandejas no centro do equipamento de analisador de fibra e colocar o peso do suspensório no topo da nona bandeja para mantê-la submergida.
- Verificar se a válvula de escape está fechada.
- Adicionar a solução de ácido sulfúrico 1,25% em temperatura ambiente até cobrir as amostras (quando for processar 24 amostras, o volume ideal é de 1.900 – 2.000 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) no recipiente do analisador de fibra. Caso for processar menos de 20 bolsas, adicionar um volume mínimo de 1.500 mL da solução para garantir a cobertura da suspensão de bolsa).
- Fechar completamente a tampa do recipiente com o cuidado de que fique bem vedada. Ligar o sistema de agitação e aquecimento.
- Programar para uma temperatura de 100 °C e, quando chegar aos 80 °C, marcar o tempo de 40 minutos.
- Ao final dos 40 minutos, desligar a agitação e aquecimento e aguardar resfriar um pouco o equipamento.
- Abrir a válvula de drenagem lentamente e drenar a solução quente antes de abrir a tampa (a solução do recipiente está sob pressão; por isso a válvula de exaustão necessita ser aberta para liberar a pressão antes de abrir a tampa para remover a solução).
- Após remover a solução quente, fechar a válvula de exaustão e abrir a tampa.
- Adicionar água destilada pré-aquecida à temperatura entre 80 °C – 90 °C até cobrir bem as amostras.
- Fechar a tampa, ligar o aquecimento e agitação e fazer o enxágue por 5 minutos. Repetir o processo de enxágue com água destilada aquecida por mais duas vezes (total de três enxágues).
- Após a terceira lavagem com água quente, repetir o processo de lavagem com uma solução básica.

- Adicionar uma solução de hidróxido de sódio 1,25% em temperatura ambiente até cobrir as amostras. (quando for processar 24 amostras, o volume é de 1.900 – 2.000 mL de solução de NaOH no recipiente do analisador de fibra. Caso for processar menos de 20 bolsas, adicionar um volume mínimo de 1500 mL da solução para garantir a cobertura da suspensão de bolsa).
- Fechar completamente a tampa do recipiente com o cuidado de que fique bem vedada; em seguida, ligar o sistema de agitação e aquecimento.
- Programar para uma temperatura de 100 °C e, quando chegar aos 80 °C, marcar o tempo de 40 minutos.
- Ao final dos 40 minutos, desligar a agitação e aquecimento e aguardar esfriar um pouco o equipamento.
- Abrir a válvula de drenagem lentamente e drenar a solução quente antes de abrir a tampa.
- Após remover a solução quente, fechar a válvula de exaustão e abrir a tampa.
- Adicionar água destilada pré-aquecida à temperatura entre 80 °C – 90 °C até cobrir bem as amostras.
- Fechar a tampa, ligar o aquecimento e agitação e fazer o enxágue por 5 minutos.
- Repetir o processo de enxágue com água destilada aquecida por mais duas vezes (total de três enxágues).
- Após o término do processo de enxágue, retirar as amostras pressionando delicadamente com papel-toalha para retirar o excesso de água das bolsas.
- Colocar as bolsas em um béquer de 500 mL e adicionar acetona suficiente para cobrir as bolsas. Deixar por 3 – 5 minutos.
- Retirar as bolsas da acetona e colocar em uma tela para evaporar a acetona.
- Após evaporação, completar a secagem em estufa a 105 ± 2 °C por 2 horas.

- Retirar as amostras da estufa e colocar diretamente em uma bolsa com velcro com saquinhos de sílica próprios para remover todo o ar.
- Resfriar em temperatura ambiente e pesar as bolsas (não utilizar recipiente dessecador convencional).
- Identificar devidamente cadinhos de porcelana conforme as amostras analisadas.
- Colocar na mufla a 600 °C por 1 hora.
- Desligar a mufla, aguardar resfriar um pouco e remover os cadinhos para o dessecador. Pesar assim que esfriar.
- Após a pesagem, acondicionar as amostras nos respectivos cadinhos.
- Colocar na mufla pelo tempo de 2 horas a 600 °C.
- Resfriar no dessecador e pesar para calcular a perda de peso da matéria orgânica (W3).
- O cálculo do teor de fibra bruta em pólen apícola é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ de fibra Bruta} = \frac{100 \times ((W3 - (W1 \times C1))}{W2}$$

Em que:

W1 = peso da bolsa

W2 = peso da amostra

W3 = peso da matéria orgânica (perda de peso na ignição da bolsa e da fibra)

C1 = fator de vulcanização correta de bolsas novas-média de perda de peso em ignição de uma bolsa nova original (peso final da bolsa após secagem / peso da bolsa original).

Observações pertinentes sobre as bolsas usadas na análise

Uma execução média do fator de correção de bolsas vazias (C1) deve ser utilizada no cálculo da fibra. A inclusão de uma bolsa vazia em cada estudo é, principalmente, usada como uma indicadora de perda de partículas. O C1 sendo maior que 1 indica que as partículas das amostras foram perdidas das bolsas de filtros e depositadas nas bolsas vazias. Qualquer perda de partículas de fibra levará ao resultado errôneo. Se a perda da partícula for observada, então o método de trituração precisa ser avaliado.

