

Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.)

Bioactive compounds contents and antioxidant potential of bee pollen produced by africanized bees (*Apis mellifera* L.)

RIALA6/1283

Jeanne Denise de Souza MENEZES*, Leonardo Fonseca MACIEL, Maria Spinola MIRANDA, Janice Izabel DRUZIAN

*Endereço para correspondência: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo s/n, Campus de Ondina, CEP: 40170-290, Salvador-BA -Brasil. e-mail: xjdsmx@gmail.com

Recebido: 08.12.2009 – Aceito para publicação: 13.06.2010

RESUMO

A concentração de compostos bioativos e a atividade antioxidante do pólen apícola podem variar em função da origem botânica. Trinta e três amostras de pólen apícola da região de Alagoinhas-BA foram analisadas quanto aos teores de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides e atividade antioxidante e, também, foi avaliada a correlação dos compostos bioativos com os tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus*. O teor dos compostos fenólicos e sua fração de flavonoides nas amostras com ocorrência de *Mimosa pudica* variaram, respectivamente, de 14,31 a 64,14mg em GAE.g⁻¹ de pólen e de 0,72 a 1,99mg e, nas amostras com ocorrência de *Eucalyptus* variaram, respectivamente, de 26,48 a 132,38mg em GAE.g⁻¹ de pólen e de 1,55 a 2,5mg. O teor de carotenoides totais variou de 18,16 a 764,37µg.g⁻¹ para o tipo polínico *Mimosa pudica* e de 3,01 a 46,08µg.g⁻¹ para o tipo polínico *Eucalyptus*. A atividade antioxidante variou de 37,94 a 91,81% e de 78,96 a 93,21%, respectivamente, nas amostras com ocorrência do tipo polínico *Mimosa pudica* e *Eucalyptus*. Foi constatada correlação positiva entre o tipo polínico *Eucalyptus* e o teor de compostos fenólicos, porém não foi observada associação estatisticamente significativa entre o tipo polínico *Mimosa pudica* e o teor de carotenoides.

Palavras chave. pólen apícola, atividade antioxidante, compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides.

ABSTRACT

The concentration of bioactive compounds and antioxidant activity of pollen may vary depending on the botanical origin. Thirty-three samples of bee pollen from the region of Alagoinhas-BA were investigated on the concentrations of phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and antioxidant activity, and the correlation between bioactive compounds and *Eucalyptus* and *Mimosa pudica* pollens was assessed. The phenolic compounds contents and of its flavonoid fraction in samples with the occurrence of *Mimosa pudica* ranged from 14.31 to 64.14 mg in GAE.g⁻¹ of pollen and from 0.72 to 1.99 mg, respectively; the samples with the occurrence of *Eucalyptus* ranged from 26.48 to 132.38 mg GAE.g⁻¹ of pollen and from 1.55 to 2.5 mg, respectively. The carotenoids contents ranged from 18.16 to 764.37 µg.g⁻¹ in *Mimosa pudica* pollen type, and from 3.01 to 46.08 µg.g⁻¹ in *Eucalyptus* pollen type. The antioxidant activity ranged from 37.94 to 91.81% and from 78.96 to 93.21% in samples with occurrence of *Eucalyptus* and *Mimosa pudica* pollen types, respectively. A positive correlation between the *Eucalyptus* pollen type and the phenolic compounds contents was found, however no statistically significant correlation was observed between the *Mimosa pudica* pollen type and carotenoids contents.

Key words. bee pollen, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids, carotenoids.

INTRODUÇÃO

O pólen apícola é obtido da aglutinação de diferentes grãos de pólen de várias fontes vegetais colhidos pelas abelhas, os quais são misturados com néctar e secreções das glândulas hipofaringeanas, como as enzimas α e β -glicosidase, o que o torna diferente daqueles colhidos diretamente das plantas¹.

O valor nutritivo do pólen apícola varia de acordo com a espécie vegetal, das condições ambientais, das condições de secagem, temperatura e do tempo de armazenamento². Contém nutrientes como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas e minerais, além de carotenoides, flavonoides e fitosteróis³, sendo este o motivo da sua utilização como alimento alternativo e/ou suplemento alimentar^{4,5}. Além das propriedades nutricionais, o pólen apícola tem se destacado no cenário científico devido às suas propriedades bioativas, como atividade antibacteriana⁶, antifúngica, anti-inflamatória, imunomodulatória e anticariogênica, exercendo funções antioxidante e inibindo a ação lesiva dos radicais livres⁷.

A composição dos produtos apícolas, e qualidade dos mesmos dependem muito das características das plantas visitadas pela *Apis mellifera*. Desta maneira, a identificação das plantas visitadas pelas abelhas é de fundamental importância para apicultores por indicar fontes de alimentos utilizadas para a coleta do néctar e do pólen, visando maximizar o aproveitamento dos recursos tróficos e apontando para características físico-químicas e nutricionais, tendo em vista que cada planta tem características diferenciadas, resultando em tipos nectarínicos e políferos múltiplos, principalmente em áreas de vegetação natural^{8,9,10}.

Mimosa pudica é considerada pelos apicultores como uma fonte potencialmente polinífera¹¹. Esta planta pode produzir 700 sementes, que germinam após a maturação, se houver condições favoráveis; caso contrário, permanecem dormentes por um período de até 15 anos¹². Ela é considerada pelos agricultores uma planta daninha^{13,14}, popularmente conhecida como dormideira, sensitiva, dorme-dorme, mimosa, erva-viva, malícia, entre outros, dependendo da região¹⁵.