Determinação de fibra bruta (método B)

Princípio do método: A amostra de pólen seca e desengordurada é submetida à digestão ácida e básica durante 30 minutos em cada digestão. O resíduo orgânico é recebido em cadinho filtrante, seco em estufa a 105 °C, resfriado em dessecador e pesado; em seguida, incinerado em forno do tipo mufla a 600 °C, resfriado e o cadinho com o resíduo é pesado. O teor de fibra bruta é determinado por diferença de pesagem antes e após o processo de queima do resíduo em mufla a 600 °C e expresso em porcentagem (Silva, 2002; Nogueira; Souza, 2005).

Materiais

- Balão volumétrico de 1.000 ml
- Bastão de vidro
- Béquer de 600 mL, forma alta
- Cadinho filtrante, forma alta, porosidade grossa, 50 mL
- Funil de porcelana Buchner, com diâmetro médio de ± 12 cm
- Papel de tornassol azul

Equipamentos

- Balança analítica (precisão de 0,0001 g)
- Digestor de fibra bruta
- Estufa de secagem
- Forno mufla
- Seladora
- Sistema de vácuo

Reagentes

- Acetona
- Ácido sulfúrico PA
- Álcool etílico
- Álcool octílico ou álcool amílico ou solução antiespumante (silicone)
- Hidróxido de sódio (NaOH)

Preparo de soluções

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1,25%

- Pipetar 7,0 mL de ácido sulfúrico PA em balão volumétrico de 1.000 mL.
- Completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1,25%

- Pesar 12,5 g de NaOH em um béquer de 100 mL.
- Dissolver em água destilada.
- Transferir para um balão de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.

Procedimento

Digestão ácida

- Pesar 2 g a 3 g de amostra de pólen (P1), em triplicata, previamente seca e desengordurada em um béquer de 600 mL.
- Adicionar 200 mL da solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1,25%, fervente, e algumas gotas de antiespumante.
- Levar ao conjunto digestor e deixar em ebulição por exatamente 30 minutos.
- Filtrar quantitativamente, sob vácuo, em funil de Buchner com tela de náilon (ou aço inox ou poliéster).
- Fazer lavagens sucessivas com água destilada quente sobre o resíduo até a neutralização do material, o que pode ser verificado com papel tornassol azul.

Digestão básica

- Transferir o resíduo retido na tela de náilon para o béquer e lavar a tela com 200 mL da solução de hidróxido de sódio a 1,25%, em ebulição, com algumas gotas de antiespumante.
- Levar ao conjunto digestor e deixar em ebulição por exatamente 30 minutos.
- Filtrar quantitativamente, sob vácuo, em cadinho filtrante (previamente seco a 105 °C por 2 horas e esfriado em dessecador).
- Fazer lavagens sucessivas com água destilada quente sobre o resíduo até a neutralização do material, o que pode ser verificado com papel tornassol azul.
- Lavar o resíduo com aproximadamente 20 mL de álcool e 20 mL de acetona para facilitar a secagem e eliminar compostos provenientes das digestões.

- Colocar os cadinhos filtrantes com os resíduos em estufa de secagem a 105 °C (4 a 6 horas).
- Retirar os cadinhos da estufa e esfriar em dessecador.
- Pesar o cadinho com o resíduo e anotar o peso (P2).
- Incinerar em forno do tipo mufla a 600 °C por 2 horas.
- Desligar a mufla e esperar esfriar até 180 °C.
- Retirar o cadinho com o resíduo e colocar no dessecador para esfriar.
- Pesar o cadinho com o resíduo e anotar o peso (P3).
- O cálculo do teor de fibra bruta em pólen apícola é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ de fibra Bruta} = \frac{(P2 - P3) \times 100}{P1}$$

Em que:

P1 = peso da amostra de pólen em gramas

P2 = peso do cadinho com o resíduo em gramas

P3 = peso do cadinho com o resíduo mineral (após calcinação) em gramas

Determinação de proteína

O pólen apresenta um conteúdo expressivo de proteínas (geralmente superior a 15%), e é o segundo grupo mais abundante, após o grupo dos carboidratos (Martins, 2010). Pesquisas realizadas quanto aos teores de proteínas do pólen apícola coletado em várias regiões do Brasil mostraram que pode variar de 15% a 28%, dependendo do local e da origem botânica (Nascimento et al., 2018). A grande variabilidade dos níveis de proteínas encontrados no pólen apícola pode ser explicada

pela diversidade da origem floral e dos fatores biológicos, ecológicos e geográficos relacionados com a sua colheita e também por fatores inerentes à sua manipulação e armazenamento (Orzáez Villanueva et al., 2002; Estevinho et al., 2012). Quase toda a fração proteica está na forma de aminoácidos livres, os quais podem ser assimilados pelo organismo quase imediatamente (Hervatin, 2009). Pela legislação vigente, o teor de proteína em pólen é de, no mínimo, 8% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Método titulométrico de determinação de nitrogênio por Kjeldahl em amostras de pólen. O método consiste em três etapas: 1) digestão da amostra em ácido sulfúrico com catalisadores que resulta em conversão do nitrogênio em amônia; 2) destilação da amônia em uma solução receptora de ácido bórico; 3) quantificação da amônia por titulação com uma solução padrão de ácido clorídrico. O teor de nitrogênio da amostra é expresso em porcentagem. O resultado para proteína é calculado a partir do teor de nitrogênio total, usando-se o fator de conversão de 6,25, expresso em porcentagem (Pregnoatto; Pascuet, 1985; Zeneban; Pascuet, 2005; AOAC, 2000; Silva, 2002).