As espécies de *Eucalyptus* têm produção variável de pólen, de modo que ora se enquadram como nectaríferas, ora como poliníferas¹⁶. O aumento das áreas reflorestadas com espécies desse gênero, em todo o estado, justifica o aumento na participação desse tipo polínico em várias regiões. Dentre as espécies botânicas fornecedoras de

alimento para as abelhas, o eucalipto é considerado um dos melhores e mais abundantes¹⁷.

Deste modo, o conhecimento da origem botânica torna-se imprescindível na caracterização nutricional e bioativa dos produtos apícolas. Este trabalho teve como objetivo verificar a correlação do teor de compostos fenólicos e sua fração de flavonoides, carotenoides totais e a atividade antioxidante do pólen apícola com ocorrência dos tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus* produzido em um fragmento de mata ombrófila densa em estágio avançado de regeneração localizado no município de Alagoinhas-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O material experimental compreendeu 33 amostras de pólen apícola coletadas de setembro de 2007 a outubro de 2008, provenientes do apiário localizado no *Campus II* da Universidade do Estado da Bahia, situado no território do Litoral Norte da Bahia e Agreste do Município de Alagoinhas (12° 08' S, 38° 26' W; altitude 150 m).

O pólen apícola foi coletado por meio de um caça pólen, uma estrutura que apresenta uma grade de retenção com orifícios de 4 mm de diâmetro, por onde as abelhas passam. Como esse orifício é muito estreito, as bolotas de pólen são depositadas em um recipiente coletor e transferido para vasilhames de polietileno hermeticamente fechados e congelados a -18°C, onde permaneceu por no mínimo 48 horas. O pólen foi descongelado gradativamente em geladeira e foi feita uma limpeza manual, para a retirada de eventuais materiais estranhos e sujidades, como asas e pernas de abelhas, larvas secas e bolotas de própolis.

Depois da limpeza, o pólen foi desidratado em estufa elétrica a uma temperatura de 40°C \pm 2°C, como recomendado pela legislação vigente¹⁸. Todas as amostras foram trituradas, armazenadas em vasilhames de plástico e guardadas em freezer a -18°C para posterior análise.

Métodos

Identificação palinológica: cada amostra foi homogeneizada e 2 g de pólen foram dissolvidos em 20 mL de água destilada; a mistura foi centrifugada (2500 rpm durante 15 minutos) e o líquido sobrenadante descartado. O sedimento polínico foi submetido ao processo de acetólise de Erdtman¹⁹, que consiste na hidrólise ácida

aplicada aos grãos de pólen através de uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico com proporção de 9:1. O sedimento resultante foi montado em lâminas com gelatina glicerizada. Para cada amostra foram montadas 5 lâminas e para determinar a porcentagem de cada tipo polínico encontrado foram contados ao todo 500 grãos de pólen por amostra, os quais foram identificados por comparação com a literatura.

Preparo do Extrato Etanólico do Pólen (EEP): foi preparado com aproximadamente 1 grama de pólen de cada amostra e 15 mL de etanol a 70% (v/v). A extração foi feita a 70°C em banho de água termostaticado, por 30 min, sob agitação constante, de acordo com a metodologia descrita por Zhishen et al²⁰. Depois de centrifugados a 4000 rpm, os sobrenadantes obtidos foram armazenados a 5°C, em tubos de ensaio com rosca.

Determinação de compostos fenólicos totais: foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu²¹, utilizando ácido gálico como padrão de referência. Dos extratos de pólen foram retiradas uma alíquota de 20 µL e adicionado a 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada 1:10 (v/v). A esses reagentes foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (v/v). Após repouso de 2 horas em temperatura ambiente, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro UV/VIS (PERKIN ELMER-LAMBDA 20) a 740 nm. O branco foi conduzido nas mesmas condições. Foi constituída uma curva analítica com ácido gálico e os resultados expressos em mg GAE.g⁻¹ de pólen²² (GAE: equivalente em ácido gálico). As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação de flavonoides totais: foi determinada pelo método descrito por Zhishen et al²⁰. Uma alíquota de 1 mL do EEP foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, foi adicionado 4 mL de água destilada, 0,3 mL de nitrito de sódio a 5%; aguardou-se 3 minutos, adicionou-se 0,3 mL de cloreto de alumínio a 10%; aguardou-se 1 minuto, adicionou-se 2 mL de hidróxido de sódio a 1M e completou-se o volume do balão com água destilada. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (PERKIN ELMER-LAMBDA 20) em 510 nm. O branco foi conduzido nas mesmas condições, mas sem a adição da amostra. Uma curva analítica contendo 9,375; 18,75; 37,5; 75 e 150 ppm de epicatequina foi construída, e os resultados foram expressos em mg epicatequina.g⁻¹ de pólen apícola.

Determinação de carotenoides totais: foi utilizada 1,5 g de amostra triturada. A análise foi realizada em triplicata segundo a metodologia de Rodriguez-Amaya²³. Os carotenoides foram extraídos por maceração com acetona gelada e hiflosupercel, seguida por filtração à vácuo em funil sinterizado. Houve repetição deste procedimento até a completa extração destes pigmentos e, em seguida, foi feita partição com éter de petróleo para se obter o extrato. A quantificação dos carotenoides totais foi realizada na região do UV-VIS, utilizando-se um espectrofotômetro UV/VIS digital marca PERKIN ELMER, modelo U-2001 e quantificados segundo a “Lei de Beer” no comprimento de maior absorção. Os cálculos de carotenoides totais foram realizados utilizando o valor de 2592 ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) como coeficiente de absorção proposta de Davies²⁴: $\mu\text{g de carotenoides totais/g de amostra} = (\text{Absorbância máxima} \times \text{vol. da solução} \times 10^4) / (E^{1\%}_{1\text{cm}} \times \text{massa da amostra (g)})$.

Determinações da atividade antioxidante, através do sistema DPPH: foi determinada por meio da capacidade sequestrante do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com o método de Yen e Wu²⁵. Uma alíquota de 100 µL da solução do EEP foi colocada em um tubo de ensaio contendo 4 mL da solução etanólica do radical DPPH (0,5 mM). Os extratos etanólicos de pólen foram avaliados na concentração de 67 mg.mL⁻¹. O decréscimo na absorbância em 517 nm foi determinado em espectrofotômetro (PERKIN ELMER-LAMBDA 20) após 30 min de reação para todas as amostras e padrões. O branco específico da amostra foi determinado usando DPPH 0,5 mM de cada concentração. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A porcentagem de atividade de sequestrante (%AA) foi determinada segundo a fórmula de Mensor et al²⁶: $\%AA = 100 - \{[(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco}) \times 100] / \text{Abs controle}\}$, onde %AA: atividade antioxidante (%) e Abs: absorbância lida em 517 nm após 30 min de reação.

Análise Estatística: foi utilizado Coeficiente de Correlação de Spearman para medir a correlação obtida por métodos não paramétricos. Este coeficiente considera o posto das observações e não os valores das variáveis, logo, a magnitude dos valores observados não tem relevância. Não foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Pearson porque este é indicado apenas quando os dados seguem distribuição normal bivariada. A correlação entre o teor de compostos fenólicos, flavonoides, a atividade antioxidante, carotenoides totais e tipos polínicos foi realizada utilizando o Programa Statistica 8.0²⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 33 amostras analisadas foram observados pólen de diferentes tipos polínicos, onde os tipos mais frequentes foram *Mimosa pudica* (família Leguminosae-mimosoideae), que foi encontrado em 22 amostras com frequência variando de 9 a 95,6% (Tabela 1), e *Eucalyptus* (família Myrtaceae), que foi encontrada em 11 amostras com frequência variando de 14,2 a 99,2% (Tabela 2).

Os tipos polínicos de menor frequência foram: *Schinus terebinthifolius*, *Ageratum conyzoides*, *Emilia*, *Eupatorium*, *Trichogonia*, *Vernonia*, *Cecropia*, *Cróton*,

Mimosa caesalpinifolia, *Mimosa pudica*, *Mimosa quadrivalves*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Piper*, *Paspalum*, *Cocoloba*, *Richardia*, *Solanum*, *Solanum 2*, *Angelonia* (Apêndice A, B e C).

Compostos fenólicos totais

O teor dos compostos fenólicos das amostras de pólen com ocorrência de *Mimosa pudica* variou de 14,31 a 64,14 mg em GAE.g⁻¹ de pólen, com um teor médio de 33,34 ± 0,46 mg GAE.g⁻¹ de pólen, usando uma curva padrão de ácido gálico (R² = 0,9902) (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, carotenoides e atividade antioxidante (DPPH) em amostras com ocorrência do tipo polínico *Mimosa pudica*

Amostras	<i>Mimosa pudica</i> (%)	Compostos fenólicos (mg GAE*.g ⁻¹ ± DP**)	Flavonoides totais (mg epicatequina.g ⁻¹ ± DP)	Carotenoides	Atividade antioxidante DPPH***
1	90,8	25,22 ± 0,62	0,93 ± 0,07	164,91 ± 3,24	83,67 ± 0,42
2	90,8	23,70 ± 0,29	1,16 ± 0,01	100,23 ± 1,25	91,81 ± 0,31
3	86,6	22,09 ± 0,27	0,72 ± 0,02	327,35 ± 0,81	85,92 ± 1,48
4	94	27,60 ± 0,23	0,77 ± 0,01	119,86 ± 2,1	81,14 ± 3,93
5	55	64,14 ± 0,41	1,62 ± 0,01	339,67 ± 3,02	88,58 ± 0,30
6	80,4	31,88 ± 0,25	0,82 ± 0,02	275,57 ± 1,29	89,33 ± 0,65
7	65,2	51,27 ± 0,43	1,30 ± 0,00	157,86 ± 3,67	83,79 ± 1,45
8	40	30,79 ± 0,37	0,78 ± 0,03	764,37 ± 4,25	85,50 ± 1,84
9	49,4	38,53 ± 0,17	1,35 ± 0,00	188,08 ± 4,03	87,86 ± 0,13
10	58,2	33,57 ± 0,66	0,97 ± 0,01	31,16 ± 0,69	80,14 ± 0,66
11	9	57,34 ± 0,33	1,99 ± 0,01	218,73 ± 5,13	89,33 ± 0,20
12	27	60,51 ± 0,17	1,78 ± 0,00	302,61 ± 4,23	91,33 ± 0,05
13	54,8	22,19 ± 0,19	0,78 ± 0,08	50,28 ± 0,23	89,22 ± 0,57
14	95,6	27,73 ± 0,70	1,23 ± 0,00	99,32 ± 1,34	76,02 ± 1,29
15	85,6	35,00 ± 0,43	1,01 ± 0,00	219,54 ± 4,03	84,07 ± 0,12
16	88	35,10 ± 0,54	1,36 ± 0,02	205,36 ± 0,48	75,85 ± 13,6
17	50,75	37,80 ± 0,37	0,99 ± 0,18	157,52 ± 2,04	86,82 ± 1,03
18	55,5	32,71 ± 2,28	0,72 ± 0,09	41,48 ± 2,53	88,05 ± 0,12
19	83,8	14,31 ± 0,10	1,52 ± 0,02	60,24 ± 0,75	84,20 ± 0,44
20	70,1	18,47 ± 0,16	0,83 ± 0,06	331,28 ± 0,84	88,03 ± 0,47
21	72	18,84 ± 0,53	0,84 ± 0,01	52,24 ± 1,62	84,00 ± 0,93
22	82,8	24,81 ± 0,77	0,79 ± 0,02	18,16 ± 1,54	37,94 ± 1,80
Vmin	9	14,31	0,72	18,16	37,94
Vmax	95,6	64,14	1,99	764,37	91,81
MÉDIA ± DP	67,51	33,34 ± 0,46	1,10 ± 0,03	192,08 ± 2,23	83,3 ± 1,44
CV****	----	0,01	0,02	0,01	0,01