Materiais

- Almofariz e pistilo
- Balão de 100 mL e de 1.000 mL
- Béquer de 100 mL e de 250 mL
- Bureta semiautomática graduada 1/10 mL
- Erlenmeyer de 125 mL e de 250 mL
- Estantes para tubos de digestão
- Piceta
- Dispensador para ácidos
- Pinça
- Tubos de digestão Kjeldahl de 25 mm x 250 mm

Equipamentos

- Balança analítica com precisão de 0,0001 g
- Bloco de digestão
- Capela de exaustão
- Destilador de proteínas

Reagentes

- Ácido bórico (H_2BO_3)
- Ácido clorídrico (HCl)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 96% a 98%
- Carbonato de sódio (Na_2CO_3) anidro
- Hidróxido de sódio (NaOH)
- Metilorange
- Sulfato de cobre (CuSO_4)
- Sulfato de potássio (K_2SO_4) anidro
- Vermelho de metila
- Verde de bromocresol

Procedimento

Preparo de soluções

Hidróxido de sódio 1:1

- Dissolver em um béquer 1.000 g de NaOH com 1.000 mL de água destilada.
- Deixar esfriar em capela.
- Armazenar em frasco de plástico devidamente identificado.

Ácido bórico (H_3BO_3) a 2%

- Pesar em balança analítica 20 g de H_3BO_3 em um béquer de 500 mL.
- Adicionar 150 mL de água destilada.
- Aquecer em placa quente, em constante agitação, até dissolver.
- Esfriar e completar o volume para 1.000 mL em balão volumétrico.

Indicador misto (verde de bromocresol e vermelho de metila)

- Pesar 0,1 g de verde de bromocresol em um béquer.
- Dissolver com 100 mL de álcool etílico.
- Pesar 0,1 g de vermelho de metila.
- Dissolver com 100 mL de álcool etílico.
- Misturar 15 mL de solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1% com 6 mL de solução alcoólica de verde de bromocresol a 0,1% à solução de ácido bórico a 2%.

Ácido clorídrico 0,02 N

- Medir 1,7 mL de HCl PA com pipeta.
- Transferir para um béquer de 250 mL com água destilada.
- Transferir para um balão de 1.000 mL e completar com água destilada.

Carbonato de sódio 0,01 N

- Secar 1 g de Na_2CO_3 à temperatura de 200 °C durante 1 hora.
- Deixar esfriar em dessecador.
- Pesar 0,53 g do carbonato seco em um béquer.

- Dissolver com água destilada.
- Transferir a solução para um balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.

Padronização da solução de ácido clorídrico (HCl) 0,02 N

- Pipetar 20 mL de Na_2CO_3 0,1 N para três erlenmeyers de 250 mL.
- Adicionar três gotas de metilorange.
- Adicionar HCl 0,02 N na bureta de 25 mL.
- Proceder à titulação (quando ocorrer a primeira mudança de cor, do amarelo para o laranja avermelhado, ferver para eliminar o CO_2 . Esfriar; se a cor voltar ao amarelo, juntar mais solução ácida até que a cor mude para o laranja avermelhado).
- Anotar o volume gasto.
- Calcular a normalidade conforme equação abaixo:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Em que:

N_1 = normalidade do Na_2CO_3 (0,1N)

V_1 = volume do Na_2CO_3 0,1N

N_2 = normalidade do HCl

V_2 = volume gasto da solução de HCl

Mistura digestora

- Pesar 100 g de sulfato de potássio (K_2SO_4).
- Pesar 10 g de sulfato de cobre (CuSO_4).
- Misturar bem em um almofariz com o auxílio de um pistilo.

Procedimento

Digestão da amostra

- Pesar 200 mg de pólen (depende do teor de proteína) em triplicata, em papel-manteiga com dimensões de 4 cm x 4 cm.
- Dobrar o papel em forma de pequenos pacotes.
- Colocar nos tubos de digestão de proteínas.
- Adicionar em cada tubo aproximadamente 2 g de mistura digestora de $K_2SO_4 + CuSO_4$.
- Adicionar em capela 5 mL de H_2SO_4 PA.
- Colocar em seguida no bloco digestor à temperatura de 450 °C.
- Deixar digerir por 1 hora e 40 minutos ou até a amostra passar da cor marrom para verde límpido, tendo o cuidado de não ter nenhum material escuro aderido às paredes do tubo.
- Desligar o bloco e aguardar esfriar na capela.
- Após esfriar, dissolver o sal formado com aproximadamente 10 mL de água destilada.

Destilação da amostra

- Acoplar o tubo de digestão com a amostra digerida no aparelho de destilação.
- Colocar um erlenmeyer de 250 mL, que contenha 10 mL de solução indicadora de H_3BO_3 a 2%, na ponta do condensador, tendo o cuidado de que esta esteja abaixo da superfície da solução.
- Colocar 10 mL de solução de NaOH 1:1 no copo do destilador.
- Abrir a torneira de forma que a solução caia lentamente sobre o tubo com a amostra no aparelho de destilação.
- Dar início à destilação ligando o aquecimento.
- Coletar de 75 mL a 100 mL de destilado.