*GAE: equivalente em ácido gálico; **DP: Desvio padrão de análises em triplicata; ***2,2 difenil-1-picril-hidrazil, ****Coeficiente de variação

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante (DPPH) e carotenoides em amostras com ocorrência do tipo polínico *Eucalyptus*

Amostras	<i>Eucalyptus</i> (%)	Compostos fenólicos (mg GAE*.g ⁻¹ ± DP**)	Flavonoides totais (mg epicatequina.g ⁻¹ ± DP)	Carotenoides	Atividade antioxidante DPPH***
23	87,6	45,99 ± 0,50	1,62 ± 0,01	22,03 ± 0,58	90,73 ± 1,13
24	95,6	27,06 ± 0,58	2,50 ± 0,01	13,67 ± 1,02	90,19 ± 0,57
25	93,4	27,58 ± 1,29	2,03 ± 0,03	31,20 ± 1,35	92,47 ± 0,14
26	95,8	85,03 ± 1,28	1,81 ± 0,05	22,35 ± 1,67	91,58 ± 0,90
27	95,8	65,17 ± 0,59	1,99 ± 0,09	22,36 ± 0,42	88,22 ± 0,53
28	99,2	91,38 ± 1,09	2,49 ± 0,09	30,20 ± 0,86	83,18 ± 0,32
29	99,2	132,38 ± 0,70	2,20 ± 0,12	22,09 ± 0,58	87,40 ± 0,54
30	60,6	54,59 ± 1,35	2,20 ± 0,05	3,01 ± 1,04	90,66 ± 0,19
31	93,2	72,96 ± 1,69	2,05 ± 0,01	34,55 ± 1,85	88,69 ± 0,72
32	94	117,51 ± 1,04	2,03 ± 0,13	35,55 ± 1,65	93,21 ± 0,70
33	14,2	26,48 ± 0,20	1,55 ± 0,12	46,08 ± 0,12	78,96 ± 0,87
Vmin	14,2	26,48	1,55	3,01	78,96
Vmax	99,2	132,38	2,5	46,08	93,21
MÉDIA ± DP	84,31	67,83 ± 0,93	2,04 ± 0,06	25,73 ± 1,01	88,66 ± 0,60
CV****	-----	1,24	0,45	0,02	0,00

*GAE: equivalente em ácido gálico; **DP: Desvio padrão de análises em triplicata; ***2,2 difenil-1-picril-hidrazil, ****Coeficiente de variação

Valor médio similar foi encontrado por Carpes⁹ para 36 amostras de pólen apícola desidratado de diferentes localidades da região sul do Brasil, com um teor médio de 30,77 mg em GAE.g⁻¹ de pólen, entretanto houve uma variação menor (19,28 a 48,90 mg GAE.g⁻¹ de pólen), ressaltando a diferença da localização geográfica na composição da matriz.

Nas amostras com ocorrência de *Eucalyptus* o teor de compostos fenólicos variou de 26,48 a 132,38 mg

em GAE.g⁻¹ de pólen, com um teor médio de 67,83 ± 0,93 mg GAE.g⁻¹ de pólen, usando uma curva padrão de ácido gálico (R² = 0,9902) (Tabela 2).

Foi constatado, através do Coeficiente de Correlação de Spearman, que existe associação linear correlação negativa entre o teor de compostos fenólicos totais e o tipo polínico *Mimosa pudica* (r_s = -0,5066) e correlação positiva com o tipo polínico *Eucalyptus* (r_s = 0,6666) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores da correlação de Spearman entre o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante e carotenoides totais com a frequência dos tipos polínicos *Mimosa pudica*⁽¹⁾ e *Eucalyptus*⁽²⁾

	Coeficiente	<i>Mimosa pudica</i>	<i>Eucalyptus</i>
Compostos fenólicos	r _s	-0,5066	0,6666
	p	0,01*	0,02*
Flavonoides	r _s	-0,2164	0,4335
	p	0,33	0,18
Carotenoides	r _s	-0,2242	-0,1370
	p	0,31	0,69
Atividade antioxidante	r _s	-0,5124	-0,1461
	p	0,01*	0,67

(1)N = 22; (2)N = 11; rs: Coeficiente de Correlação de postos de Spearman; p: probabilidade associada ao teste. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade

Os resultados aqui apresentados estão em sintonia com Menezes², que afirmava que o valor nutritivo do pólen varia especialmente em relação à espécie vegetal, entre outros parâmetros (condições ambientais, condições de secagem e tempo de armazenamento).

Flavonoides totais

Os teores de flavonoides totais expressos em mg epicatequina/g de pólen apícola variaram de 0,72 a 1,99 mg.g⁻¹, com média de 1,10 ± 0,03 mg.g⁻¹ de pólen, com ocorrência do tipo polínico *Mimosa pudica*, e de 1,55 a 2,5 mg.g⁻¹, com média de 2,04 ± 0,06 mg.g⁻¹ de pólen, ambos quantificados através de uma curva padrão de epicatequina (R² = 0,9998). Assim como para os teores de compostos fenólicos, os maiores teores de flavonoides foram encontrados nas amostras provenientes do tipo polínico *Eucalyptus* (Tabela 2).

Os teores de flavonoides totais não apresentaram correlação com os tipos polínicos estudados, porém uma relação positiva estatisticamente significativa (p<0,05)

foi obtida com compostos fenólicos (r_s=0,6370) e com a atividade antioxidante (r_s=0,3997) e uma correlação negativa com carotenoides (r_s=-0,4669) (Tabela 4).

Leja et al²⁸ estudaram os constituintes fenólicos e a capacidade antioxidante do pólen apícola de 12 espécies diferentes da região da Krakow (Polônia). Neste estudo foi verificado que a contribuição dos flavonoides no teor de compostos fenólicos diferia consideravelmente em função da origem botânica, com variação de 170 mg.100g⁻¹ nos pólen de *Lamium purpureum* a 1349 mg.100g⁻¹ nos pólen de *Pyrus communis*.

Os valores de flavonoides das amostras analisadas foram menores que as encontradas para matrizes oriundas de outras origens polínicas. Muitos autores relatam que esta diferença significativa no teor de flavonoides está relacionada com os tipos polínicos das amostras. Os resultados obtidos por Almaraz-Abarca et al²⁹ demonstram que o pólen de *Prosopis juliflora* (Leguminosae) em Durango, México apresentou uma quantidade significativa de flavonoides (9.794 µg.ml⁻¹), podendo ser considerado como uma fonte natural de antioxidante.

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

	Coefficiente	Compostos fenólicos	Flavonoides	Atividade antioxidante
Flavonoides	r _s	0,6370	-	-
	p	0,00**	-	-
Atividade antioxidante	r _s	0,2867	0,3997	-
	p	0,00**	0,02*	-
Carotenoides	r _s	-0,1888	-0,4669	-0,0939
	p	0,29	0,00**	0,60

(1)N = 33; rs: Coeficiente de Correlação de postos de Spearman; p: probabilidade associada ao teste. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade

Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais variou de 18,16 a 764,37 µg.g⁻¹, com uma média de 192,08 ± 2,23µg.g⁻¹, para o tipo polínico *Mimosa pudica* e de 3,01 a 46,08 µg.g⁻¹, com uma média de 25,73 ± 1,01 µg.g⁻¹, para o tipo polínico *Eucalyptus* (Tabela 1 e 2). Não foi constatado correlação significativa entre o teor de carotenoides e os tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Eucalyptus*.

Melo et al⁸ encontraram em seu estudo correlação positiva entre os teores de carotenoides em pólen apícola com maiores porcentagens dos tipos polínicos Arecaceae tipo *Astrocaryum* (r = 0,79), Cecropia (r = 0,84) e

Fabaceae (0,92) e correlação negativa nos polens dos tipos Mimosaceae tipo *Mimosa caesalpiniaefolia* (r = -0,73) e Poaceae (r = -0,65).

Almeida-Muradian et al³, em dez amostras de pólen fresco coletado por *Apis mellifera*, verificaram que a média de carotenoides obtida foi de 76,33 µg.g⁻¹ de pólen. O total de carotenoides apresentado por Melo et al⁸ para amostras oriundas de Pariqueira-Acu-SP variaram de 25,34 a 268,5 µg.g⁻¹ de pólen mg por carotenos.100 g⁻¹.

Em outro estudo, Mello e Almeida-Muradian³⁰ encontraram valores para pólen apícola desidratado que variaram de 3,4 ± 0,09 µg.g⁻¹ de b-caroteno a 77,88 ± 5,01 µg.g⁻¹. No entanto, Almeida-Muradian et al³ analisaram

dez amostras de pólen apícola da Região Sul do Brasil e não encontraram b-caroteno nas amostras analisadas.

Atividade antioxidante (DPPH)

Neste estudo a neutralização do radical DPPH variou de 37,94 a 91,81% nas amostras com ocorrência do tipo polínico *Mimosa pudica* e de 78,96 a 93,21% nas amostras com ocorrência do tipo polínico *Eucalyptus*, com uma média de $83,3 \pm 1,44\%$ e de $88,66 \pm 0,60\%$, respectivamente, para *Mimosa pudica* e *Eucalyptus* (Tabela 1 e 2).