Titulação da amostra

- Titular o destilado contido na solução de ácido bórico e indicadores até o ponto final (verde para rosa) utilizando HCl 0,02 N.
- Anotar o volume.
- Fazer a leitura de um branco (reagentes menos a amostra) no aparelho para descontar no cálculo os interferentes da análise.
- Anotar o volume gasto.
- O cálculo do teor de proteína em pólen apícola é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ de proteína no pólen} = \% N \times 6,25$$

Observação: O fator 6,25 é normalmente usado para se transformar a porcentagem de nitrogênio em proteína, levando-se em conta que as proteínas contêm, em média, 16% de nitrogênio.

100 de proteína.....16 de N

X.....1 de N

$$X = \frac{100}{16} = 6,25$$

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{(V - Vb) \times N \times 14,007 \times 100}{W}$$

Em que:

V = volume gasto de HCl na titulação da amostra

Vb = volume gasto de HCl no branco

N = normalidade do HCl

W = peso em mg da amostra de pólen utilizada

Determinação de açúcares totais

Grande parte dos carboidratos do pólen apícola é proveniente do néctar ou do mel com o qual o pólen floral é misturado pela manipulação das abelhas para agregar as bolotas de pólen (Human; Nicolson, 2006). Os carboidratos são o maior constituinte do pólen apícola, responsável por quase dois terços do peso seco total do pólen (Li et al., 2018). Os açúcares frutose, glicose e sacarose constituem cerca de 90% do total de açúcares de baixo peso molecular. O teor de açúcar total fora do parâmetro estabelecido pela legislação brasileira, ou seja, com índices acima de 55%, pode sugerir adição de açúcar ao produto, e com índices inferiores a 14,5%, pode ser devido à oxidação de açúcares no pólen a partir de um processo normal de seu envelhecimento ou por exposição excessiva a altas temperaturas (Almeida-Muradian et al., 2012). Dessa forma, a legislação brasileira vigente estabelece o teor de açúcares totais permitido em pólen apícola de 14,5% a 55,0% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Princípio do método: Fundamenta-se na redução da solução de Fehling pelo método modificado de “LANE e EYNON”, por titulação no ponto de ebulição contra uma solução de açúcares presentes na amostra de pólen, usando-se azul de metileno como um indicador interno (Almeida-Muradian et al., 2012). No método, o cobre reativo do Fehling (solução alcalina de sulfato de cobre em tampão de tartarato duplo de sódio e potássio) é reduzido a óxido cuproso, com formação de um precipitado vermelho tijolo, no ponto de final da titulação. A solução de Fehling é padronizada, primeiramente, utilizando-se uma solução de glicose a 0,5%. O resultado do teor de açúcar total é expresso em porcentual.

Materiais

- Balão volumétrico de 100 mL, 250 mL, 500 mL e 1.000 mL
- Barra magnética

- Béquer de 50 mL, 100 mL, 250 mL e 600 mL
- Bureta
- Erlenmeyer de 125 mL
- Piceta
- Pipeta automática (2-5 mL)
- Termômetro

Equipamentos

- Agitador / aquecedor
- Balança analítica
- Banho-maria
- pHmetro

Reagentes

- Acetato de zinco
- Ácido clorídrico
- Ácido sulfúrico
- Azul de metileno
- Fenolftaleína
- Ferrocianeto de potássio
- Glicose
- Hidróxido de sódio
- Sulfato de cobre penta-hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$)
- Tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)

Procedimento

Preparo de soluções

Fehling A

- Pesar 69,28 g de sulfato de cobre penta-hidratado em um béquer de 600 mL.
- Dissolver com água destilada, transferir para um balão volumétrico de 1 litro e completar o volume.
- Armazenar a solução no escuro por 1 dia.

Fehling B

- Pesar 346 g de tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado
- Dissolver com água destilada e acrescentar 100 g de hidróxido de sódio em béquer de 600 mL.
- Transferir para um balão volumétrico de 1 litro e completar o volume.
- Armazenar a solução no escuro por 1 dia.

Glicose 0,5%

- Pesar 0,5 g de glicose em um béquer de 100 mL.
- Adicionar 50 mL de água destilada e agitar.
- Transferir para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume.

Azul de metileno a 0,2%

- Pesar 0,2 g do indicador azul de metileno em um béquer de 50 mL.
- Dissolver com 50 mL de água destilada.
- Transferir para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume.

Fenolftaleína 1%

- Pesar 1,0 g de fenolftaleína em um béquer de 100 mL.
- Dissolver com 50 mL de água destilada.
- Transferir para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume.

Acetato de zinco 1M

- Pesar 54,87 g de acetato de zinco em um béquer de 250 mL.
- Dissolver com 100 mL de água destilada.
- Transferir para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume.

Ferrocianeto de potássio 0,25 M

- Pesar 44,025 g de ferrocianeto de potássio em um béquer de 250 mL.
- Dissolver com 100 mL de água destilada.
- Transferir para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume.

Hidróxido de sódio 0,1 N

- Pesar 4,10 g de hidróxido de sódio em um béquer de 250 mL.
- Dissolver com 50 mL de água destilada sob refrigeração.
- Transferir para um balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume.

Hidróxido de sódio 40%

- Pesar 40 g de hidróxido de sódio em um béquer de 250 mL.
- Dissolver com 50 mL de água destilada.