Foi constatada correlação positiva entre atividade antioxidante (DPPH) e o teor de flavonoides totais ($r_s = 0,3997$) (Tabela 4). Esta correlação também foi encontrada por Leja et al²⁸, que verificaram que as amostras que apresentaram altos índices de constituintes fenólicos também apresentaram alta capacidade antioxidante. Porém, em estudos realizados por Campos et al³¹ não se constatou correlação entre flavonoides e atividade antioxidante.

Alguns autores relataram estudos correlacionando os tipos polínicos às características bromatológicas presentes no pólen. Modro et al³² avaliaram a influência das composições florísticas locais sobre a qualidade do pólen apícola, em dois apiários de Minas Gerais, e verificaram que as diferentes composições florísticas influenciam na qualidade do pólen apícola.

Leja et al²⁸ coletaram 20 amostras de pólen apícola proveniente de Krakow na Polônia e encontraram predominância de 12 espécies de plantas. Estes pesquisadores encontraram uma grande variedade quanto à atividade antioxidante nas amostras analisadas, variando de 8,6 - 91,5% de neutralização do radical DPPH. Os pólenes de *Lupinus polyphyllus*, *Phacelia tanacetifolia*, *Trifolium sp.*, *Sinapis alba*, *Robinia pseudoacacia* e *Aesculus hippocastanum* apresentaram a maior capacidade de neutralização do radical DPPH (61-91,3%); os pólen de *Zea mays*, *Chamerion angustifolium*, *Pyrus communis* apresentaram (23,5 - 29,6%) e baixa atividade (8,6 - 16%) nos pólen de *Lamium purpureum*, *Taraxacum officinale* e *Malus domestica*.

Carpes et al⁹ encontraram atividade antioxidante nos extratos de pólen mensurada pelo método do DPPH que variou de 30,54 a 94,73%, com uma média de $73,44 \pm 21,10\%$. As variações observadas tiveram como justificativa as diferentes composições das plantas de origem do pólen coletado.

CONCLUSÃO

Foi constatado, através do Coeficiente de Correlação de Spearman, que os compostos fenólicos totais apresentaram associações lineares e correlações negativas com o tipo polínico *Mimosa pudica* e positivas com o tipo polínico *Eucalyptus* (família Myrtaceae). Assim sendo, a ocorrência do tipo polínico *Eucalyptus* contribui para altos teores de compostos fenólicos do pólen.

Nas amostras provenientes do tipo polínico *Mimosa pudica* (família Leguminosae-mimosoideae) foram encontrados os maiores teores de carotenoides, porém não foi detectada uma relação estatisticamente significativa entre o tipo polínico *Mimosa pudica* e o teor de carotenoides.

Através dos resultados apresentados neste estudo, pode-se constatar que o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante e carotenoides totais de pólen oriundo de Algoíngas-BA, sofreram influência quanto à origem botânica.

REFERÊNCIAS

1. Couto RHN, Couto LA. Apicultura: Manejo e Produtos. 3ª ed. Jabotical (SP): FUNEP; 2006.
2. Menezes JDS. Avaliação das práticas de colheita, beneficiamento e armazenamento do mel de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) no Litoral Norte da Bahia, através de análises físico-químicas. [monografia]. Salvador: Universidade Federal da Bahia; 2005. Especialização em Segurança e Inspeção de Alimentos.
3. Almeida-Muradian LB, Pamplona LC, Coimbra S, Barth OM. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *J Food Compos Anal*. 2005;18:105-11.
4. Somerville DC. Lipid content of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia. *Aust J Exp Agr*. 2005;45:1659-61.
5. Somerville DC, Nicol HI. Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and note on laboratory disparity. *Aust J Exp Agr*. 2006;46:141-9.
6. Carpes ST, Begnini R, Alencar SM, Masson ML. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciênc Agrotec*. 2007; 31(6): 1818-25.

7. Neves LC, Alencar SM, Carpes ST. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. VII BMCFB; junho de 2009; Lorena - SP: Braz J Food Technol. p. 107-10.
8. Melo ILP, Freitas AS, Barth OM, Almeida-Muradian LB. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(3):346-53.
9. Carpes ST, Cabral ISR, Luz CFP, Capeletti JP, Alencar SM, Masson ML. Palynological and physical-chemical characterization of *Apis mellifera* L. bee pollen in the Southern region. *Int J Food Agric Environ*. 2009;7:132-8.
10. Barreto LMRC, Funari SRC, Orsi RO, Dib APS. Produção de Pólen no Brasil. Taubaté-SP: Cabral Editora e Livraria Universitária; 2006. p. 99.
11. Demartelaere ACF, Oliveira AK, Góes GB, Lima GKL, Pereira MFS. A flora apícola no semi - árido brasileiro. *Rev Verde*. 2010; 5(1): 17-22.
12. Silva AMA, Coelho ID, Medeiros PR. Levantamento florístico das plantas daninhas em um parque público de Campina Grande, Paraíba, Brasil. *Biotemas*. 2008; 21(4):7-14.
13. Albertino SMF, Miléo LJ, Silva JF, Silva CA. Composição florística de plantas daninhas em um lago do Rio Solimões, Amazonas. *Planta Daninha*. 2009; 27(1):1-5.
14. Santos LS, Oliveira MN, Guilhon GMSP, Santos AS, Ferreira ICS, Lopes-Júnior ML et al. Potencial herbicida da biomassa e de substâncias químicas produzidas pelo fungo endofítico *Pestalotiopsis guepinii*. *Planta Daninha*. 2008; 26(3): 539-48.
15. Barbosa JD, Silveira JAS, Albernaz TT, Silva NS, Belo-Reis AS, Oliveira CMC, Riet-Correa G; Barbosa Marcos DD. Lesões de pele causadas pelos espinhos de Mimosa pudica (Leg. Mimosoideae) nos membros de bovinos e ovinos no estado do Pará. *Pesq Vet Bras*. 2009; 29(5):435-48.
16. Barth OM. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. *Mensagem doce*. São Paulo: 2005; 81. maio.
17. Luz CFP, Thomé ML, Barth OM. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) na região de MorroAzul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras Bot*. 2007; 30(1): 29-36.
18. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20/10/2000. Padrão de Identidade e Qualidade do Mel. *Diário Oficial da União*, Brasília (2001 jan 23); Sec.1:p.18-23. [acesso 2007 fev 25]. Disponível em [http://www.agricultura.gov.br//das/dispoa/instrunormativa11.htm].
19. Erdtman G. The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*. 1960; 39:561-4.
20. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999; 64: 555-9.
21. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*. 1965; 16: 144-58.
22. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999; 299: 152-78.
23. Rodriguez-Amaya D, Raymundo LC, Tung-Ching L, Simpson KL, Chichester CO. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. *Ann Bot*. 1976; 40: 615-24.
24. Davies BH. Carotenoids, *In*: Goodwin TW. 2ª ed. Chemistry and biochemistry of plant pigments. London: Academic Press; 1976. p. 38-65.
25. Yen G, Wu J. Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem*. 1999; 65: 375-9.
26. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TC, Coube CS, Leitão SG. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res*. 2001; 15: 127-30
27. *Statistica Version 8.0 for Windows*. Tulsa: StatSoft; 2007.
28. Leja M, Mareczek A, Wyzgolik G, Klepacz-Baniak J, Czekonska K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chem*. 2007; 100(1): 237-40.
29. Almaraz-Abarca N, Campos MG, Ávila-Reyes JA, Naranjo-Jiménez N, Herrera-Corral J, González-Valdez LS. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybeecollected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *J Food Compos Anal*. 2007; 20: 119-24.
30. Melo ILP, Almeida-Muradian LB. Avaliação das vitaminas antioxidantes no pólen apícola desidratado. XI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP. XLI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica. XXI Seminário de Pós-Graduação. 14ª Reunião de Iniciação Científica; 2006; São Paulo: *Rev Bras Ciênc Farm*. 42: p. 55.
31. Campos MG, Webby RF, Markham KR, Mitchell KA, Cunha AP. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *J Agric Food Chem*. 2003; 51: 742-5.
32. Modro AFH, Message D, Luz CFP, Meira-Neto JAA. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. *Pesq Agrop. Bras*. 2007; 42(8): 1057-65.

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

Imagem ¹	Tipos polínicos	Amostras de pólen apícola (%)																
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Anacardiaceae <i>Schinus</i>										15							
2	Asteraceae <i>Ageratum</i>								10			8			5,2	5,4		
3	Asteraceae <i>Emilia</i>									5		18,6	6,8	19,8				
4	Asteraceae <i>Eupatorium</i>																	
5	Asteraceae <i>Trichogonia</i>								5,4			6,6						
6	Asteraceae <i>Vernonia</i>											7						
7	Capparaceae <i>Cecropia</i>											7,8						
8	Euphorbiaceae <i>Croton</i>							5,8										
9	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa caesalpinifolia</i>								10									
10	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa pudica</i>	90,8	90,8	86,6	94	55	80,4	65,2	40	49,4	58,2	9	27	54,8	95,6	85,6	88	50,7
11	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa quadrivalves</i>													6,4				
12	Myrtaceae <i>Eucalyptus</i>																	
13	Myrtaceae <i>Eugenia</i>																	
14	Piperaceae <i>Piper</i>																	39,1
15	Poaceae <i>Paspalum</i>																	
16	Polygonaceae <i>Coccoloba</i>											5,2						
17	Rubiaceae <i>Richardia</i>									9								
18	Solanaceae <i>Solanum</i>					29			16,8	15,6		24,6	21,8					
19	Solanaceae <i>Solanum</i> 2										5,2		12,2					
20	Scrophulariaceae <i>Angelonia</i>									5,6								
21	Outra Origem Botânica	9,2	9,2	13,4	6	16	13,8	24,8	27,8	15,4	21,8	21	24,2	19	4,4	9,2	6,6	10,1

1. Imagens de microscopia ótica (Apêndice C)

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

Imagem ¹	Tipos polínicos	Amostras de pólen apícola (%)																
		18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
A	Anacardiaceae <i>Schinus</i>																	
B	Asteraceae <i>Ageratum</i>																	
C	Asteraceae <i>Emilia</i>																	
D	Asteraceae <i>Eupatorium</i>			8		8,8												
E	Asteraceae <i>Trichogonia</i>																	
F	Asteraceae <i>Vernonia</i>																	
G	Capparaceae <i>Cecropia</i>			8,6														
H	Euphorbiaceae <i>Croton</i>																	70
I	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa caesalpinifolia</i>																	
J	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa pudica</i>	55,5	83,8	70,1	72	82,8												
L	Leguminosae (mimosoideae) <i>Mimosa quadrivalves</i>											95,8	99,2	99,2	60,6	93,2	94	14,2
M	Myrtaceae <i>Eucalyptus</i>						87,6	95,6	93,4	95,8				36,4				
N	Myrtaceae <i>Eugenia</i>																	
O	Piperaceae <i>Piper</i>	20,6	6,2		22,2	6,6												7,8
P	Poaceae <i>Paspalum</i>																	
Q	Polygonaceae <i>Coccoloba</i>																	
R	Rubiaceae <i>Richardia</i>																	
S	Solanaceae <i>Solano</i>																	
T	Solanaceae <i>Solano</i> 2																	
U	Scrophulariaceae <i>Angelonia</i>											4,2	0,8	0,8	3	6,8	6	8
V	Outra Origem Botânica	23,9	10	13,3	5,8	1,8	12,4	4,4	6,6	4,2								

1. Imagens de microscopia ótica (Apêndice C)

Apêndice C - Fotos de microscopia ótica

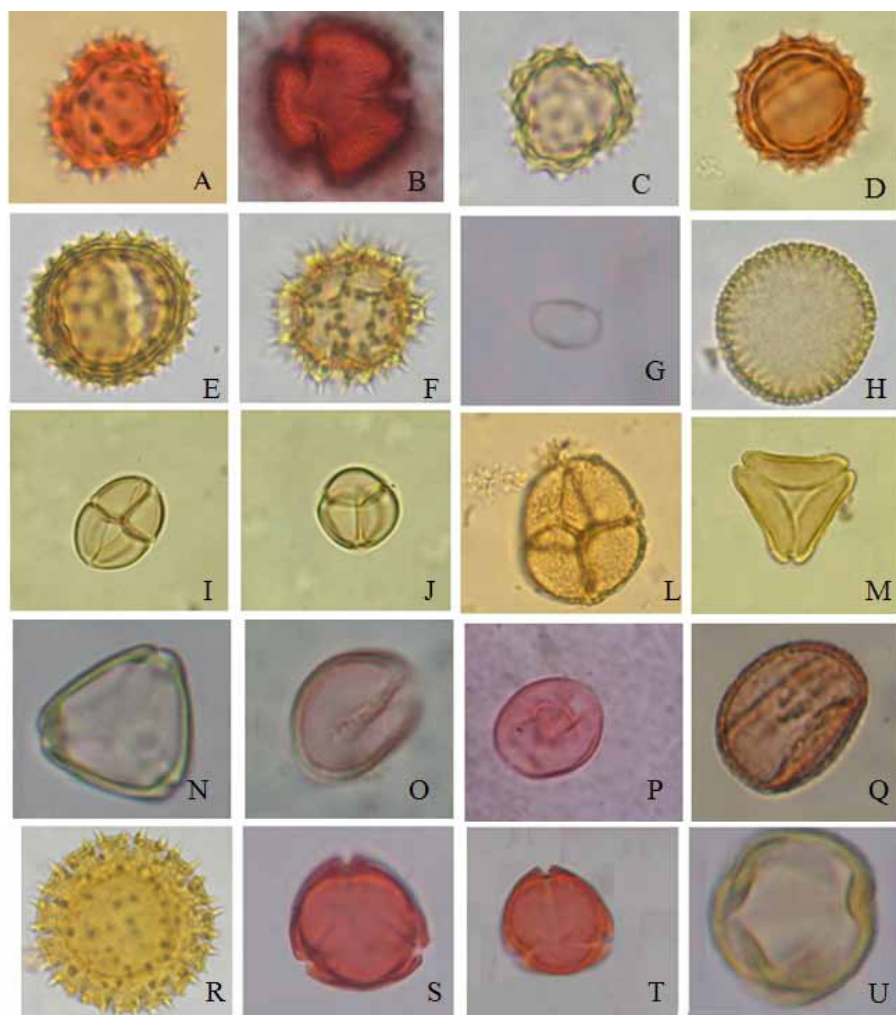


Figura 2. Principais tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen apícola do apiário do Campus II UNEB/Alagoinhas, de 2007 a 2008: A - *Schinus* (Anacardiaceae); B - *Ageratum* (Asteraceae); C - *Emilia* (Asteraceae); D - *Eupatorium* (Asteraceae); E - *Trichogonia* (Asteraceae); F - *Vernonia* (Asteraceae); G - *Cecropia* (Capparaceae); H - *Croton* (Euphorbiaceae); I - *Mimosa caesalpinifolia* (Leguminosae - Mimosoideae); J - *Mimosa pudica* (Leguminosae - Mimosoideae); L - *Mimosa quadrivalves* (Leguminosae - Mimosoideae); M - *Eucalyptus* (Myrtaceae); N - *Eugenia* (Myrtaceae); O - *Piper* (Piperaceae); P - *Paspalum* (Poaceae); Q - *Coccoloba* (Polygonaceae); R - *Richardia* (Rubiaceae); S - *Solanum* (Solanaceae); T - *Solanum2* (Solanaceae); U - *Scrophulariaceae Angeloni*. (Aumento de 1.000X)