- Transferir para um balão volumétrico de 100 mL.
- Esperar esfriar e completar o volume.

Preparo da amostra de pólen (solução titulante)

- Pesar 5 g da amostra de pólen homogeneizada em um béquer de 100 mL.
- Dissolver com 50 mL de água destilada.
- Filtrar em papel qualitativo (ou se necessário, centrifugar).
- Neutralizar o filtrado até pH 7,0 com hidróxido de sódio 0,1 N, com auxílio de um pHmetro.
- Lavar o eletrodo e coletar junto com a amostra a água de lavagem.
- Transferir a solução da amostra para um balão de 250 mL.
- Fazer a clarificação, acrescentando à solução 5 mL de acetato de zinco 1 M e 5 mL de ferrocianeto de potássio 0,25 M.
- Agitar o balão por toque, sem fazer a inversão do balão.
- Completar o volume do balão de 250 mL com água destilada.
- Filtrar a solução com papel de filtro quantitativo.
- Separar 50 mL do filtrado em erlenmeyer de 250 mL.
- Acrescentar 5 mL de ácido clorídrico PA e aquecer em banho-maria a 70 °C por 5 minutos (marcar o tempo só depois que a solução chegar a 70 °C).
- Esfriar em água corrente
- Adicionar três gotas de fenolftaleína 1% e neutralizar com NaOH 40% até a solução permanecer rosa-claro.
- Transferir para um balão de 100 mL, completar o volume com água destilada e agitar o balão (solução titulante).

• Padronização da solução de Fehling

- Pipetar 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL da solução de Fehling B, em triplicata, para erlenmeyers de 125 mL e acrescentar 25 mL de água destilada.
- Transferir a solução de glicose 0,5% para uma bureta de 25 mL.
- Esgotar previamente 8 mL da solução de glicose 0,5% contida na bureta para o erlenmeyer.
- Aquecer a mistura fria em uma chapa aquecedora até ebulição e manter em ebulição por 2 minutos.
- Adicionar duas gotas da solução do indicador azul de metileno 0,2%.
- Completar a titulação gota a gota com a solução de glicose 0,5% da bureta, com um tempo total de 3 minutos, até descoloração da solução e formação de um precipitado vermelho tijolo.
- Anotar os volumes gastos totais da solução de glicose.

Determinação

- Pipetar 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL da solução de Fehling B, em triplicata, para erlenmeyers de 125 mL e acrescentar 10 mL de água destilada.
- Transferir a solução da amostra de pólen (solução titulante) para uma bureta de 25 mL.
- Esgotar previamente 5 mL da solução da amostra de pólen (solução titulante) contida na bureta.
- Aquecer a mistura fria em uma chapa aquecedora até ebulição e manter em ebulição por 2 minutos.
- Adicionar quatro gotas da solução do indicador azul de metileno 0,2%.
- Completar a quente a titulação gota a gota com a solução titulante da bureta, com um tempo total de 3 minutos, até descoloração da solução e formação de um precipitado vermelho tijolo.

- Anotar os volumes gastos totais da solução da amostra de pólen (solução titulante).

O cálculo de açúcares Totais em pólen é feito pela equação abaixo:

$$\text{Açúcares Totais} = \frac{100 \times 100 \times F}{P \times V}$$

Em que:

P = massa da amostra de pólen

V = volume gasto de NaOH

F = fator (padronização da solução de Fehling)

$$\text{Fator} = \frac{P1 \times V1}{100}$$

Em que:

P1 = massa de glicose

V1 = volume gasto da solução de glicose

Determinação de açúcares totais por diferença

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA – USP) indica que os carboidratos totais (CH) podem ser medidos por diferença.

O teor de açúcares totais é calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, de proteína, de lipídios, de cinzas e de fibra bruta (TBCA, 2011).

CH totais = (100 g – gramas totais de água, de proteína, de lipídios, de cinzas e de fibra bruta).

Pela legislação vigente, o teor de açúcares totais permitido em pólen é de 14,5% a 55,0% m/m, na base seca (Brasil, 2001a).

Análises de contaminantes orgânicos e inorgânicos no pólen apícola

Contaminantes orgânicos – Análises microbiológicas

O pólen apícola pode sofrer contaminações por microrganismos (leveduras, fungos, bactérias) que podem causar a deterioração do produto ou podem ser patogênicos (Melo, 2015; Bogdanov, 2016). Essa contaminação pode ser oriunda de práticas inadequadas no manejo produtivo e por ocasião da coleta, como higienização deficiente de coletores e recipientes, longo tempo de permanência nos coletores, transporte em condições ambientais e higiênicas inadequadas, entre outros fatores.

Os riscos de contaminação também persistem durante as etapas de processamento e de armazenamento do produto, se não forem adotadas medidas adequadas de higiene no ambiente e dos manipuladores. Além disso, o processo ineficiente de desidratação e a exposição a condições de temperatura e de umidade elevadas podem favorecer o crescimento de microrganismos. Dessa forma, práticas adequadas durante as etapas de produção, de beneficiamento e de armazenamento do pólen apícola, como descritas nos itens Coletores de Pólen Apícola e Aspectos da Produção, e Coleta e Beneficiamento do Pólen Apícola, podem reduzir bastante os riscos de contaminação e crescimento microbiano e garantir a qualidade do produto.

Em relação ao controle da qualidade do pólen apícola quanto à presença de microrganismos, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola estabelece como obrigatória a análise para pesquisa de esporos da bactéria *Paenibacillus larvae* (bactéria causadora da doença Cria Pútrida Americana em abelhas e não traz problemas de saúde para o homem). O regulamento estabelece como resultado aceitável a ausência de esporos de *P. larvae* em 25 g de pólen, cuja pesquisa é realizada de acordo a metodologia descrita na Portaria 248, de 30/12/1998 (Brasil, 2001a).

Em relação a outros tipos de microrganismos, o regulamento estabelece que esses contaminantes não devem estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos em regulamento específico (Brasil, 2001a). No entanto, como ainda não foram estabelecidos regulamentos específicos para análises microbiológicas em pólen apícola, alguns estudos têm adotado como base de pesquisas de microrganismos os padrões estabelecidos pela ANVISA para outros alimentos, considerados similares, de acordo com o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (Brasil, 2001b; Barreto et al., 2005; Melo, 2015).

Contaminantes inorgânicos

O pólen apícola pode sofrer contaminações por compostos inorgânicos como metais pesados e outras substâncias químicas. Essa contaminação ocorre muitas vezes pela proximidade das colônias de áreas com poluição ambiental em razão do tráfego intenso de veículos, indústrias, áreas cultivadas com aplicação intensiva de agrotóxicos, fontes de água contaminadas, entre outros (Bogdanov, 2016; Aldigini et al., 2019).

Os contaminantes inorgânicos podem ser prejudiciais à saúde, pois não se degradam no organismo e podem acumular-se nos tecidos vivos (Virga, 2007). Dessa forma, sua presença no pólen apícola, assim como em qualquer alimento, deve ser evitada ou mantida em níveis mínimos considerados seguros à saúde.

A legislação brasileira estabelece que contaminantes inorgânicos não devem estar presentes no pólen apícola em quantidades superiores aos limites estabelecidos no regulamento específico (Brasil, 2001a). No entanto, assim como em relação aos contaminantes orgânicos, os regulamentos específicos que estabelecem limites para a presença de contaminantes inorgânicos em pólen apícola, ainda não foram elaborados.

Critérios macroscópicos e microscópicos

O pólen apícola pronto para o consumo deve ser livre de elementos estranhos que possam alterar suas características sensoriais, como terra e outras sujeiras, visíveis ou não (macroscópicos e microscópicos) (Barreto et al., 2005). A presença de sujeiras pode indicar a ausência de boas práticas de higiene e/ou o armazenamento inadequado do produto.

Nesse contexto, a legislação brasileira estabelece que o produto não deve conter substâncias estranhas, com exceção dos fragmentos, acidentalmente presentes, de abelhas, de vegetais e de outros inerentes ao processo de obtenção do pólen pelas abelhas (Brasil, 2001a).

Referências

- ALDGINI, H. M. M.; AL-ABBADI, A. A.; ABU-NAMEH, E. S. M.; ALGHAZEER, R. O. Determination of metals as bio indicators in some selected bee pollen samples from Jordan. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1418-1422, 2019.
- ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M. G.; ÁVILA-REYES, J. A.; NARANJO-JIMÉNEZ, N.; CORRAL, J. H.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L. S. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 119-124, 2007.
- ALMEIDA, J. de F.; REIS, A. S. dos; HELDT, L. F. S.; PEREIRA, D.; BIANCHIN, M.; MOURA, C. de; PLATA-OVIEDO, M. V.; HAMINIUK, C. W. I.; RIBEIRO, I. S.; LUZ, C. F. P. da; CARPES, S. T. Lyophilized bee pollen extract: a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, pt. B, p. 299-305, Mar. 2017.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; ARRUDA, V. A. S.; BARRETO, L. M. R. C. **Manual de controle de qualidade do pólen apícola**. São Paulo: APACAME, 2012. 28 p.
- 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, n. 1, p. 105-111, 2005.
- ALVES, M. L. T. M. F. Pólen: alimento e grande fonte de renda para o apicultor. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 10, n. 2, jul./dez. 2013a. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2013/julho-dezembro-1/1393-polen-alimento-e-grande-fonte-de-renda-para-o-apicultor/file.html>. Acesso em: 7 jul. 2021.

ALVES, M. L. T. M. F. Produção de pólen apícola. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 10, n. 2, jul./dez. 2013b. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2013/julho-dezembro-1/1394-producao-de-polen-apicola/file.html>. Acesso em: 7 jul. 2021.

ALVES, R. F. **Análise palinológica do pólen apícola produzido no estado de Sergipe, Brasil**. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg, 2000. 2 v. Edited by William Horwitz.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**, 16th ed. rev. 4 th. Maryland, 1998. 2 v. Edited by Patricia Cunniff.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Arlington, 1995. 2 v. Edited by Patrícia Cunniff.

ARES, A. M.; VALVERDE, S.; BERNAL, J. L.; NOZAL, M. J.; BERNAL, J. Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 110-124, Jan. 2018.

BARRETO, L. M. R. C. **Pólen apícola: beneficiamento, armazenamento e legislação**. 2004.150 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária e Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. Pólen apícola: perfil da produção no Brasil. In: CONGRESSO DE APICULTURA DEL MERCOSUR, 1., 2005, Punta Del Este. **Anais...** Punta Del Este: Sociedad de Apicultores Uruguaya, 2005a. p. 20.

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. de O.; DIB, A. P. da S. **Produção de pólen no Brasil**. Taubaté: Cabral Editora e Livraria Universitária, 2006. 100 p.

BERCHIELLI, T. T.; SADER, O. P. A.; TONANI, F. L.; PAZIANI, S. F.; ANDRADE, P. Avaliação da determinação da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido pelo sistema ANKOM. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1572-1578, 2001.

BOGDANOV, S. Pollen: collection, harvest, composition, quality. In: THE BEE pollen book. Mühlethurnen: Bee-Hexagon, 2016. ch. 1, PDF (13 p.). Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/StefanBogdanov/publication/304011810_Pollen_Collection_Harvest_Compostion_

Quality/links/5762c0c808aee61395bef502/Pollen-Collection-Harvest-Compostion-Quality.pdf. Acesso em: 7 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jan. 2001a. Seção 1, p. 18.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal**. 2. ed. Brasília, DF, 2019. 158 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Resolução RDC. N. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001b. Seção 7-E, p. 45-53.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 278-294, 2010.

CAMARGO, R. C. R. de; RÉGO, J. G. de S.; LOPES, M. T. do R.; PEREIRA, F. de M. **Boas práticas na produção e beneficiamento de pólen apícola desidratado**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. 26 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 81).

CAMPOS, M. G. R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; CHRISTIAN, F.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research**, v. 47, n. 2, p. 154-161, 2008.

CAMPOS, M. G. R.; FRIGERIO, C.; LOPES, J.; BOGDANOV, S. What is the future of Bee-Pollen? **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, v. 2, n. 4, p. 131-144, 2010.

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

COLLIN, S.; VANHAVRE, T.; BODART, E.; BOUSETA, A. Heat treatment of pollens: impact on their volatile flavour constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 444-448, 1995.

CRAILSHEIM, K. The protein balance of the honey bee worker. **Apidologie**, v. 21, n. 5, p. 417-429, 1990.

DEMIR, Z.; KAYA, H. Effect of bee pollen supplemented diet on performance, egg quality traits and some serum parameters of laying hens. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 52, n. 2, p. 549-555, 2020.

DENISOW, B.; DENISOW-PIETRZYK, M. Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 13, p. 4303-4309, 2016.

DOMINGUEZ-VALHONDO, D.; BOHOYO GIL, D.; HERNÁNDEZ, M. T.; GONZÁLEZ- GÓMEZ, D. Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-collected pollen. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 10, p. 2204-2211, 2011.

EPAGRI. **Produção e processamento de polén apícola**. Florianópolis, 2017. 28 p. (Epagri. Boletim didático, 140).

ESTEVINHO, L. M.; RODRIGUES, S.; PEREIRA, A. P.; FÉAS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 429-435, 2012.

HEMMAMI, H.; BEN SEGHIR, B.; BEN ALI, M.; REBIAI, A.; ZEGHOUD, S.; BRAHMIA, F. Phenolic profile and antioxidant activity of bee pollen extracts from different regions of Algeria. **Ovidius University Annals of Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 93-98, 2020.

HERVATIN, H. L. **Avaliação microbiológica e físico-química do pólen apícola *in natura* e desidratado sobre diferentes temperaturas**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

HUMAN, H.; NICOLSON, S. W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). **Phytochemistry**, v. 67, n. 14, p. 1486-1492, 2006.

KIELISZEK, M.; PIWOWAREK, K.; KOT, A. M.; BŁAŻEJAK, S.; CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, A.; WOLSKA, I. Pollen and bee bread as new health-oriented products: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p.170-180, Jan. 2018.

KOMAREK, A. R.; ROBERTSON, J. B.; VAN SOEST, P. J. Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest NDF analysis of 21 feeds. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY EVALUATION AND UTILIZATION, 1994, Lincoln, Nebraska. **Proceedings...** Madison: ASA: CSSA: SSSA, 1994. p. 2.

KOMAREK, A. R.; ROBERTSON, J. B.; VAN SOEST, P. J. Comparison of the methods for determining ADF using the filter bag technique versus conventional filtration. **Journal of Dairy Science**, v. 77, supl. 1, p. 114, 1993.

KOMOSINSKA-VASSEV, K.; OLCZYK, P.; KAFMIERCZAK, J.; MENCNER, L.; OLCZYK, K. Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, article 297425, 2015. PDF (6 p.). DOI: 10.1155/2015/297425.

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

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

LI, Q. Q.; WANG, K.; MARCUCCI, M. C.; SAWAYA, A. C. H. F.; HU, L.; XUE, X. F.; WU, L. M.; HU, F. L. Nutrient-rich bee pollen: a treasure trove of active natural metabolites. **Journal of Functional Foods**, v. 49, p. 472-484, Oct. 2018. DOI: 10.1016/j.jff.2018.09.008.

MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A.; MORETI, A. C. C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 949-953, maio/jun. 2006. DOI: 10.1590/S0103-84782006000300034.

MARTINS, M. C. T. **Pólen apícola brasileiro**: valor nutritivo e funcional, qualidade e contaminantes inorgânicos. 2010. 209 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MELO, A. A. M. de. **Perfil químico e microbiológico, cor, análise polínica e propriedades biológicas do pólen apícola desidratado**. 2015. 341 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos, Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

MELO; A. A. M.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Produção, beneficiamento e adequação à legislação do pólen apícola desidratado, produzido no Brasil. **Revista Ciência em Extensão**, v. 14, n. 2, p. 55-73, 2018.

MELO, I. L. P.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 3, p. 346-53, 2009.

MILFONT, M. de O.; FREITAS, B. M. ALVES, J. E. **Pólen apícola**: manejo para a produção de pólen no Brasil. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2011. 102 p.

MODRO, A. F. H.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. de C. C. Origem botânica de cargas de pólen de colmeias de abelhas africanizadas em Piracicaba, SP. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1944-1951, 2011.

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, ago. 2007.

MORETI, A. C. de C. C. **Pólen**: alimento protéico para as abelhas: complemento alimentar para o homem. [Campinas: Infobibos], 2006. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm. Acesso em: 15 jul. 2019.

MORGANO, M. A.; MARTINS, M. C. T.; RABONATO, L. C.; MILANI, R. F.; YOTSUYANAGI, K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Inorganic contaminants in bee pollen from southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6876-6883, 2010.

NASCIMENTO, J. E. M.; SILVA JÚNIOR, C. G.; SOUZA, T. H. S.; TOLEDO, V. A. A. O pólen apícola e seus benefícios à saúde humana. **Mensagem Doce**, n. 147, artigo 2, jul. 2018. Disponível em: <http://apacame.org.br/site/revista/mensagem-doce-n-147-julho-de-2018/artigo-2/>. Acesso em: 7 jul. 2021.

NEGRÃO, A. F.; ORSI, R. O. Harvesting season and botanical origin interferes in production and nutritional composition of bee pollen. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 325-332, 2018.

NEGRI, G.; BARRETO, L. M. R. C.; SPER, F. L.; CARVALHO, C.; CAMPOS, M. G. R. Phytochemical analysis and botanical origin of *Apis mellifera* bee pollen from the municipality of Canavieiras, Bahia State, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, e2016176, 2018. DOI: 10.1590/1981-6723.17616, errata: 10.1590/1981-6723.21118.

NOGUEIRA, A. R. de A.; SOUZA, G. B. de (ed.). **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 334 p.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHO, L. M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 9, p. 11173-11187, 2012.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 192 p.

OLIVEIRA, P. de A. de; SANTOS, L. F. dos; ELEUTÉRIO, P.; MUNIZ, V. I. M. de S.; OLIVEIRA, J. F. F. de; SÁ, M. de S.; MELO, A. L. de; CAVALCANTE, M. C. Variação temporal na dieta, valor nutricional e produção do pólen coletado por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) em área de caatinga. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, e563997529, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i9.7529.

ORZÁEZ VILLANUEVA, M. T.; DÍAZ MARQUINA, A.; BRAVO SERRANO, R.; BLAZQUEZ ABELLÁN, G. The importance of bee collected pollen in the diet: a study of its composition. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 217-224, 2002.

PEREIRA, M. I.; SILVA, F. A.; MONIKA, B. O.; BICUDO, A. M. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 3, p. 346-353, 2009.

PREGNOLATTO, W.; PASCUET, N. S. (coord.). **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p. 21-22. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.

REBELO K. S. **Caracterização química, físico-química e espectroscópica do pólen coletado por abelhas sem ferrão amazônicas**. 2011. 111 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

RODRIGUES, R. B. L.; PUCCI, E.; UCZAY, A. J.; MOLINARI, M.; LAZZARI, R.; UCZAY, M. Pólen apícola como aditivo em dietas para frangos de corte. **Nativa**, v. 6, n. 5, p. 551-556, 2018.

SATTLER, J. A. G.; DE MELO, I. L. P.; GRANATO, D.; ARAÚJO, E.; DE FREITAS, A. D. S.; BARTH, O. M.; DE ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil. **Food Research International**, v. 77, pt. 2, p. 82-91, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.013.

SEBRAE BAHIA. **Agronegócios**: produção de pólen. Salvador, 2017. 39 p. (Estudo de Mercado). Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/BA/Anexos/P%3%B3len%20na%20Bahia.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2021.

SENAR MINAS. **Produção de pólen é alternativa de renda para apicultores no Norte de Minas**. 2020. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/noticias/producao-de-polen-e-alternativa-de-renda-para-apicultores-no-norte-de-minas>. Acesso em: 16 dez. 2020.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.

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

THAKUR, M.; NANDA, V. Composition and functionality of bee pollen: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 98, p. 82-106, Apr. 2020.

VELÁSQUEZ, P.; RODRÍGUEZ, K.; RETAMAL, M.; GIORDANO, A.; VALENZUELA, L. M.; MONTENEGRO, G. Relation between composition, antioxidant and antibacterial activities and botanical origin of multi-floral bee pollen. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 90, p. 306-314, 2017. DOI: 10.5073/JABFQ.2017.090.038.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 779-785, out./dez. 2007. DOI: 10.1590/S0101-20612007000400017.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003. 276 p.

ZENEBO, O.; PASCUET, N. S. (coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p. (Série A. Normas e manuais técnicos). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.

ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricao/bromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2021.

Embrapa

Meio-Norte

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO