# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL CURSO DE MESTRADO

# CARACTERIZAÇÃO DO "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

**Carla Miquez Souza** 

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA 2019

# CARACTERIZAÇÃO DO "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

# **Carla Miquez Souza**

Zootecnista Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal (Produção e Manejo de Não Ruminantes)

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho Coorientador(a): Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva

# FICHA CATALOGRÁFICA

S729c

Souza, Carla Miquez.

Caracterização do "samburá" de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma Mata Atlântica / Carla Miquez Souza.\_ Cruz das Almas, BA, 2019. 72f.; il.

Orientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho. Coorientadora: Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Abelhas — Criação. 2.Abelhas — Meliponicultura. 3.Mata Atlântica — Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 638.1

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.

Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).

Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL CURSO DE MESTRADO

# CARACTERIZAÇÃO DO "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Carla Miquez Souza

Aprovada em: 26 de fevereiro de 2019

Dr. (a). Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Coorientador(a)

Prof (a). Dr. (a). Adriana Regina Bagaldo Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Examinador Interno

Dr. (a). Andreia Santos do Nascimento Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Examinador Externo

# **DEDICATÓRIA**

A minha amada filha Milla, tesouro da minha vida. Nasceu e cresceu durante meu processo acadêmico e hoje, comemora a realização de mais um sonho.

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por permitir que tudo isso acontecesse, durante minha vida, e não somente nestes anos, mas em todos os momentos. É difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, nos momentos serenos ou apreensivos, fizeram ou fazem parte da minha vida, por isso agradeço a todos de coração.

Aos meus orientadores, Dr. Carlos Alfredo Lopes, pelo respeito, confiança e oportunidades durante todo esse período de aprendizado. Em especial a Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva que me ajudou no desenvolvimento deste trabalho passo a passo mantendo-se ao meu lado paciente, prestativa e demostrando além de ser uma orientadora uma amiga. E novamente repito, obrigada pelas oportunidades depositadas a mim.

A professora Fabiane de Lima Silva pelo auxilio durante a escrita.

A equipe do Grupo de Pesquisa INSECTA em especial à Andreia, Angélica, Ana Cátia, Dona Gal, Fabrício, Jamynne, Nayara, Patrícia, Paula, Weliton, vocês são pessoas que pude ter confiança e que sou imensamente grata e a todos que auxiliaram em parte na execução desse trabalho.

Aos meus pais, Gilza de Araujo Miguez e Caetano Silva Souza, que sempre acreditaram em mim e me deram apoio, incentivo e amor, sem eles nada disso seria possível.

Agradeço também a minha filha, Milla Miquez Vieira, meu pedacinho de amor, que embora não tivesse conhecimento disto, mas ilumina a minha vida de tal maneira que me impulsionava a continuar.

Obrigada aos meus irmãos, Avelina Miquez Núñez, sem você irmã, nem conseguiria estar aqui e Caetano Miguez Souza, as minhas lindas sobrinhas, Juliana Miguez Brandão e Clara Miguez Brandão amo vocês infinitamente. E ao meu querido cunhado Jackoson Brandão.

Agradeço aos meus amigos pela amizade e por sempre estarem comigo em todos os momentos da minha trajetória me dando força, sendo companheiros nos momentos fáceis e difíceis.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), pela oportunidade de ensino e pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciência Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, e a CAPES pela concessão da bolsa de estudo (Código Financeiro 001), que tornou possível a realização deste Curso de Mestrado.

Muito Obrigada!!

# CARACTERIZAÇÃO DO "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

**RESUMO:** O presente estudo objetivou caracterizar o samburá de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma Mata Atlântica por meio dos parâmetros químicos, valores energéticos e microbiológicos. Foi coletado um total de 33 amostras de samburá das espécies Scaptotrigona xanthotricha e Tetragonista angustula, provenientes do mesmo meliponário. Os resultados alcancados nos parâmetros: umidade (%), cinzas (%), pH, acidez (mEq kg<sup>-1</sup>), atividade de água de (Aw), proteínas (%), gorduras totais (%), carboidratos totais (%), compostos fenólicos totais (mg.EAG g-1), flavonoides totais (mg.EAG g-1) encontram-se dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira para o pólen apícola, exceto para o teor de umidade, cinzas e pH. Os dados confirmam que a composição do samburá das duas espécies, S. xanthotricha e T. angustula, permitiram a formação de dois grupos em função dos parâmetros guímicos. As amostras de samburá de S. xanthotricha obtiveram valores maiores em relação a T. angustula para os parâmetros umidade, cinzas, atividade de agua, acidez e flavonoides totais. Não foram encontrados nas amostras analisadas os microorganismos referentes da qualidade de segurança (esporos de Clostridium sulfito redutores e Salmonella spp.) os indicadores da qualidade sanitária (coliformes a 45°C e esporos de Staphylococcus coagulase positiva), assim como os de qualidade comercial (aeróbios psicrotróficos). Porém houve contagem em 6% das amostras para coliformes a 35°C, em 9% para bolores e leveduras e 45% para aeróbios mesófilos. Conclui-se que de um modo geral as amostras de samburá podem ser consideradas um alimento nutricional e seguro por não apresentar micro-organismos patogênicos à saúde humana.

**Palavras chave:** Análises química-microbiológicas; Meliponicultura; Scaptotrigona xanthotricha; Tetragonisca angustula

# CHARACTERIZATION OF "SAMBURÁ" OF TWO SPECIES OF SOCIAL BEES MANAGED IN THE ATLANTIC FOREST BIOME

ABSTRACT: The present study aimed to characterize the "samburá" of two species of social bees managed in the Atlantic Forest biome using chemical parameters, energy and microbiological values. We collected 33 "samburá" samples of species Scaptotrigona xanthotricha and Tetragonista angustula from the same meliponary. The results obtained in the parameters, moisture (%), ash (%), pH, acidity (mEq kg<sup>-1</sup>), Aw water activity, proteins, total fats, total carbohydrates, total phenolic compounds (mg EAG g<sup>-1</sup>), and total flavonoids (mg EAG g<sup>-1</sup>) are within the limits established by the Brazilian legislation for bee pollen, except for moisture content, ashes and pH. The data confirm that the "samburá" composition of both species, S. xanthotricha and T. angustula, allowed the formation of two groups according to the chemical parameters. Samples of S. xanthotricha "samburá" showed higher values than T. angustula for parameters moisture, ash, water activity, acidity and total flavonoids. Safety quality microorganisms (Clostridium sulphite reducing spores and Salmonella spp), health quality indicators (coliforms at 45°C and spores of Staphylococcus coagulase positive), as well as quality of commercial grade (psychrotrophic aerobes) were not found in the analyzed samples. However, there were counts for coliforms in 6% of samples at 35°C, 9% for molds and yeasts and 45% for mesophilic aerobes. In general, "samburá" samples can be considered nutritional food and safe, because the samples do not present pathogenic microorganisms to human health.

**Keywords**: Physical-chemical-microbiological analysis; Meliponiculture; Scaptotrigona xanthotricha; Tetragonisca angustula

# SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO GERAL	01
REVISÃO DE LITERATURA	02
ARTIGO 1 "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS SEM FERÃO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALORES ENERGÉTICOS	13
ARTIGO 2 "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA: CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA	38
CONSIDERAÇÕES FINAIS	56

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

As abelhas do gênero *Apis* e as espécies de abelha sem ferrão (meliponíneos) possuem características que diferem, principalmente por possuírem ferrão atrofiado (VIT, 2013). Estas abelhas compõem o grupo mais diverso de abelhas e estão presentes em regiões tropicais e subtropicais do mundo (MICHENER, 2007). Dentro desse grupo está a subtribo Trigonina que possui diversos gêneros (SILVEIRA et al., 2002; MICHENER, 2007; MOURE et al., 2018) é difundida em toda a área dos trópicos, sendo representada em especial pelos gêneros: *Tetragonisca* e *Scaptotrigona*, dentre outras (NOUGUEIRA NETO, 1997; PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008; PEDRO, 2014).

Entre os produtos elaborados pelas abelhas, o pólen, é um alimento produzido a partir do pólen das flores colhido de diferentes fontes botânicas e que contém compostos bioativos, minerais, ácidos graxos, proteínas, aminoácidos essenciais e fibras (CAMPOS et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2012). A qualidade do pólen está relacionada às suas características microbiológicas, físico-químicas e biológicas que, por sua vez, variam em função das condições climáticas, solo da região onde é produzida, origem botânica, beneficiamento do produto e das práticas empregadas durante a coleta (CAMPOS et al., 2008).

Baseado nessas características o pólen produzido pelas abelhas pode ser classificado como um alimento funcional e promissor por possuir compostos ativos que desempenham um importante papel na indústria (DENISOW; DENISOW-PIETRZYK, 2016). No entanto, há poucas informações sobre a composição desse produto o que dificulta sua utilização na indústria alimentar e farmacêutica (Bárbara et al., 2015).

O conhecimento das características do samburá é fundamental para incrementar o consumo desse produto, garantindo a segurança alimentar dos consumidores e proporcionando renda extra para os meliponicultores. Desta forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar o "samburá" de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma de Mata Atlântica.

# **2 REVISÃO DE LITERATURA**

## 2.1 Meliponicultura

A criação de abelha é uma atividade que vem se expandindo na maioria das regiões brasileiras, por apresentar características, como diversidade de florada que fornece grande quantidade de recursos (pólen, néctar e resina) para abelhas (SOUSA et al., 2016a). Essa atividade é subdividida em dois segmentos em função da espécie de abelha manejada: apicultura e a meliponicultura. A apicultura está relacionada com a criação das abelhas da espécie *Apis mellifera*, a mais utilizada comercialmente em escala mundial, enquanto que a meliponicultura se refere à criação de diversas espécies de abelhas sem ferrão, especialmente na região tropical (VENTURIERI, 2008).

A meliponicultura é uma atividade desenvolvida em todo território brasileiro, que tem como base a sustentabilidade, uma vez que não prejudica o meio ambiente, incentivando à mão de obra familiar (SANTOS, 2009). Contribui também para promover a melhoria da qualidade de vida dos agricultores, por meio da produção dos produtos naturais bastante apreciados, como mel, pólen, própolis, geoprópolis e geleia real (KWAPONG et al., 2010).

As abelhas sem ferrão taxonomicamente estão inluidas na ordem Hymenoptera, família Apidae, subfamília Apinae, tribo Meliponini (MOURE et al., 2018), sendo que a subtribo Meliponina tem apenas um gênero (*Melipona*) e a subtribo Trigonina possui diversos gêneros (SILVEIRA et al., 2002; MICHENER, 2007; MOURE et al., 2018). As espécies da subtribo Trigonina possui distribuição em toda a área dos trópicos, sendo representada em especial pelos gêneros: *Tetragonisca* e *Scaptotrigona*, dentre outras (NOUGUEIRA NETO, 1997; PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008; PEDRO, 2014).

As abelhas desse grupo taxonômico (Meliponina) são consideradas, na sua maioria, com potencial produtivo, como altamente defensivas e com algum conhecimento sobre manejo das suas colônias, embora muitas espécies ainda não foram estudadas quanto as suas características biológicas e ecológicas (NOGUEIRA NETO et al., 1986, CARVALHO e MARCHINI, 1999). Há também

poucas informações sobre as caraterísticas dos produtos das suas colônias, como o pólen armazenado (samburá) e o mel das abelhas sem ferrão (NOGUEIRA NETO, 1997; ALVES et al., 2018a; DUARTE et al., 2018). Apesar de uma relativa facilidade de manejo voltado para a produção, conhecido para diversas espécies (SOUZA et al., 2007; ALVES et al., 2018a).

Dois gêneros apresentam espécies particularmente potenciais para o manejo voltado à produção de seus produtos da colônia, amplamente distribuídas no Brasil: *Tetragonisca* e *Scaptotrigona* (NOGUEIRA NETO, 1997; MOURE et al., 2018). A facilidade de encontrar colônias dessas espécies se dá pela capacidade de construírem seus ninhos em ocos e cavidades, que vão desde troncos de árvores até paredes de tijolos, possuindo uma fácil localização. A entrada do ninho conta com um orifício de cera pelo qual as abelhas entram e saem, constituindo uma estratégia de defesa (VENTURIERI, 2008).

Além do potencial de produção, essas espécies também são importantes na polinização de plantas cultivadas e em ambientes naturais (BELLUSCI; MARQUES, 2001; NOVAIS et al., 2015).

O principal produto obtido pela criação dessas espécies de abelhas sem ferrão no Brasil ainda é o mel (MAIA et al., 2017), apesar de ocorrer a exploração comercial das colônias para a produção de pólen, própolis e serviços de polinização tem sido amplamente relatado por diferentes meios (VENTURIERI et al., 2012). Contudo, apesar do desenvolvimento e crescimento da meliponicultura no Brasil, esta atividade ainda carece de práticas tecnológicas que aprimorem o processo de extração dos produtos produzidos pelas abelhas, contribuindo para a sua valoração (COLETTO-SILVA, 2005), especialmente para o samburá ALVES et al., 2018a; ALVES; CARVALHO, 2018).

### 2.2 Pólen de abelha

O pólen é o gameta masculino das flores, produzido e armazenado no interior das anteras, o qual é transferido para o ovário, onde ocorre a fecundação, garantindo assim a reprodução da planta e consequentemente a sobrevivência

da espécie (BOGDANOV, 2017). Os grãos de pólen encontrado nas flores são estruturas microscópicas (2,5 a 250 µm) cujo seu formato, tamanho, peso e cor variam entre as espécies de plantas (KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2001).

O pólen apícola compreende no conjunto de vários grãos de pólen recolhido de diferentes fontes botânicas pelas abelhas, que se misturam ao néctar e/ou mel e às secreções salivares e em seguida passa por um processo de desidratação (CARPER et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2012). O termo pólen apícola é associado à apicultura, enquanto que o samburá é o pólen armazenado pelas abelhas sem ferrão em potes de cerume (NOGUEIRA NETO, 1997; ALVES et al., 2018a).

As abelhas visitam cerca de 200 flores para produção de apenas um grânulo de pólen apícola, podendo ocorrer grãos de uma única espécie (KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2001; BOGDANOV, 2017) ou se necessário grão de mais espécies de vegetais a fim de obter um produto com eficiência nutricional, uma vez que as abelhas têm a capacidade de identificar fontes de pólen com maior valor nutritivo (BARTH, 2004; MODRO et al., 2011).

Após a visita nas flores o pólen adere-se aos pelos do corpo da abelha quando em contato com os estames, em seguida eles são escovados com os pentes tibiais, e os grãos aglutinados em bolotas ou grânulos na cavidade da superfície externa das pernas posteriores, denominadas corbículas (PEREIRA et al., 2006).

O pólen é então transportado para o interior da colmeia, onde é adicionado mel e enzimas digestivas para posterior armazenamento e compactação nos potes de cerume, onde passam por mudanças físico-químicas após o fechamento dos potes, dando-se início a uma fermentação láctica que ocorre por ação de enzimas salivares que digerem os grânulos de pólen floral tornando os seus nutrientes mais facilmente assimiláveis pelas larvas (PEREIRA et al., 2006; VÁSQUEZ; OLOFSSON, 2009; ESTEVINHO et al., 2012).

Os principais micro-organismos responsáveis pela fermentação láctica são os *Streptococcus*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, ocorrendo também o aumento da população de leveduras, onde as mesmas podem fazer parte da fermentação do pólen (VÁSQUEZ; OLOFSSON, 2009).

5

Devido o teor mais elevado de ácido lático no pólen fermentado reflete-se em uma acidez mais acentuada e consequentemente num teor de pH mais baixo de 5,0 a 6,0 para 2,6 (NAGAI et al., 2004). Após uns dias (aproximadamente sete dias) esse pólen passa a ser uma massa fermentada, que modifica consideravelmente o seu odor, sabor, cor e a textura (ANDERSON et al., 2014; NICOLSON, 2017). Essas características variam entre poucas espécies de abelhas sem ferrão, de acordo com Menezes et al. (2013). Esses autores consideraram que o samburá de *Tetragonisca angustula* tem a caraterística de um pólen fermentado mais seco e relativamente doce, enquanto que em outras espécies, como as do gênero *Scaptotrigona*, o pólen é mais úmido e azedo.

A acidez do pólen coletado pelas abelhas é responsável pela sua auto conservação, pois inibe o crescimento de alguns micro-organismos, o que não se verifica na conservação do pólen apícola, que requer uma secagem logo após a recolha para evitar a sua degradação. No interior da colmeia o pólen é fácil de localizar devido seu aspeto colorido, encontrando-se normalmente no primeiro quadro após a zona de criação, o que permite uma rápida alimentação das larvas (NAGAI et al., 2004).

A principal fonte de alimento proteico para as abelhas é o pólen, sendo consumido tanto pelas abelhas adultas quanto pelas larvas. Além disso, o pólen contém todos os nutrientes essenciais para a elaboração de geleia real, a qual é utilizada para nutrição das larvas da abelha rainha e as larvas jovens de abelhas operárias. Portanto, o pólen se torna essencial para o crescimento e desenvolvimento dos indivíduos de uma colônia, assim como, para a reprodução das colônias (MORETI et al., 2002).

Na nutrição humana o pólen também é definido como um alimento natural, sendo tradicionalmente utilizado para consumo, bem como em medicina popular e complementar, por ser um alimento natural, vem representando grande importância nutricional por possuir em sua composição β-caroteno como provitamina A, vitaminas C, E, D e do complexo B, além de ser fonte de carboidratos, lipídios, sais minerais, proteína (CAMPOS et al., 1997) e possui todos os aminoácidos essenciais (ESTEVINHO et al., 2012).

Muitos benefícios têm sido atribuídos ao seu consumo, como causador do bem-estar, vigor físico, fortificante e estimulador do organismo, além de corrigir a

alimentação deficiente, o que resulta em equilíbrio funcional (KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2001). Por isso vem sendo utilizado como suplemento alimentar durante muitos anos na medicina tradicional devido as suas propriedades benéficas a saúde (FREIRE et al., 2012).

Deste modo, a constituição do pólen tem efeitos benéfico na prevenção de doenças causadas pela ação dos os radicais livres, e por possuir atividade antibacteriana (ISIDOROV et al., 2015), antioxidantes naturais (DE FLORIO ALMEIDA et al., 2017) e agir como quimiopreventivos (OMAR et al., 2016).

Pesquisas evidenciam que o pólen coletado pelas abelhas possui uma melhor atividade biológica e maior composição nutricional quando confrontado ao mesmo pólen floral proveniente da mesma fonte botânica (CHANTARUDEE et al., 2012). Em razão da sua relevância já comprovada, estudos têm sido direcionados para o conhecimento das características do pólen coletado pelas abelhas (VIT et al., 2016; REBELO et al., 2016).

### 2.3 Mercado do pólen

O mercado vem se tornando favorável ao consumo do pólen por ser um produto funcional, que pode se tornar um complemento à dieta ou até mesmo ser utilizado para fins terapêuticos. O consumo do pólen é indicado devido a todas as qualidades e características benéficas e por ser um alimento natural, uma vez que não requer qualquer processamento elaborado (MORES-ARROCHA et al., 2018).

O Brasil foi o décimo primeiro maior produtor de mel e décimo maior produtor mundial de cera de abelha em 2013 (FAOSTAT, 2015), mas não constam informações para os demais produtos produzidos pelas abelhas, como o pólen apícola e o samburá.

Segundo Estevinho et al. (2012) a produção mundial do pólen apícola girou em torno de 1,500 toneladas, sendo que a Espanha é a principal produtora mundial, acompanhado da China, Austrália e da Argentina. Os principais

importadores os EUA, Reino Unido, Alemanha, França e a Itália e os maiores exportadores mundiais são Espanha, China, Argentina e Hungria.

A produção brasileira de pólen apícola ficou em torno de 200 toneladas/ano, sendo os maiores Estados produtores: Bahia, Santa Catarina e Paraná (ALVES, 2013). Na Bahia o município de Canavieiras apresenta a maior produção é o de se destacando por produzir pólen de janeiro a dezembro, sendo que em 2016, uma cooperativa local produziu em torno de 4 a 5 toneladas (SEBRAE, 2017).

Estudos evidenciam que à fabricação de pólen apícola por colmeia mensal varia de 900g a 48 kg (BARRETO, FUNARI; ORSI, 2005), com média de 5 a 7 kg (ALVES, 2013), mas pode ocorrer uma variação na produção devido às condições climáticas, disponibilidade de água e vegetação para as abelhas, estado sanitário e nutricional da colônia, qualidade da rainha (idade, saúde, postura) e o nível de tecnificação dos produtores.

A produção e comercialização do pólen apícola no Brasil é uma atividade conhecida, porém são escassos estudos relacionados à produção em escala comercial e tão pouco sobre a comercialização do pólen produzido pelas abelhas sem ferrão, já que o mercado desse produto é local, sendo necessários esforços a fim de estimular, caracterizar e legalizar o produto.

### 2.4 Qualidade físico-química do pólen

A busca por alimentos saudáveis vem acarretando o aumento no consumo de produtos naturais, onde o mercado tem estimulado a produção de pólen na cadeia produtiva (ALVARELLI et al., 2011). Por se tratar de um produto natural, que promove benefícios a saúde humana devido à sua composição rica em aminoácidos essenciais e alta concentração de proteína, entre outros nutrientes, tem sido estudado por vários autores (BARRETO et al., 2006; AL-GHAMDI et al., 2010; ALVES et al., 2018a; DUARTE et al., 2018).

Além de ser rico nutricionalmente, o pólen possui em sua composição uma atividade biológica, que trazem ações específicas e benéficas ao organismo

humano (CARPES et al., 2007). Os alimentos que contêm essas características são chamados de alimentos funcionais (ZERAIK et al., 2010), por possuir atividade antifúngica, anti-inflamatória, imunomodulatória, anticariogênica e antibacteriana, exerce ainda função antioxidante, que inibi a ação lesiva dos radicais livres (GRAIKOU et al., 2011).

8

A constituição do pólen varia com as condições ambientais, climáticas, origem floral, geográficas, idade e situação nutricional da planta e estações do ano (ANDRADE et al., 1999). Diferentes estudos abordam que o pólen é o produto da colmeia que possui maior diversidade (CARPES et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2012, ESWARAN; BHARGAVA, 2014) e com isso o conhecimento a respeito das características físico-químico e biológicas se tornam relevante no sentido de caracterizar o produto obtido em diferentes regiões e controlar a qualidade, agregando valor comercial ao produto (MARCHINI et al., 2006).

No Brasil, o pólen apícola (pólen coletado pela espécie *Apis mellifera*) para ser comercializado deve apresentar os seguintes requisitos físico-químicos: umidade máxima de 30% para o pólen recém-coletado e umidade máxima de 4% para o pólen seco; teor de cinzas máximo de 4%; lipídios mínimo de 1,8%; proteínas mínimo de 8%; açúcares totais de 14,5 a 55,0%; fibra bruta mínimo de 2% e pH de 4 a 6 (BRASIL, 2001).

Embora o consumo de pólen coletado pelas abelhas seja relativamente conhecido e apreciado no mercado dos produtos apícolas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005), pouco se conhece sobre o pólen coletado e armazenado nas colônias pelas abelhas sem ferrão (samburá). Na tentativa de contribuir na elaboração de uma legislação apropriada para o samburá, diversos autores têm buscado caracterizar esse produto para distintas espécies de abelhas sem ferrão.

Alves et al. (2018a) avaliaram a composição química do samburá de *Melipona scutellaris*, demonstrando que a composição do samburá é diferente por se tratar de um produto fermentado, Barbara et al. (2018) e Duarte et al. (2018) verificaram diferenças na composição do samburá proveniente de distintas espécies de abelhas sem ferrão da região Nordeste do Brasil. Barbara et al. (2015), assim como Pinheiro et al. (2012), avaliaram o pólen armazenado (samburá) por *Melipona* spp, de diferentes regiões do Brasil, contatando que

samburá produzido por essas espécies de abelha sem ferrão é seguro do ponto de vista microbiológico e possui uma boa qualidade nutricional.

Os resultados alcançados por esses autores reforçam a necessidade de remodelar os padrões de qualidade efetivo no Brasil para pólen apícola, de modo a incluir os pólens armazenados (samburá) produzido pelas espécies de abelhas sem ferrão.

## 2.5 Qualidade microbiológica do pólen

Dentre os parâmetros que determina a qualidade de um alimento, os mais importantes estão relacionados às características microbiológicas (SOUZA et al., 2011; FRANCO; LANDGRAF, 2008). Se tratando de segurança alimentar, a qualidade microbiana é uma exigência necessária para saúde do consumidor, sendo que ela pode alterar as propriedades do produto, constituindo um risco a saúde. Nos alimentos essa análise permite avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e quanto ao risco à saúde da população (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Um alimento seguro significa ausência total de micro-organismos capazes de ocasionar toxinfecções alimentares, considerando que existem inúmeros tipos de organismos presentes em nosso ambiente (CARNEIRO, 2008). O pólen como qualquer outro tipo de alimento, deve ser livre de contaminantes microbiológicos prejudiciais à saúde humana.

Por possui um elevado valor nutricional, o pólen é considerado um alimento passível de contaminação microbiana, que pode ser proveniente das próprias abelhas, de outros insetos, animais, manipulação inadequada, e pelo uso de utensílios higienizados inadequadamente (HANI et al., 2012).

O crescimento e desenvolvimento de micro-organismos no alimento dependem de condições favoráveis, sendo influenciado por fatores extrínsecos (temperatura ambiente, umidade do ar), fatores intrínsecos (atividade de água (aW), pH e presença de antimicrobianos naturais) (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O pólen fermentado por possuir um elevado valor de umidade, e um teor nutritivo pode favorecer o desenvolvimento de alguns micro-organismos, portanto, são importantes estudos para evitar esta proliferação (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Apesar da busca por alimentos seguros e de qualidade, não existe uma legislação brasileira para os parâmetros microbiológicos para o pólen apícola e nem para o samburá, sendo que essa não padronização pode estar relacionada à deficiência de estudos científicos e à ausência de diagnósticos que atestem a necessidade destes padrões seja com amostras *in natura* ou desidratadas (BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005).

Contudo, existe uma legislação cubana que inclui o pólen apícola no grupo dos alimentos de origem vegetal, que estabelece ausência para *Salmonella* sp., e *Escherichia coli*, limites para aeróbios mesofilos <10<sup>4</sup>, bolores e leveduras < 10<sup>2</sup>, coliformes totais, <10<sup>3</sup> (PUIG-PEÑA et al., 2012) e uma legislação da Argentina que estabelece limite máximo de 1,5x10<sup>5</sup> UFC/g para aeróbios mesofilos, máximo de 10<sup>2</sup> UFC/g para bolores e leveduras e ausência de microrganismos patogênicos (ARGENTINA, 1990).

Dentre os microrganismos encontrados em alimentos, os bolores e leveduras, é um grupo de micro-organismos que são encontrados na natureza, podendo ser encontrados no solo, água, ar e superfícies de vegetais (CAPPELLI et al., 2016) e são utilizados como indicadores da eficiência de práticas de sanitização de ambientes, equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento dos alimentos (MOURA et al., 2014).

Os micro-organismos indicadores supracitados são considerados capazes de se desenvolverem em ambientes cujo pH são relativamente baixos, na faixa de 3,0 a 4,5 normalmente nos alimentos que são ricos em carboidratos, ácidos e com baixa atividade de água (SILVA et al., 2010).

Algumas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de avaliar a presença desses micro-organismos no samburá, como os trabalhos desenvolvido por Barbara et al. (2018) e Alves et al. (2018a), onde foram avaliadas as características microbiológicas do samburá por distintas espécies de abelhas sem ferrão, sendo observada o crescimento de bolores e leveduras nas amostras.

Como o pólen, possui uma elevada composição nutricional, favorece ao aparecimento de micro-organismos (FATROCOVÁ-ŠRAMKOVÁ et al., 2013). Os bolores e leveduras são considerados parâmetros microbiológicos mais significativos para avaliação do pólen das abelhas, seguido por bactérias e coliformes totais (HERVATIN, 2009).

O aparecimento de bactérias no alimento pode possibilitar a veiculação de patógenos, favorecendo a deterioração e/ou redução da vida útil de produtos, a maioria desse grupo de micro-organismo está relacionado às condições de higiênico-sanitárias durante a colheita, a temperatura, condições e período de armazenamento, além da composição do alimento (FORSYTHE, 2002). Dentre as bactérias, as aeróbias mesófilas tais como as espécies de Enterobacteriaceae, *Bacillus, Clostridium, Corynebacterium* e *Streptococcus*, que se multiplicam entre 20°C e 45°C, com ótimo de 36°C (VALSECHI, 2006). Essas bactérias são as mais frequentemente encontradas e requer maior atenção.

Os aeróbios mesófilos quando encontrados nos alimentos é indicativo de higienização inadequada aplicada durante o manejo (JAY, 2005). Esta determinação funciona como um sinalizador de qualidade dos alimentos, das práticas às quais o alimento foi submetido e pode resultar na redução de sua vida útil (SANTANA; CORREA, 2006). Segundo Moreno e Velosa (2009) esses microorganismos são considerados uma das principais responsáveis em provocar alterações nas características organoléptica dos alimentos.

Os coliformes a 35°C, são bactérias Gram-negativas da família Enterobcteriaceae, cujos os gêneros de maior importância são *Escherichia*, *Enterobacter, Citobacter e Klebsiella* (DAMER et al., 2014). Essas bactérias são capazes de fermentar a lactose em 48 horas e ao encontrar-se em contato com alimento ocasionam uma deterioração, causando problemas gastrointestinais ou mesmo infecção alimentar caso consumido pelo humano (PATEL et al., 2014).

O grupo dos coliformes a 45°C representado pela *Escherichia coli* conhecida como termotolerantes, é o mais importante, por ser um micro-organismo indicador tanta de contaminação fecal ou das condições higiênicosanitárias insatisfatórias de processamento de alimentos (NEVES et al., 2015),

Os *Clostridium* são micro-organismos habitualmente encontrados no meio ambiente no (solo), legumes, frutas e são bactérias patogênicas Gram-positivas,

anaeróbicas estritas e imóveis no intestino de bovino e equino e nas fezes humanas (SILVA et al., 2010). Seus esporos podem ser frequentemente encontrados no corpo das abelhas ou mesmo veiculados pelo vento, quando os favos ainda estão no campo (FINOLA et al., 2007). Segundo Caballero et al. (2016) esse microrganismo está relacionado à capacidade de provocar uma doença denominada botulismo, tendo como agente causal *Clostridium botulinum*, principalmente em crianças com idade inferior a um ano, por não apresentar uma desenvolvida microbiota intestinal. Essa doença pode acarretar a morte.

Staphylococcus aureus é um micro-organismo de relevância por ser uma bactéria oportunista, responsável por intoxicação alimentar, é uma bactéria Grampositiva amplamente distribuída por todo o mundo (BAPTISTA et al., 2016). Esse micro-organismo é um indicativo de deficiência na higiene do manipulador durante o processo de obtenção do produto (MEDEIROS et al., 2013).

Existem poucos estudos relacionados à qualidade microbiológica do pólen coletado pelas abelhas sem ferrão (samburá). E dada à exigência de um diagnóstico de qualidade do pólen de abelha produzido no Brasil, fortalece a necessidade de uma regulamentação adequada para a qualidade microbiológica do pólen considerando a falta legislação específica para este produto.

# CAPÍTULO 1 - ARTIGO 1

Artigo a ser submetido ao Periódico Revista Brasileira de Zootecnia, Qualis B1, na área de Zootecnia/Recursos pesqueiros.

# "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS SEM FERÃO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALORES ENERGÉTICOS

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade química e os valores energéticos do samburá de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma Mata Atlântica, Brasil. Um total de 33 amostras do pólen armazenado (samburá) de Scaptotrigona xanthotricha e Tetragonisca angustula foi coletado em um meliponário localizado em Vera Cruz, Bahia, Brasil. Os valores obtidos nos parâmetros umidade (%), cinzas (%), pH, acidez (mEq kg<sup>-1</sup>), atividade de água de (Aw), proteínas (%), gorduras totais (%), carboidratos totais (%), compostos fenólicos totais (mg EAG g<sup>-1</sup>), flavonoides totais (mg EAG g<sup>-1</sup>) encontram-se dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira para o pólen apícola, exceto para o teor de umidade, cinzas e pH. Os dados confirmam diferenças na composição do samburá nas duas espécies, S. xanthotricha e T. angustula, permitindo a formação de dois grupos em função dos parâmetros químicos e valores energéticos. As amostras de samburá de S. xanthotricha obtiveram valores maiores em relação a T. angustula para os parâmetros umidade, cinzas, atividade de agua, acidez e flavonoides totais. O samburá das espécies em estudo apresentou características químicas e valores energéticos adequados e boas condições nutricionais, demostrando ser um produto promissor para uso na alimentação humana.

Palavras chave: Scaptotrigona xanthotricha, Tetragonisca angustula, Meliponicultura; Produtos das colônias

# "SAMBURÁ" OF TWO SPECIES OF SOCIAL STINGLESS BEES: CHEMICAL COMPOSITION AND ENERGY VALUES

**ABSTRACT:** The objective of this work was to evaluate the chemical quality and energetic values of "samburá" of two species of social bees managed in the biome Atlantic forest, Brazil. We collected 33 samples of the stored pollen (samburá) from *Scaptotrigona xanthotricha* and *Tetragonisca angustula* at a meliponary in Vera Cruz, Bahia, Brazil. The values of parameters moisture (%), ash (%), pH, acidity (mEq kg<sup>-1</sup>), water activity of Aw, proteins, total fats, total carbohydrates, (mg.EAG g<sup>-1</sup>), total flavonoids (mg.EAG g<sup>-1</sup>) are within the limits established by Brazilian legislation for bee pollen, except for the moisture content, ashes and pH. The data confirm differences in the composition of "samburá" in both species, *S. xanthotricha* and *T. angustula*, allowing the formation of two groups according to chemical parameters and energy values. Samples of *S. xanthotricha* "samburá" showed higher values than *T. angustula* for parameters moisture, ash, water activity, acidity and total flavonoids. The "samburá" of species under study presented chemical characteristics, adequate energy values and good nutritional conditions, proving to be a promising product for use in human food.

Keywords: Scaptotrigona xanthotricha, Tetragonisca angustula, Meliponiculture, Bee Products

# INTRODUÇÃO

A meliponicultura caracteriza-se pela criação de abelhas sem ferrão e tem alcançado papel importante por apresentar produtos e subprodutos valorizados economicamente (PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008). Entre esses produtos está o pólen (samburá), um alimento elaborado pelas abelhas a partir de sua coleta nas flores.

As abelhas transportam em suas corbículas o pólen coletado nas flores e posteriormente depositam em potes de cera. Então é formada uma massa compacta que sofre transformações pelo processo fermentativo, o que modifica consideravelmente o seu odor, o sabor, a cor e a textura (NICOLSON, 2017). Essa massa de pólen armazenada nos potes de cera é denominada samburá (ANDERSON et al., 2014; ALVES et al., 2018).

O samburá ou pólen fermentado armazenado pelas abelhas é considerado um alimento nutricionalmente completo, uma vez que contém aminoácidos essenciais, quantidades variáveis de proteínas, vitaminas, minerais, ácidos graxos, fibras e compostos bioativos (YANG et al., 2013; KOSTIĆ et al., 2015; KALAYCIOĞLU et al., 2017). A presença desses compostos faz com que o pólen seja considerado um alimento importante para os humanos, o que requer a realização de padrões de qualidade para a sua comercialização (CAMPOS et al., 2008).

A qualidade do pólen está relacionada às suas características físico-químicas, microbiológicas e biológicas que podem apresentar variações, pois estão relacionadas com a origem botânica, condições climáticas e às práticas empregadas durante a coleta e beneficiamento do produto (ESTEVINHO et al., 2012; CARPES, 2007). Esses parâmetros são estabelecidos para o pólen de *A. mellifera*, mas ainda são escassas as informações sobre o samburá das abelhas sem ferrão (SOUZA et al., 2004; ALVES et al., 2018). A legislação nacional e internacional estabelece padrões de identidade e qualidade do pólen apícola, àquele que é produzido pela abelha com ferrão, *Apis mellifera* (CAMPOS et al., 2008). Contudo, não há legislação para o pólen proveniente da criação das abelhas sem ferrão, o samburá.

O conhecimento das características do samburá é importante para promover o uso seguro deste produto, permitindo o aumento do mercado, além de contribuir para a conservação de espécies de plantas em diferentes biomas pelo incentivo à meliponicultura (ALVES; CARVALHO, 2018; ALVES et al., 2018). Desta forma, o objetivo deste estudo

foi determinar a qualidade química e os valores energéticos do samburá de duas espécies de abelhas sociais (*Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula*) manejadas no bioma Mata Atlântica.

# MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em um único meliponário localizado no município de Vera Cruz, Bahia, Brasil (12° 57' 16" S /38° 36' 16" W), cuja a região é caracterizada por uma diversidade de florada, por estar localizada em uma área litorânea e cercado por coqueiros (Arecaceae). As colônias de *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* foram mantidas em sistema de criação de caixas de madeira para facilitar o manejo, separadas entre si por aproximadamente um metro em local sombreado (Figura 1A).

As amostras de samburá foram coletadas de acordo a disponibilidade de pólen das colônias previamente sorteadas, totalizando 33 amostras contendo aproximadamente 30 g por amostra, sendo 19 amostras de *S. xanthotricha* (Figura 1B) e 14 de *T. angustula* (Figura 1C). As coletas ocorreram durante o principal período de produção na região, compreendido entre outubro/2017 e janeiro/2018. Para a extração do pólen foi utilizado instrumentos de plásticos higienizados como colheres, facas e espátulas.

Após a coleta, as amostras foram colocadas em potes do tipo coletor plástico estéril e em seguida realizaram as análises.



Figura 1. Coleta de samburá em colônia de duas espécies de abelhas sociais no munícipio de Vera Cruz, Brasil. A: colônias instaladas em caixas de madeira; B: aspecto do ninho de *Scaptotrigona xanthotricha*; C: aspecto do ninho de *Tetragonisca angustula*; D: pote de pólen (samburá).

## Análises químicas e valores energéticos

As análises químicas e os valores energéticos seguiram os padrões de qualidade constituído pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) para pólen o apícola. Os parâmetros realizados foram: umidade (%), cinzas (%), pH, acidez (mEq kg<sup>-1</sup>), atividade de água (Aw), proteínas (%), gorduras totais (%), carboidratos totais (%), compostos fenólicos totais (mg.EAG g<sup>-1</sup>), flavonoides totais (mg.EAG g<sup>-1</sup>). Esse procedimento se fez necessário uma vez que não há uma legislação específica para as características químicas do samburá.

### **Umidade (%)**

No cadinho seco em estufa a 105°C, pesou-se 2 g da amostra do samburá que permaneceu na estufa a 105°C por 6h. Após esse período, colocou-se cadinho no dessecador até esfriar a amostra e sendo realizada a pesagem novamente obtendo o valor da umidade em porcentagem (%) (ZENEBON; TIGLEA, 2008).

## Determinação de Cinzas (%)

No cadinho seco em estufa a 105°C, pesou-se 2 g da amostra do samburá que permaneceu na mufla a 600°C por 7h, ocorrendo à incineração da amostra. Após esse período, colocou-se no dessecador até esfriar as amostras e realizou-se pesagem novamente obtendo o valor de cinzas em porcentagem (%) (ZENEBON; TIGLEA, 2008).

# pH e Acidez (mEq kg<sup>-1</sup>)

O pH foi medido em etapa aquosa alcançada posteriormente a combinação de 1 g de samburá em 75 mL de água destilada. O teor de acidez foi determinado por titulometria utilizando NaOH 0,05 M até obter um pH de 8,5 (ZENEBON; TIGLEA, 2008).

# Atividade de Água (Aw)

Utilizou-se para a avaliação da atividade de água (Aa ou aw – activitywater) o aparelho PawKit (Decagon), que consiste na técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medição do produto.

### Determinação de Proteínas ou Proteína Bruta (%)

O teor de nitrogênio total foi realizado pelo método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990; ALMEIDA-MURADIAN; ARRUDA; BARRETO, 2012). Pesou-se 200 mg do samburá, onde foram colocadas em tubos digestores contendo uma mistura catalisadora (100 g de sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1 g de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>,5H<sub>2</sub>O) e 1,75 g de selenito de sódio). Em seguida, cada um dos tubos foi adicionado 4 mL de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), que foram submetidos a aquecimento em bloco digestor a 400°C, dentro da capela de exaustão.

No momento em que a coloração das amostras tornou-se azul-esverdeada, os tubos permaneceram no bloco digestor a 400°C por mais 4 horas. Após esse período, foi desligado e os tubos permaneceram na capela até perder calor.

Posteriormente adicionou-se 25 mL de hidróxido de sódio (NaOH 2:1) no copo dosador do destilador e então foi liberado lentamente para os tubos que foram conectados ao destilador, até observar o aparecimento da cor marrom ou verde nas amostras. Com a ponta do condensador localizada na extremidade foi mergulhada o erlenmeyer de 250 mL já contendo 100 mL de solução (50 mL de água + 50 mL de ácido bórico 2% (H3BO3)).

Nas primeiras gotas que caíram do condensador no erlenmeyer a solução passou de vermelho para verde vibrante. A mudança se dá por conta da amônia presente. Do material destilado recolheu-se 150 mL no erlenmeyer. Após a destilação ocorreu à titulação acrescentando três gotas do indicador. a fenolftaleína, onde foram titulados com ácido clorídrico (HCl) padronizado (0,02 M). O HCL foi adicionado na amostra até que ocorresse o ponto de viragem (amostra mudar de verde para vermelho).

O valor de nitrogênio total foi calculado pela fórmula:

$$%N = (Va \times Fator HCl \times 6,25 \times 0,14/M)$$

Onde:

Va = volume de ácido clorídrico usado na titulação da amostra (mL);

Fator HCl = padronização do HCl obtido pelo cálculo fator (f) = Vol, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ Vol, HCl;

M = massa da amostra em mg.

Para converter o teor de nitrogênio total em proteína bruta foi utilizado fator de correção de 6,25 para alimentos em geral (IAL, 2008). Porque grande parte dos alimentos possui em média 16% de N (nitrogênio).

#### Análise de Lipídios ou Gorduras totais (%)

O conteúdo de lipídios foi determinado por extração intermitente em Soxhlet (IAL, 2008; ALMEIDA-MURADIAN; ARRUDA; BARRETO, 2012). Inicialmente, os copos foram aquecidos em estufa a 105°C por 1 h, e pesados após atingirem à temperatura ambiente (em dessecador). Cerca de 2 g de amostra foram pesadas em papel filtro em forma de cartucho, que foram fechados e inseridos nos intermediários do aparelho de extração.

Os copos foram acoplados na saída do intermediário e o sistema preenchido com cerca de  $80\,$  mL de solvente hexano ( $C_6H_{14}$ ). Extraiu-se em aparelho Soxhlet por aproximadamente 6 horas. Retirou-se o cartucho do extrator e recuperou-se o solvente no próprio aparelho deixando apenas o mínimo de hexano nos copos, então foram submetidos à evaporação em estufa a  $105^{\circ}$ C por 1h. A massa dos copos foi medida quando chegou à temperatura ambiente (em dessecador).

### Carboidratos Totais (%)

Os carboidratos totais foram determinados por meio da seguinte equação:

% Carboidratos = 100 - (cinzas (%) + proteínas (%) + lipídios (%)) (NOGUEIRA et al., 2012).

## **Compostos Fenólicos Totais e Flavonoides Totais**

Preparo do Extrato de Samburá

Os extratos foram preparados a partir de 4 gramas do samburá, diluídas em 50 mL de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) a 70% (v/v). Em seguida ocorreu a etapa da extração em banho ultrassônico por 60 minutos. Após esse período foi realizada uma centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante filtrado com o auxílio de papel filtro quantitativo, diretamente em placa de Petri. Após evaporação do etanol procedeu-se à raspagem do extrato seco e o armazenamento sob refrigeração, em tubos Falcon protegido da luz (MAIA-ARAÚJO et al., 2011). Para a ressuspensão dos extratos secos utilizou-se o etanol 70%.

# Compostos Fenólicos Totais ou Fenóis Totais

A quantificação dos fenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com (FEÁS et al., 2012). A solução de extrato (0,5 mL) foi misturada com 2 mL do reagente Folin-Ciocalteu ( $C_6H_6O$ ) a 10% e 2 mL de carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ) 4%. Os tubos foram agitados no vórtex durante 30 segundos e armazenadas na ausência de luz durante 30 minutos em banho maria a 40°C para o desenvolvimento de cor. A absorvância foi medida a 765 nm. Sendo o teor fenólico total expresso em expressos em miligramas equivalente de ácido gálico por mL de extrato (mg EAG g<sup>-1</sup>) a partir da curva padrão (y = 0,0099x + 0,0119;  $R^2$  = 0,9976).

#### **Flavonoides Totais**

Os valores de flavonoides totais foram determinados segundo o método descrito por Feás et al. (2012). Para a preparo das amostras, misturou-se 500 µL da amostra devidamente diluída, em tubos de ensaio com 2,2 mL de água destilada, 150 µL de Nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) a 5%. Após 6 minutos em repouso, adicionou-se 150 µL de AlCl<sub>3</sub> a 10%. Passando 6 minutos, adicionou-se 2 mL de hidróxido de sódio (NaOH 4%). A mistura foi agitada e mantida em repouso no escuro durante 15 minutos. A intensidade da cor da mistura foi quantificada por espectrofotometria a 510 nm. A quercentina (CA) foi utilizada como padrão (0,05 - 1,0 mM) para a determinação da curva de calibração. Sendo

o teor de flavonoides totais expressos em mg de quercentina de extrato de pólen (mg EAG  $g^{-1}$ ) a partir da curva padrão (y = 0,0326x - 0,0244;  $R^2$  = 0,9983).

#### Análise Estatística

Para as variáveis químicas e os valores energéticos realizou-se à estatística de variância pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade e a análise multivariada dos componentes principais (PCA) com a relação n > p (n = número de amostras; p = número de variáveis), para verificar a variabilidade dos parâmetros entre as amostras de samburá coletadas. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico R Core Team (2018), versão 2.15.1 e adotando o nível de significância de 5% (p < 0.05).

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos componentes principais foram utilizados 9 parâmetros para avaliar o samburá das espécies de abelha sociais sem ferrão. Foram necessários quatro componentes principais para explicar 70,23% da variância total dos dados conforme apresentado na Tabela 1. Os parâmetros que mais contribuíram para a diferenciação dos grupos foram a umidade, cinzas, acidez, flavonoides e atividade de água para *S. xanthothicha*, e o conteúdo de lipídios, proteína, pH e fenóis totais para *T. angustula*. Esses resultados são similares aos encontrados no teste de comparação de média conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Componentes principais (PC), autovalores (λi), porcentagem da variância explicada pelos componentes (VCP) e porcentagem acumulada das características química e valores energéticos do samburá de *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona xanthothicha* manejadas no bioma Mata Atlântica, Bahia, Brasil.

PC	$\lambda_i$	VCP (%)	VCP acumulada (%)		
PC1	2,67	29,62	29,62		
PC2	1,59	17,64	47,26		
PC3	1,38	12,64	59,90		
PC4	0,93	10,33	70,23		

Os dois gráficos bidimensionais (PC1 × PC2 e PC1 × PC3) apresentados na Figura 2 foram suficientes para explicar uma importante variação e associação dos parâmetros químicos do samburá das espécies em estudo, ou seja, demostraram de forma resumida os 9 parâmetros químicos e seus valores energéticos dentro de três novas variáveis (PCs).

24

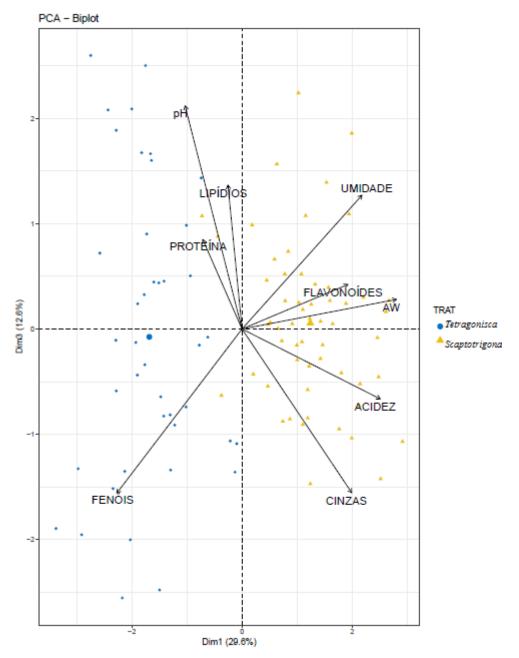
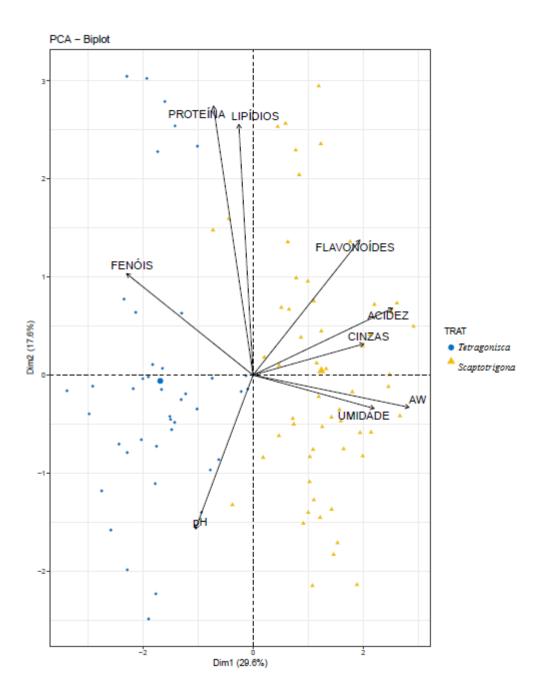


Figura 2 - Biplot das características química e os valores energéticos do samburá de Tetragonisca angustula e Scaptotrigona xanthothicha manejadas no bioma Mata Atlântica, Bahia, Brasil.

25



"Figura 2 - Continuação"

Observa-se na Figura 2 os gráficos de dispersão das amostras de samburá, e a correlação entre as variáveis dentro de cada componente principal. Verifica-se que os valores energéticos (lipídios e proteínas), contribuíram para formação dois grupos de samburá de acordo com a espécie de abelha produtora, sendo que estes parâmetros influenciaram mais na amostra da *Tetragonisca angustula*. Os resultados demostram que mesmo sendo manejadas em um mesmo bioma, o samburá dessas espécies de abelhas apresenta caraterísticas distintas.

A caracterização química do samburá das espécies *S. xanthotricha* e *T. angustula* demostram que os valores médios obtidos se encontram dentro da legislação brasileira para o pólen apícola, exceto para o teor de umidade, cinzas e pH (Tabela 2).

O teor de umidade determinado é importante por representar a água presente no alimento, sendo que o seu elevado teor pode provoca uma rápida deterioração (ALMEIDA-MURADIAN; ARRUDA; BARRETO, 2012), criando uma condição indesejada e propícia ao desenvolvimento de micro-organismos. Dessa forma, a umidade é um parâmetro essencial, uma vez que é comum encontrar elevados teores no samburá.

Os teores de umidade para o samburá da espécie *S. xanthotricha* (22,33 a 34,14%) foram maiores que o da espécie *T. angustula* (23,59 a 29,51%), havendo diferença significativa nas amostras analisadas (Tabela 2). Das 33 amostras avaliadas 66% encontram-se dentro do limite máximo de 30% estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) para pólen apícola, sendo que as amostras de *T. angustula* encontram-se dentro do limite estabelecido.

A diferença no teor de umidade é influenciada pelas características da espécie de abelha produtora, pois o samburá produzido por *S. xanthotricha* tem a característica de um produto mais úmido e azedo, enquanto que *T. angustula* produzem um samburá mais seco e relativamente doce, além de características intrínsecas da abelha a origem botânica que também pode influenciar (MENEZES et al., 2013). Essa diferença entre as espécies pode estar relacionada à distinta disposição e tamanho dos potes de samburá e manejo dentro da colmeia. As *T. angustula* são conhecidas por possuírem uma maior organização na separação do pólen e são consideradas mais limpas, tanto no que diz respeito ao alimento consumido quanto na construção de seu ninho (NOGUEIRA NETO, 1997).

Os valores achados no samburá de *S. xanthotricha* corroboram com os valores encontrado por Bárbara et al. (2018) em estudo sobre a composição química do samburá produzido por diferentes espécies de abelhas sem ferrão (*Scaptotrigona* sp.) no Nordeste do Brasil e por Pinto et al. (2012), em estudo do perfil físico-químico do pólen *in natura* no sudeste do Brasil.

Tabela 2 - Resultados médios das análises químicas e os valores energéticos para as amostras de samburá das espécies *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* manejadas no bioma Mata Atlântica, Bahia, Brasil e a especificação da regulamentação Brasileira.

AMOSTRAS	UMIDADE (%)	CINZAS (%)	ATIVIDADE DE ÁGUA (Aw)	pН	ACIDEZ TOTAL (mEq kg <sup>-1</sup> )	PROTEÍNA (%)	LIPÍDIOS (%)	CARBOIDRATO (%)	COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS (mg.EAGg <sup>-1</sup> )	FLAVONOIDES TOTAIS (mg.EQg <sup>-1</sup> )
TA 01	$25,60 \pm 1,78 \text{ c}$	$4,83 \pm 0,46 \text{ b}$	$0.77 \pm 0.01$ c	$3,56 \pm 0,04 \text{ b}$	$112,33 \pm 2,02$ c	$11,52 \pm 0,01 i$	$2,86 \pm 0,03 \text{ q}$	$80,78 \pm 0,49$ c	$135,36 \pm 3,54 d$	$16,710 \pm 0,28 \text{ h}$
TA 02	$26,79 \pm 0,34 \text{ b}$	$4,93 \pm 0,12 \text{ b}$	$0.76 \pm 0.01 \; d$	$3,43 \pm 0,01$ c	$109,00 \pm 3,18 c$	13,03 ± 1,84 h	$3,80 \pm 0,01 i$	$78,24 \pm 1,77$ e	$138,46 \pm 18,15 d$	$11,\!280 \pm 0,\!801$
TA 03	$24,10 \pm 0,53$ c	$5,03 \pm 1,08 \text{ a}$	$0.75 \pm 0.00 \text{ d}$	$3,55 \pm 0,01 \text{ b}$	$106,67 \pm 2,75 \text{ c}$	$10,98 \pm 0,01 \text{ j}$	$3,44 \pm 0,011$	$80,55 \pm 1,08$ c	$214,15 \pm 7,58$ a	$14,01 \pm 0,61 \; \mathrm{j}$
TA 04	$24,95 \pm 0,15 c$	$5,73 \pm 0,15$ a	$0.75 \pm 0.01$ c	$3,39 \pm 0,01$ c	$116,17 \pm 1,04 \text{ b}$	$11{,}97\pm00~\mathrm{i}$	$3,52 \pm 0,01 \text{ j}$	$78,77 \pm 0,16$ e	$125,23 \pm 0,42$ e	$15,430 \pm 0,38 i$
TA 05	$24,51 \pm 0,15 c$	$5,20 \pm 0,26$ a	$0,\!74\pm0,\!00e$	$3,35 \pm 0,05 d$	$107,00 \pm 4,92 \text{ c}$	$17,88 \pm 0,02$ c	$2,\!48 \pm 0,\!01~\mathrm{r}$	$74,44 \pm 0,27 \; h$	$153,48 \pm 6,43$ c	$17,82 \pm 0,52 \text{ g}$
TA 06	$23,59 \pm 0,71$ c	$5,20 \pm 0,50$ a	$0.73 \pm 0.01$ e	$3,32 \pm 0,08 d$	$109,83 \pm 1,53$ c	$13,97 \pm 0,02 \text{ f}$	$1,45 \pm 0,01 \text{ w}$	$79,38 \pm 0,52 \text{ d}$	$152,94 \pm 1,24$ c	$16,45 \pm 0,43 \text{ h}$
TA 07	$29,51 \pm 1,03$ a	$5,30 \pm 0,17$ a	$0,75 \pm 0,01 \; d$	$3,38 \pm 0,03$ c	$106,67 \pm 2,08 \text{ c}$	$15,69 \pm 0,03$ e	$2,45 \pm 0,01 \text{ s}$	$76,56 \pm 0,15 \text{ f}$	$146,85 \pm 0,88 \text{ c}$	$14{,}22\pm0{,}49~j$
TA 08	$29,41 \pm 0,29$ a	$4,30 \pm 0,30$ c	$0.73 \pm 0.00$ e	$3,64 \pm 0,07$ a	$100,83 \pm 14,49 \text{ c}$	$17,20 \pm 0,01 \text{ d}$	$3,01 \pm 0,01$ n	$75,49 \pm 0,42 \text{ g}$	$123,01 \pm 1,91$ e	$16,10 \pm 0,25 \text{ h}$
TA 09	$29,49 \pm 0,80$ a	$4,77 \pm 0,15 \text{ b}$	$0.72 \pm 0.01 \text{ f}$	$3,43 \pm 0,16$ c	$112,83 \pm 6,83$ c	$11,91 \pm 0,30 i$	$2,90 \pm 0,01 \text{ p}$	$80,43 \pm 0,42$ c	$125,03 \pm 0,31$ e	$12,70 \pm 0,36 \text{ k}$
TA 10	$27,46 \pm 0,86 \text{ b}$	$4,27 \pm 0,25$ c	$0.73 \pm 0.00$ e	$3,49 \pm 0,02 \text{ b}$	$112,33 \pm 2,08 \text{ c}$	$7,42 \pm 0,031$	$2,02 \pm 0,01$ u	$86,29 \pm 0,13$ a	$134,65 \pm 12,80 \mathrm{d}$	$14,03 \pm 0,43 \text{ j}$
TA 11	$28,16 \pm 1,14 \text{ b}$	$5,53 \pm 0,23$ a	$0.71 \pm 0.01 \text{ f}$	$3,49 \pm 0,02 \text{ b}$	$115,67 \pm 0,76 \text{ b}$	$23,88 \pm 0,03$ a	$4,48 \pm 0,02 \text{ f}$	$66,11 \pm 0,22 \text{ m}$	$133,71 \pm 0,76 d$	$20,42 \pm 0,61$ e
TA 12	$27,40 \pm 1,35 \text{ b}$	$4,73 \pm 0,21 \text{ b}$	$0.73 \pm 0.01$ e	$3,39 \pm 0,03$ c	$118,67 \pm 5,41 \text{ b}$	$23,44 \pm 0,02$ a	$4,62 \pm 0,02 d$	$67,21 \pm 0,251$	149,64 ± 15,93 b	$19,50 \pm 0,12 \text{ f}$
TA 13	$27,44 \pm 2,24 \text{ b}$	$4,10 \pm 0,20$ c	$0.76 \pm 0.01$ d	$3,59 \pm 0,05 \text{ b}$	$104,50 \pm 1,61 \text{ c}$	$11,23 \pm 0,02 i$	$3,96 \pm 0,02 \text{ h}$	$80,71 \pm 0,22$ c	135,73 ± 1,57 d	$25,81 \pm 1,37$ a
TA 14	$29,07 \pm 0,94$ a	$4,43 \pm 0,42$ c	$0.76 \pm 0.01 \; d$	$3,53 \pm 0,03 \text{ b}$	$111,83 \pm 10,96$ c	$15,54 \pm 0,06$ e	$5,21 \pm 0,01$ b	$74,82 \pm 0,41 \text{ h}$	$122,74 \pm 2,38$ e	$8,40 \pm 0,34 \text{ m}$
SX 15	$31,26 \pm 0,41$ a	$5,60 \pm 0,20$ a	$0.80 \pm 0.01$ a	$3,41 \pm 0,06$ c	$119,16 \pm 7,40 \text{ b}$	$15,54 \pm 0,01$ e	$2,32 \pm 0,02 \text{ t}$	$77,64 \pm 0,22$ e	136,14 ± 2,77 d	$22,25 \pm 1,00 \text{ c}$
SX 16	$31,31 \pm 0,88$ a	$5,43 \pm 0,81$ a	$0.80 \pm 0.01$ a	$3,40 \pm 0,03$ c	$130,00 \pm 11,30$ a	$13,50 \pm 0,05 \text{ g}$	$2,86 \pm 0,01 \text{ q}$	$78,21 \pm 0,77$ e	$133,04 \pm 1,78 d$	$23,61 \pm 0,54 \text{ b}$
SX 17	$32,15 \pm 0,96$ a	$5,43 \pm 0,21$ a	$0.80 \pm 0.01 \ a$	$3,36 \pm 0,021d$	$117,50 \pm 3,05 \text{ b}$	$11,90 \pm 0,00 i$	$3,01 \pm 0,01$ n	$79,65 \pm 0,21 \text{ d}$	$101,69 \pm 023,37 \text{ f}$	$22,05 \pm 0,17$ c
SX 18	$31,38 \pm 0,871a$	$5,63 \pm 0,45 \text{ a}$	$0.80 \pm 0.01$ a	$3,39 \pm 0,04$ c	$119,17 \pm 6,29 \text{ b}$	$11,93 \pm 0,05 i$	$3,28 \pm 0,01 \text{ m}$	$79,16 \pm 0,49 \text{ d}$	$102,81 \pm 2,37 \text{ f}$	$20,98 \pm 0,44 d$

"Tabela 2 – Continuação"

AMOSTRAS	UMIDADE (%)	CINZAS (%)	ATIVIDADE DE ÁGUA (Aw)	pН	ACIDEZ TOTAL (mEq kg <sup>-1</sup> )	PROTEÍNA (%)	LIPÍDIOS (%)	CARBOIDRATO (%)	COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS (mg.EAGg <sup>-1</sup> )	FLAVONOIDES TOTAIS (mg,EQg <sup>-1</sup> )
SX 19	$29,93 \pm 0,67$ a	$4,57 \pm 0,21$ c	0,78 ±0,00 b	$3,35 \pm 0,03 d$	$125,17 \pm 6,11$ a	$10,15 \pm 0,01 \text{ k}$	$2,\!86\pm0,\!01~\mathrm{q}$	$82,42 \pm 0,20 \text{ b}$	$106,47 \pm 1,06 \text{ f}$	$19,37 \pm 0,80 \text{ f}$
SX 20	$34,14 \pm 1,05 \text{ a}$	$5,43 \pm 0,32a$	$0,\!80\pm0,\!02a$	$3,61 \pm 0,04 \text{ a}$	$114,67 \pm 5,48 \text{ c}$	$16,92 \pm 0,03 \text{ d}$	$1,99 \pm 0,01 \text{ v}$	$75,66 \pm 0,31 \text{ g}$	$104,89 \pm 1,08 \text{ f}$	$25,16 \pm 0,23$ a
SX 20	$34,14 \pm 1,05$ a	$5,43 \pm 0,32a$	$0,\!80\pm0,\!02a$	$3,61 \pm 0,04$ a	$114,67 \pm 5,48 \text{ c}$	$16,92 \pm 0,03 \text{ d}$	$1,99 \pm 0,01 \text{ v}$	$75,66 \pm 0,31 \text{ g}$	$104,89 \pm 1,08 \text{ f}$	$25,16 \pm 0,23$ a
SX 21	$30,40 \pm 1,90$ a	$5,63 \pm 0,24$ a	$0,80 \pm 0,02$ a	$3,54 \pm 0,03 \text{ b}$	$118,17 \pm 4,19 \text{ b}$	$10,23 \pm 0,03 \text{ k}$	$2,01\pm0,01$ u	$82,12 \pm 0,19 \ b$	$102,67 \pm 0,71 \text{ f}$	$17,29 \pm 0,31 \text{ g}$
SX 22	$22,33 \pm 5,69$ c	$4,87\pm0,38$ b	$0,78 \pm 1,35 \text{ b}$	$3,49 \pm 0,01 \text{ b}$	122,67 ± 11,69 a	$16,59 \pm 0,01 \text{ d}$	$5,48 \pm 0,01$ a	$73,06 \pm 0,38 i$	$102,97 \pm 1,82 \text{ f}$	$20,12 \pm 0,60$ e
SX 23	$31,52 \pm 0,26$ a	$5,67 \pm 0,12$ a	$0,\!78 \pm 0,\!01b$	$3,43 \pm 0,06$ c	$130,50 \pm 7,26$ a	$13,66 \pm 0,01 \text{ g}$	$4,\!47\pm0,\!01~\mathrm{f}$	$76,\!20 \pm 0,\!11~{ m f}$	$100,78 \pm 2,25 \text{ f}$	$18,18 \pm 0,78 \text{ g}$
SX 24	$31,89 \pm 0,86$ a	$5,60 \pm 0,20$ a	$0,77 \pm 0,01$ c	$3,51 \pm 0,11 \text{ b}$	$130,50 \pm 5,39$ a	$10,87 \pm 0,09 \text{ j}$	$2,98 \pm 0,01$ o	$80,49 \pm 0,13$ c	$101,52 \pm 2,03 \text{ f}$	$17,87 \pm 0,52 \text{ g}$
SX 25	$30,73 \pm 1,42$ a	$5,80 \pm 0,12 \text{ a}$	$0,77 \pm 0,01$ c	$3,43 \pm 0,02$ c	$115,83 \pm 3,33 \text{ b}$	$11,65 \pm 0,01 i$	$1,99 \pm 0,01 \text{ v}$	$80,\!57 \pm 0,\!36$ c	$104,59 \pm 3,61 \text{ f}$	$17,17 \pm 0,49 \text{ g}$
SX 26	$27,91 \pm 6,68 \text{ b}$	$5,40 \pm 0,36$ a	$0.80 \pm 0.01$ a	$3,46 \pm 0,03$ c	$117,17 \pm 10,77 \text{ b}$	$11,84 \pm 0,03 i$	$2,477 \pm 0,01r$	$80,28 \pm 0,45$ c	$102,57 \pm 6,52 \text{ f}$	$14,45 \pm 0,43 \text{ j}$
SX 27	$25,72 \pm 2,52 \text{ c}$	$5,77 \pm 0,46$ a	$0{,}78 \pm 0{,}01~b$	$3,42 \pm 0,03$ c	$125,67 \pm 6,60$ a	$11,99 \pm 0,01 i$	$2,99 \pm 0,01$ o	$79,26 \pm 0,50 \text{ d}$	$130,82 \pm 2,63 d$	$26,23 \pm 0,73$ a
SX 28	$29,89 \pm 0,69$ a	$5,43 \pm 0,49 \text{ a}$	$0,77 \pm 0,00 \text{ c}$	$3,40 \pm 0,02$ c	$124,33 \pm 6,79$ a	$10,89 \pm 0,03 \text{ j}$	2,99 ± 0,01 o	$80,69 \pm 0,26$ c	$128,30 \pm 1,92$ e	$17,68 \pm 0,49 \text{ g}$
SX 29	$29,89 \pm 0,69$ a	$5,03 \pm 0,25 \text{ b}$	$0.80 \pm 0.02$ a	$3,35 \pm 0,01 \ d$	$116,67 \pm 8,58 \text{ b}$	$11,90 \pm 0,01 i$	$4,49 \pm 0,01 \text{ f}$	$78,58 \pm 0,22$ e	$129,61 \pm 0,36 d$	$20,48 \pm 0,25$ e
SX 30	$29,09 \pm 0,99$ a	$5,53 \pm 0,21$ a	$0{,}78 \pm 0{,}01~b$	$3,48 \pm 0,13 \text{ b}$	$116,17 \pm 3,75 \text{ b}$	$13,05 \pm 0,00 \text{ h}$	$3,47 \pm 0,01 \text{ k}$	$77,94 \pm 0,47 i$	$130,28 \pm 2,60 \text{ d}$	$19,63 \pm 0,22 \text{ f}$
SX 31	$30,45 \pm 1,06$ a	$5,43 \pm 0,51$ a	$0.78 \pm 1.36  b$	$3,30 \pm 0,02 d$	$118,83 \pm 3,25 \text{ b}$	$21,17 \pm 0,01 \text{ b}$	$4,99 \pm 0,01 \text{ c}$	$68,\!40\pm0,\!50~\mathrm{k}$	$132,54 \pm 1,46 d$	$20,16 \pm 0,21$ e
SX 32	$30,84 \pm 1,26$ a	$5,37 \pm 0,31 \text{ b}$	$0,\!80\pm0,\!01a$	$3,35 \pm 0,02 d$	$112,83 \pm 2,89$ c	$21,21 \pm 0,01 \text{ b}$	$4,02 \pm 0,02$ g	$69,40 \pm 0,33 \text{ j}$	$132,84 \pm 0,10 d$	$25,52 \pm 0,43$ a
SX 33	31,24 ± 0,91 a	$5,17 \pm 0,65$ a	$0,76 \pm 0,01 \ d$	$3,31 \pm 0,04 d$	122,67 ± 11,69 a	$10,05 \pm 0,01 \text{ k}$	$4,02 \pm 0,01 \text{ g}$	$80,27 \pm 0,65$ c	$131,80 \pm 0,29 d$	25,55 ±0,05 a

"Tabela 2 - Continuação"

-	UMIDADE (%)	CINZAS (%)	ATIVIDADE DE ÁGUA (Aw)	рН	ACIDEZ TOTAL (mEq kg <sup>-1</sup> )	PROTEÍNA (%)	LIPÍDIOS (%)	CARBOIDRATO (%)	COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS (mg.EAGg <sup>-1</sup> )	FLAVONOIDES TOTAIS (mg.EAGg <sup>-1</sup> )
Legislação Brasileira (%)	30%	4%	-	4 a 6	Máx. de 300 mEq kg <sup>-</sup>	Min.8%	Min. 1,8%	-	-	-

TA- Tetragonisca angustula, SX- Scaptotrigona xanthothicha. Médias com mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O samburá que apresentou maior valor para atividade de água foi o da espécie *S. xanthotricha* (0,76 ± 0,01 a 0,80 ± 0,02 Aw) quando comparado com o samburá de *T. angustula* (0,71 ± 0,01 a 0,77 ± 0,01 Aw). Valores variando de 0,61 a 0,65 Aw ou superiores no produto, favorece o crescimento de micro-organismos, principalmente de fungos e leveduras (FRANCO; LANDGRAF, 2008), que são um dos precursores da fermentação no samburá. Porém, foi nulo o crescimento de micro-organismos patogênicos nessa faixa de atividade de água nesse estudo (artigo 2). O samburá também apresenta outras características intrínsecas, tais como, pH baixo e acidez livre elevada que podem inibir o crescimento de micro-organismos (ALVES et al., 2018). Em estudos avaliando o pólen armazenado por *Melipona* provenientes dos estados da Bahia e da Amazônia, Bárbara et al. (2015) e Rebelo et al. (2016), respectivamente, relataram valores semelhantes de atividade de água aos achados neste estudo.

O teor de cinzas apresentou valores variando de 4,10 a 5,80%, sendo que 63% das amostras ultrapassaram o valor máximo de 4% admissível pela legislação para o pólen apícola desidratado (BRASIL, 2001), que não contempla o pólen *in natura*. Elevados conteúdos de cinzas nas amostras podem estar relacionados com a característica nutricional da planta onde o pólen foi coletado e a presença de contaminantes inorgânicos, como sílica, terra, areia, fuligem de fumegado (ALMEIDA-MURADIAN; ARRUDA; BARRETO, 2012).

Conteúdos de cinzas têm sido observados por diversos autores no pólen coletado por abelhas, Bárbara et al. (2018) obtiveram  $4,40 \pm 0,33\%$ ; Feás et al. (2012)  $4,80 \pm 0,20\%$  e Nogueira et al, (2012)  $3,16 \pm 0,03\%$ , esses últimos em amostras de pólen apícola desidratado. Essa variação também pode ser influenciada pela capacidade da planta em acumular sais minerais e ainda pela origem geográfica, pelo tipo de solo e pelas espécies florais (CARPES et al., 2009; MARTINS et al., 2011).

Os lipídios são importantes na indústria de alimentos, uma vez que representam a fonte de energia na dieta humana, por serem compostos orgânicos insolúveis em água e atuarem como transportadores das vitaminas lipossolúveis (AYAZ, 2006). O pólen pode ser classificado como fonte potencial, tanto de lipídios quanto de proteína, pois em sua composição apresenta cerca de 20 g de proteínas totais e aproximadamente 6,5 g de lipídios (BARRETO et al., 2005).

Nesta pesquisa, os teores de lipídios encontrados no samburá para as espécies em estudo encontram-se dentro do permitido pela legislação vigente para pólen apícola

(mínimo de 1,8%) (BRASIL, 2001) exceto a amostra TA 06 (Tabela 2). Segundo a Regulamentação Francesa os valores permitidos são entre 1 a 10% (BOGDANOV, 2004). Segundo Marchini et al. (2006) a variabilidade que se pode encontrar nos valores desses parâmetros pode estar relacionada com necessidade diferenciada das abelhas por determinados componentes presentes no pólen, além das variações que podem ocorrer nas composições das plantas poliníferas.

Os valores obtidos no presente estudo foram próximos dos encontrados por Martins et al. (2011) para amostras de pólen apícola desidratado de vários estados brasileiros, como também por Pinto et al. (2012), Arruda et al. (2013) e Melo et al. (2009) em amostras de pólen apícola provenientes de São Paulo reportaram valores que oscilaram entre 5,39% a 4,97%.

O valor de proteína bruta ou total (%) das espécies permaneceram dentro das normas brasileiras para pólen apícola (mínimo de 8%) exceto a amostra TA 10. Vit et al. (2016) ao avaliarem o pólen armazenado por abelhas sem ferrão dos gêneros *Melipona* e *Scaptotrigona* apresentaram valores médios de (18,32  $\pm$  0,10%) e (16,80  $\pm$  0,21%), respectivamente. Melo et al. (2009) reportaram os valores médios de proteína bruta de 10,60 a 33,90% para as amostras de pólen apícola pólen do Brasil.

Como o conteúdo de proteína foi mais elevado que os valores de lipídios, o samburá apresenta potencial para uso como complemento alimentar, uma vez, que alimentos com baixos teores de gorduras e um elevado conteúdo de proteína ficam mais populares devido à preocupação dos consumidores com a saúde (BARRETO et al., 2012)

As proteínas são aminoácidos essenciais para o crescimento e desenvolvimento adequado dos tecidos, como também é fundamental para sua restauração eficaz (MODRO et al., 2009). No pólen as proteínas se encontram com um índice médio de 2,50 a 61,00%, sendo que uma grande parte está sob forma de aminoácidos livres (ROULSTON et al., 2002).

O pH do samburá para as espécies em estudo encontra-se variou 3,30 ± 0,02 a 3,64 ± 0,07. O permitido pela norma vigente para pólen apícola varia entre 4 a 6 (BRASIL. 2001). Os teores de pH no presente estudo corroboram com os encontrados por Rebelo et al. (2016) e Bárbara et al. (2015) ao avaliaram amostras de samburá coletados pela abelha do gênero *Melipona*, cujas médias foram de 3,34 e 3,49%, respectivamente.

A redução nos teores de pH ocorre processo da conversão do pólen floral coletado pelas abelhas em samburá. Essa caraterística é atribuída às atividades das bactérias, que

transformam os açúcares em ácido lático, por meio da fermentação lática. Essas bactérias são geralmente acrescentadas ao pólen, através do estômago e do mel das abelhas (VASQUEZ; OLOFSSON, 2009), tornando o samburá um alimento menos propício ao aparecimento de micro-organismos patogênicos.

O samburá possui um elevado teor de acidez devido às reações que ocorrem durante o processamento deste produto (ALVES et al., 2018) ou seja, trata-se de alimento naturalmente ácido, devido a presença dos ácidos glucônico e lático encontrados no produto final (KALAYCIOĞLU et al., 2017). O samburá do presente estudo encontra-se em conformidade com a legislação brasileira para pólen apícola.

Trabalhos avaliando a acidez do samburá foram realizados por Alves et al. (2018) onde, observaram valores entre 152,64 a 148,51 mEq kg<sup>-1</sup> para samburá de M. scutellaris. Bárbara et al. (2015) obtiveram valores de 146,00  $\pm$  10,00 mEq kg<sup>-1</sup> para o samburá de M. mandacaia da Bahia, Brasil, Martins et al. (2011) em estudo da composição físico-química do pólen de abelhas de onze Estados brasileiros verificaram uma média de 444,80  $\pm$  16,50 mEq kg<sup>-1</sup>.

Os valores de carboidrato são estatisticamente diferentes entre as amostras estudadas, ocorrendo variação de 66,11 ± 0,22 a 86,29 ± 0,13% entre as espécies avaliadas. Os resultados encontrados para esse paramento são estimáveis, considerando que apesar de não ser um parâmetro exigido pela legislação vigente para pólen apícola esse componente é importante para nutrição, pois se trata de uma relevante fonte de energia para o organismo.

Os carboidratos representam 2/3 do peso total do pólen (ESTEVINHO et al., 2012). Boa parte das frações que compõe o pólen são proveniente do néctar ou do mel que fazem parte do fluído que as abelhas usam para agregar os grãos de pólen (HUMAN; NICHOLSON, 2006).

Os teores de carboidratos obtidos neste estudo certificam com os de Bárbara et al. (2018) cujo os valores variaram de (57,30 a 74,80%), Modro et al. (2009) (50,91 a 76,79%) com pólen apícola fresco e superiores ao de Vit et al. (2016) com valor médio de 31,03% para *Scaptotrigona* cf. *ochrotricha*.

A deficiência na quantidade e qualidade do pólen podem prejudicar o desenvolvimento, manutenção e reprodução das colônias, provocando estresse e facilitando o aparecimento de doenças, além de afetar a capacidade das abelhas de

cuidarem das crias novas, reduzindo a vida das mesmas (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010).

As amostras avaliadas quanto aos compostos fenólicos totais e flavonoides totais demonstraram diferença entre as espécies *S. xanthotricha* e *T. angustula*. O samburá da *T. angustula* apresentou maior teor de fenólicos totais (122,74  $\pm$  2,38 a 214,15  $\pm$  7,58 mg EAGg<sup>-1</sup>) e flavonoides totais (8,40  $\pm$  0,34 a 25,81  $\pm$  1,37 mg EAGg<sup>-1</sup>), quando comparado com *S. xanthotricha* para os compostos fenólicos totais (100,78  $\pm$  2,25 a 136,14  $\pm$  2,77 mg EAGg<sup>-1</sup>) e para os flavonoides totais (14,45  $\pm$  0,43 a 26,23  $\pm$  0,73 mg EAGg<sup>-1</sup>).

Os compostos fenólicos quando encontrados dão funcionalidades aos alimentos. Eles são antioxidantes que possuem um importante papel na redução da oxidação lipídica, quando incorporados na alimentação humana. Além de auxiliar na conservação e qualidade dos alimentos (VIDAL et al., 2012). Segundo Rzepecka-Stojko et al. (2015) os polifenóis estão altamente correlacionados com os efeitos benefícios como: cardioprotetores, hepatoprotetores, anti-inflamatórios, antibacterianos, anticancerígenos, imunoestimulantes e antianêmicos. Além de demostrar a sua qualidade tanto nutricional quanto biológica devido à sua alta função antioxidante e anti-melanogênese (SUN et al., 2017).

Os flavonoides encontrados no pólen também são considerados compostos importantes para auxiliar na averiguação da origem floral do pólen coletado, podendo assim ser um parâmetro relevante como marcador de denominação de origem (ZHOU et al., 2015).

As concentrações de compostos fenólicos obtidos nesse estudo foram próximas ao de Freire et al. (2012) que obtiveram valores variando de 41,50 a 213,20 mg EAGg<sup>-1</sup> para os conteúdos fenólicos e flavonoides, em vinte e cinco amostras de pólen de abelha no município de Canavieiras-BA. Além disso, foram superiores aos relatados por Bárbara et al. (2015) em amostras de pólen de *M, mandacaia* e Carpes et al, (2007) em amostras de pólen de *A. mellifera* do Brasil.

As variações dos compostos fenólicos nos pólens analisados podem estar relacionadas à diferenciação que ocorre na composição química do pólen coletado pelas abelhas, assim como outros fatores podem estar ligados, tais como: qualidade da matéria-prima, variações sazonais (RASHEED et al., 2012).

# CONCLUSÃO

O samburá de *Scaptotrigona xanthothicha* e *Tetragonisca angustula* possui composição química distinta, ou seja, os resultados demostram que as características químicas e seus valores energéticos deferem entre as espécies de abelhas sociais sem ferrão, mesmo sendo manejadas em um mesmo bioma. A atual legislação brasileira aplicada para o pólen apícola não atende às características deste produto, o que confirma a necessidade de fixar padrões de identidade e qualidade do samburá das abelhas sociais sem ferrão.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; ARRUDA, V. A. S.; BARRETO, L. M. R. C. 2012. Manual de Controle de Qualidade do pólen apícola. APACAME, São Paulo.
- ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L. 2018. Pot-Pollen "Samburá" marketing in Brazil and suggested legislation. p.443. In: Vit, P,; Pedro, S.R..M.; Roubik, D, (eds,), Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology, New York: Springer.
- ALVES, R. M. O; SODRÉ, G. S.; CARVALHO, C. A. L. 2018. Chemical, Microbiological, and Palynological Composition of the 'Samburá' *Melipona scutellaris*. p.360. In: Vit, P.; Pedro. S.R.M.; Roubik, D. (eds.) Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology, New York: Springer.
- ANDERSON, K. E. CARROLL, M. J.; SHEEHAN, T.; MOTT, B. M.; MAES, P.; CORBY-HARRIS, V. 2014. Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. Molecular ecology 23:5904 5917.
- AOAC Official Method of Analysis. 1990. edition, Washington, DC, aspects, chemistry, microbiology, technology, Utrecht: ECCEAMST.
- ARRUDA, V. A. S.; PEREIRA, A. A. S.; ESTEVINHO, L. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. 2013. Presence and stability of B complex vitamins in bee pollen using different storage conditions, Food and chemical toxicology 51:143-148.
- AYAZ, A. 2006. Nutrient contents of kale (*Brassica oleraceae* L var, *acephala* DC.).Food Chemistry 96:572-579.
- BÁRBARA, M, F. S.; MACHADO C, S.; SODRÉ G. S.; SILVA F. L.; CARVALHO C. A. L. 2018. Microbiological and physicochemical characterization of the pollen stored by stingless bees. Brazilian Journal Food Technology 21:1-2.
- BÁRBARA, M. F. S.; MACHADO C. S.; SODRÉ G. S.; DIAS, L. G.; ESTEVINHO, L. M.; CARVALHO, C. A. L. 2015. Microbiological Assessment, Nutritional Characterization and Phenolic Compounds of Bee Pollen from *Mellipona* mandacaia Smith, 1983. Molecules 20:12525-12544.
- BARRETO, L. M. R. C.; NORDI, J. C.; DIB, A. P. D. S.; CÉSAR, V. S.; ALVARELI, L. G.; NORDI, N. T.; CANELLA, J. B. 2012. Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba-SP. Revista Biocienc 18:64-70.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. 2005. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. Boletim da Indústria Animal 62:167-175.
- BOGDANOV, S. 2004. Quality and standards of pollen and Beeswax. Apiacta 38:334-341.

- BRASIL. Instrução Normativa n°3, de 19 de janeiro de 2001. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, 23 jan, 2001. Seção 1, p,18.
- BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. 2010. Nutrition and health in honey bees, Apidologie 1:278-294.
- CAMPOS, M. G. R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIGERIO, C.; FERREIRA, F. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research 47:156-163.
- CARPES, S. T.; CABRAL, I.S.; LUZ, C. F. P.; CAPELETTI, J. P.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. 2009. Palynological and physicochemical characterization of *Apis mellifera* L, bee pollen in the Southern region of Brazil. Journal of Food Agriculture and Environment 7:667-673.
- CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidantand antibacterial activity. Ciência Agrotecnologiav 31:1818-25.
- ESTEVINHO, L. M.; RODRIGUES S.; PEREIRA, A. P.; FEÁS, X. 2012. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. International Journal of Food Science and Technology 47:429-435.
- FEÁS, X.; VAZQUEZ-TATO, M. P.; ESTEVINHO, G.; SEIJAS, J. A.; IGLESIAS, U.2012. Organic bee pollen: bioactive compounds, antioxidante activity and microbiological quality. Molecules 7: 8359-8377.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. 2012. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu.
- FREIRE, K. R. L.; LINS, A. C. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. 2012. Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honeybee-collected pollen from Bahia, Brazil. Molecules 17:1652-1664.
- HUMAN, H.; NICHOLSON, S. W. 2006. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of Alloe greatheadii var, davyana (Asphodelaceae). Phytochemistry 67:486-1492.
- IAL. 2008. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. p.2017. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- KALAYCIOĞLU, Z.; KAYGUSUZ, H.; DÖKER, S.; KOLAYLI, S.; ERIM, F.B. 2017. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities. LWT-Food Science and Technology 84:402-408.
- KOSTIĆ, A. Ž.; PEŠIĆ, M. B.; MOSIĆ, M. D.; DOJČINOVIĆ, B. P.; NATIĆ, M. M..; TRIFKOVIĆ, J. Đ. 2015. Mineral content of bee pollen from Serbia. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology 66:251-258.

- MAIA-ARAUJO, Y. L. F.; L. S. MENDONÇA, L. S.; ORELLANA, S. C.; ORELLANA, E. D.2011. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. Scientia Plena 7: 1-4.
- MARCHINI, L. C.; REIS, V. D. A.; MORETI, A. C. C. C. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, São Paulo. Ciência Rural 36:949-953.
- MARTINS, M. C.; MORGANO, M. A.; VICENTE, E.; BAGGIO, S. R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 2011. Physicochemical composition of bee pollen from eleven Brazilian states. Journal of Apicultural Science 55:107-116.
- MELO, I. L. P.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. 2009. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. Revista do Instituto Adolfo Lutz 58:346-353.
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, F. A. F. L.; VENTURIERI, G. C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 2013. The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. p.153-171. In: Vit, P, Pedro, S,M,, Roubik, D,W, (eds,) Pot-honey: a legacy of stingless bees. Springer: New York.
- MODRO, A. F. H.; SILVAII, I. C.; LUZIII, C. F. P.; MESSAGEIL, D. 2009. Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source, Brazilian. Academy of Sciences 81:281-285.
- NICOLSON, S. W. NEVES, S. S.; HUMAN, H.; PIRK, C. W.W. 2017. Digestibility and nutritional value of fresh and stored pollen for honey bees (*Apis mellifera scutellata*). Journal of Insect Physiology 107:302 -308.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1997. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão, São Paulo: Editora Nogueirapis.
- NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L. M. 2012. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. International Journal of Molecular Science 13: 11173-11187.
- PALAZUELOS BALLIVIAN, J.M.P. 2008. Abelhas nativas sem ferrão. São Leopoldo: Oikos.
- PINTO, F. A.; CAMPOS, C. N.; BARRETO, L. M. R. C. 2012. Perfil físico-químico do pólen apícola produzido em Taubaté, Vale do Paraíba, sudeste do Brasil. Archivos Latino americanos de Producción Animal 20:1-6.
- RASHEED, N. M.; NAGAIAH, K.; GOUD, P. R.; SHARMA, V. U. M. 2012. Chemical marker compounds and their essential role in quality control of herbal medicines. Annals of Phytomedicine 1:1-8.
- REBELO, K, S.; FERREIRA, A. G.; CARVALHO-ZILSE, G. A. 2016. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees, Ciência Rural 46:927-932.

- ROULSTON, T. H.; CANE, J. H. 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee lasioglos sumzephyrum (Hymenoptera: Apiformes). Evolution and Ecology 16:49-65.
- RZEPECKA-STOJKO, A. STOJKO, J.; KUREK-GÓRECKA, A.; GÓRECKI, M.; KABAŁA-DZIK, A.; KUBINA, O. R.; MOŹDZIERZ, M.; BUSZMAN, E. 2015. Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. Molecules 20:21732-21749.
- SOUZA R. C. S.; YUYAMA L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA, F. P. M. 2004. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. Acta Amazônica 34:333-336.
- SUN, L.; GUO, Y.; ZHANG, Y.; ZHUANG, Y. 2017. Antioxidant and anti-tyrosinase activities of phenolic extracts from rape bee pollen and inhibitory melanogenesis by cAMP/MITF/TYR pathway in B16 mouse melanoma cells. Frontiers in Pharmacology 8:104.
- VASQUEZ, A.; OLOFSSON, T. C. 2009. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. Journal of Apicultural Research 48:189-195.
- VIDAL, A. M.; DIAS, B. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M. S.; CORREIA, M. G. S. 2012. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. Cadernos de Graduação Ciências Biológicas e da Saúde 15:43-52.
- VIT, P.; SANTIAGO, B.; PEDRO, S. R.; PEREZ-PEREZ, E.; PENA-VERA, M. 2016. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by *Melipona* and *Scaptotrigona* stingless bees from Paria Grande, Amazonas State, Venezuela. Emirates Journal of Food and Agriculture 28:78-84.
- YANG, K. W. U.D.; YE, X.; LIU, D.; CHEN, J.; SUN, P. 2013. Characterization of chemical composition of bee pollen in China. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61:708-718.
- ZENEBON, O.; TIGLEA, N. S. P. P. 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, Brasil.
- ZHOU, J.; QI, Y.; RITHO, J.; ZHANG, Y.; ZHENG, X.; WU, L.; SUN, L.2015. Flavonoid glycosides as floral origin markers to discriminate of unifloral bee pollen by LC–MS/MS. Food Control 57:54-61.

## CAPÍTULO 2 - ARTIGO 2

Artigo a ser submetido ao Periódico Revista Brasileira de Zootecnia, Qualis B1, na área de Zootecnia/Recursos pesqueiros.

# "SAMBURÁ" DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SOCIAIS MANEJADAS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA: CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLOGICA <sup>2</sup>

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do samburá de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma Mata Atlântica. Um total de 33 amostras de samburá de Scaptotrigona xanthotricha (n = 19) e Tetragonisca angustula (n = 14) foi coletado no meliponário localizado em Vera Cruz, Bahia, Brasil. Para as análises microbiológica foram utilizados os seguintes parâmetros: quantificação de aeróbios mesófilos e psicrotróficos (UFC g<sup>-1</sup>), coliformes 35°C e 45°C (UFC g<sup>-1</sup>), bolores e leveduras (UFC g<sup>-1</sup>), esporos de *Clostridium* sulfito redutores (UFC g<sup>-1</sup>), *Sthapylococcus* coagulase positiva (UFC g<sup>-1</sup>) e Salmonella spp., (presença ou ausência em 25g da amostra). Não foram encontrados nas amostras micro-organismos indicadores da qualidade de segurança (esporos de Clostridium sulfito redutores e Salmonella spp.) e indicadores da qualidade sanitária (coliformes a 45°C e esporos de Staphylococcus coagulase positiva). Houve contagem de coliformes a 35°C em duas amostras de samburá. Os bolores e leveduras estiveram presentes em 9% das amostras, enquanto os aeróbios mesófilos estiveram presente em 45% das amostras analisadas. Contudo, nenhuma das amostras apresentaram bactérias psicrotróficas (<10 UFC g<sup>-1</sup>). A ausência de contagem de micro-organismos patogênicos nas amostras de samburá das espécies classifica este produto da meliponicultura como alimento em condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo humano. Essa condição confirma a necessidade de adequação da atual legislação que regulamenta os padrões de qualidade para o pólen apícola, de forma a contemplar o samburá das abelhas sem ferrão.

Palavras chave: fermentação lática, micro-organismo, qualidade, *Scaptotrigona* xanthotricha, *Tetragonisca angustula* 

# "SAMBURÁ" OF TWO SPECIES OF SOCIAL BEES MANAGED IN THE IN THE ATLANTIC FLOREST BIOME: MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION

**ABSTRACT:** The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of "samburá" of two species of social bees managed in the Atlantic Forest biome. We collected 33 samples of Scaptotrigona xanthotricha samburá (n = 19) and Tetragonisca angustula (n = 14) in meliponaries in Vera Cruz, Bahia, Brazil. The following parameters were used for the microbiological analysis: quantification of mesophilic and psychrotrophic aerobes (UFC g<sup>-1</sup>), coliforms 35°C and 45°C (UFC g<sup>-1</sup>), molds and yeasts (UFC g<sup>-1</sup>), reducing spores of *Clostridium* sulphite (UFC g<sup>-1</sup>), *Sthapylococcus* coagulase positive (UFC g<sup>-1)</sup> and Salmonella spp, (presence or absence in 25g of the sample). No microorganisms were found in the samples indicating safety quality (Clostridium sulphite reducing spores and Salmonella spp.) and sanitary quality indicators (coliforms at 45°C and Staphylococcus coagulase positive spores). There were coliform counts at 35°C in two samples of "samburá". The molds and yeasts were present in 9% of the samples, while the mesophilic aerobes were present in 45% of the analyzed samples. However, none of the samples had psychrotrophic bacteria (<10 CFU g<sup>-1</sup>). The absence of count of pathogenic microorganisms in "samburá" samples of species classifies this product of the meliponiculture as food under hygienic-sanitary conditions suitable for human consumption. This condition confirms the need to adapt the current legislation that regulates quality standards for bee pollen in order to contemplate the "samburá" of stingless bees.

Keywords: lactic fermentation, microorganism, quality, *Scaptotrigona xanthotricha*, *Tetragonisca angustula* 

# INTRODUÇÃO

A preocupação dos consumidores com a saúde (BARRETO et al., 2012) tem provocado uma expansão no consumo de produtos naturais e de boa qualidade (ANDRADE e BERTOLDI, 2012). Nessa lógica, os produtos produzidos pelas abelhas tem sido uma alternativa viável, uma vez que são eficientes para combater infecções e fortalecer o sistema imunológico do ser humano (CAN et al., 2015). Dentre esses produtos, o pólen coletado por abelhas apresenta grande potencial devido às suas propriedades nutricionais e fisiológicas (KROYER e HEGEDUS, 2001).

O pólen de abelha compreende no conjunto de vários grãos de pólen recolhidos de diferentes fontes botânicas, que se combinam ao néctar e/ou mel, e também às secreções salivares (CARPES et al., 2009). Possui em sua composição carboidratos, lipídios, sais minerais, proteína (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005), além de possuir todos os aminoácidos essenciais para o homem (ESTEVINHO et al., 2012). Devido à sua composição rica em nutrientes, diferentes estudos têm sido direcionados visando a sua caracterização química e biológica (VIT et al., 2016; REBELO et al., 2016). Contudo, o pólen armazenado por abelhas sem ferrão, denominado por samburá, ainda é pouco conhecido, apesar do seu potencial nutricional e econômico (ALVES et al., 2018; ALVES e CARVALHO, 2018).

Os parâmetros mais importantes que determinam a qualidade de um alimento estão relacionados às características microbiológicas (SOUZA et al., 2011; FRANCO e LANDGRAF, 2008). Se tratando de segurança alimentar, a qualidade microbiana é uma exigência necessária para saúde do consumidor, pois ela pode alterar as propriedades do produto, constituindo um risco a saúde. Nos alimentos essa análise permite avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e quanto ao risco à saúde da população (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Entretanto, existem poucas informações relacionadas qualidade microbiológica do pólen coletado pelas abelhas (ESTEVINHO et al., 2012; HANI et al., 2012) e mais ainda sobre o samburá (BÁRBARA et al., 2015; 2018). Não há uma legislação brasileira para os parâmetros microbiológicos desse produto, sendo que essa falta de padronização pode estar relacionada à ausência de diagnósticos que atestem a necessidade destes padrões, seja em amostras *in natura* ou desidratadas (BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005).

Contudo, existe uma legislação cubana que inclui o pólen apícola no grupo dos alimentos de origem vegetal, que estabelece ausência para *Salmonella* spp, e *Escherichia coli*, limites para aeróbios mesofilos <10<sup>4</sup>, bolores e leveduras < 10<sup>2</sup> coliformes totais, <10<sup>3</sup> (PUIG-PEÑA et al., 2012). Além disso, a legislação Argentina estabelece limite máximo de 1,5x10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> para aeróbios mesófilos, máximo de 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> para bolores e leveduras e ausência de micro-organismos patogênicos (ARGENTINA, 1990).

Como as informações disponíveis para o samburá das espécies de abelhas sem ferrão ainda são escassas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do samburá de duas espécies de abelhas sociais manejadas no bioma Mata Atlântica, contribuindo com informações sobre esse produto da meliponicultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

#### Locais de coleta das amostras

O experimento foi conduzido em um único meliponário localizado no município de Vera Cruz, Bahia, Brasil (12° 57' 16" S /38° 36' 16" W), cuja a região é caracterizada por uma diversidade de florada, por estar localizada em uma área litorânea e cercado por coqueiros (Arecacea). As colônias de *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* foram mantidas em sistema de criação de caixas de madeira para facilitar o manejo, separadas entre si por aproximadamente 1 metro em local sombreado (Figura 1A).

As amostras de samburá foram coletadas de acordo a disponibilidade de pólen das colônias previamente sorteadas, totalizando 33 amostras contendo aproximadamente 90 g por amostra, sendo 19 amostras de *S. xanthotricha* (Figura 1B) e 14 de *T. angustula* (Figura 1C). As coletas ocorreram durante o principal período de produção na região, compreendido entre outubro/2017 e janeiro/2018. Para a extração do pólen foi utilizado instrumentos de plásticos higienizados como colheres, facas e espátulas.



Figura 1, Coleta de samburá em colônia de duas espécies de abelhas sociais no munícipio de Vera Cruz, Brasil. A: colônias instaladas em caixas de madeira; B: aspecto do ninho de *Scaptotrigona xanthotricha*; C: aspecto do ninho de *Tetragonisca angustula*; D: pote de pólen (samburá).

#### Preparação das amostras

A preparação das amostras foi efetuada de acordo com a metodologia proposta pelo "Bacteriological Analytical Manual" – BAM, descrita por Silva et al. (2010). Para cada amostra foi pesado 5 g de samburá e homogeneizadas em 45 mL de água peptonada a 0,1%, correspondendo à diluição  $10^{-1}$ , a partir dessa diluição foi realizada as demais diluições decimais até  $10^{-3}$  em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%. Após a preparação das amostras e das diluições, procedeu-se à inoculação em meios de cultura apropriados para cada micro-organismo em estudo. Os resultados das análises foram quantificados por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC g<sup>-1</sup>).

## Contagem total dos aeróbios mesófilos e psicrotróficos

Para a contagem total dos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foi utilizada a metodologia de Silva et al (2010). As diluições utilizadas foram de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup>, onde 1,0 mL de cada diluição foram inoculadas e procedeu-se à semeadura por profundidade em placas contendo meio de cultura Plate Count Agar (PCA). Depois de homogeneizadas e solidificadas o ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas em 35°C por 48 h para a contagem dos aeróbios mesófilos. Os mesmos procedimentos foram utilizados para a contagem dos aeróbios psicrotróficos, pórem à semeadura por superfície e a incubação realizada em 7°C por 10 dias.

#### Contagem dos coliformes a 35°C e 45°C

A quantificação de coliformes a 35°C e 45°C foi realizada através de Kit CEC-CI SimPlate (AOAC® Official Method 1990) (BioControl Sistema, Bellevue, Washington, EUA), seguindo as instruções do fabricante. O meio fornecido foi hidratado em 9 mL de água destilada e adicionado uma alíquota de 1 mL da amostra de modo a obter um volume final de 10 mL. Posteriormente foi adicionado no centro das placas, em movimentos circulares para que os 84 poços ficassem cobertos e sem bolhas de ar. As placas foram incubadas a 35°C durante 24-48h. Após incubação, a contagem de coliformes foi efetuada contabilizando como resultados positivos os poços com alteração da cor inicial do meio de cultura. A contagem dos coliformes a 45°C foi realizada contando como positivos os poços onde se verificava mudança de cor e fluorescência. Os resultados foram determinados com base na quantidade de poços positivos correlacionadas com as instruções do fabricante.

## Contagem de Bolores e Leveduras

A contagem de bolores e de leveduras foi realizada segundo a métodologia descrita por Silva et al. (2010). Procedeu-se à semeadura por superfície de 0,1 mL de cada uma das diluições, em placas de Petri com meio de cultura Agar Dicolaran Glicerol 18 (DG18). Após incubação durante 5 dias a 25°C efetuou contagem das colônias.

#### Pesquisa de Salmonella spp.

A avaliação da presença ou ausência da *Salmonella* spp. foi determinada seguindo a técnica de imunodifusão 1-2 test® (AOAC® Método Oficial 989,13), segundo as recomendações do fabricante. A presença do micro-organismo foi verificada pela presença de uma imunobanda que é característica de imobilização de células. Os resultados foram expressos em presença ou ausência em 25g da amostra de samburá.

#### Esporos de Clostridium sulfito redutores

Os esporos de *Clostridium* sulfito-redutores foram analisados de acordo com o método descrito por Silva et al. (2010). Adicionou-se 1 mL de cada diluição decimal, 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup> das amostras, sendo distribuídas em placas de Petri com meio de cultura Agar sulfito de ferro, em seguida as placas foram colocadas sem inverter nas jarras de anaerobiose. As placas foram incubadas à 37°C durante 24 à 48 horas. A presença desses micro-organismos foi verificada por meio de colônias pretas típicas.

# Sthapylococcus coagulase positiva

A pesquisa de *Sthapylococcus* coagulase positiva foi realizada através de Kit Placas Petrifilm<sup>TM</sup> EC (3M Company, St, Paul, MN, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Foram inoculadas alíquotas de 1,0 mL da amostra no centro das placas Petrifilm. Após incubação das placas a 35°C por 24 a 48 h, as colônias vermelhas identificadas, foram consideradas positivas. Os resultados foram quantificados por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC g<sup>-1</sup>).

Como não há uma legislação sobre a qualidade microbiológica para o samburá, buscou-se neste estudo comparar os resultados alcançados com os padrões de controle recomendados tanto pela legislação brasileira de alimentos (BRASIL, 2001) como pelo código alimentar Argentino (ARGENTINA, 1990).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O samburá de *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* mostrou ser um produto seguro frente aos micro-organismos patogênicos (Tabela 1), pois permaneceu dentro dos padrões de controle recomendados tanto pela legislação brasileira de alimentos (BRASIL, 2001) como pelo código alimentar Argentino (ARGENTINA, 1990).

Não foram encontrados nas amostras micro-organismos indicadores da qualidade de segurança (esporos de *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* spp.) e indicadores da qualidade sanitária (coliformes a 45°C e esporos de *Staphylococcus* coagulase positiva). Segundo, Yoshiyama e Kimura 2009 os micro-organismos presente na flora do samburá além de ser responsáveis pela aparente digestão do alimento também secretam antibiótico. Tornando o ambiente livre de micro-organismos patógenos. Resultados semelhantes foram observados por Bárbara et al. (2018) e Alves et al. (2018) em samburá de outras espécies de abelhas sem ferrão.

Do ponto de vista microbiológico a ausência desses micro-organismos é uma característica positiva no produto, pois a maioria deles são produtores de toxinas, que causam infecções e danos ao consumidor (FORSYTHE, 2013).

O consumo de alimentos contendo esporos de *C, botulinum* é extremamente perigoso, pois pode provocar uma doença denominada botulismo. Essa doença acomete principalmente crianças com idade inferior a um ano, por não apresentar uma desenvolvida microbiota intestinal, podendo ocasionar a morte (CABALLERO et al., 2016).

A ausência *de Salmonella* spp. no samburá é um outro ponto positivo, pois é o principal micro-organismo causador de doenças de origem alimentar (toxinfecções) entre humanos (PUCCIARELLI et al., 2014) e é exigido pela legislação que esteja ausente em 25g em todos os alimentos (BRASIL, 2001). Dessa forma atende aos critérios, o que o torna seguro para o consumo humano.

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas das amostras de samburá das espécies de abelhas sociais sem ferrão *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* manejadas no bioma de Mata Atlântica.

Amostras	Bolores e Leveduras (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Mesófilos (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Psicrotróficos (UFC g <sup>-1</sup> )	Clostidrium Sulfito Redutor (UFC g <sup>-1</sup> )	Coliformes 35°C e 45°C (UFC g <sup>-1</sup> )	Staphylococcus coagulase positivo (UFC g <sup>-1</sup> )	Salmonella spp. (presença ou ausência em 25g)
SX 01	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 02	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 03	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 04	$5,00 \times 10^3$	$6,40x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 05	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 06	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 07	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 08	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 09	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 10	<10	$7,50 \times 10^2$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 11	<10	$1,15 \times 10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 12	<10	$2,90x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 13	<10	$1,00x10^3$	ausente	ausente	$1,8x10^2$	ausente	ausente
SX 14	<10	$6,60x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas das amostras de samburá das espécies de abelhas sociais sem ferrão *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* manejadas no bioma de Mata Atlântica.

"Continuação"

Amostras	Bolores e Leveduras (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Mesófilos (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Psicrotróficos (UFC g <sup>-1</sup> )	Clostidrium Sulfito Redutor (UFC g <sup>-1</sup> )	Coliformes 35°C e 45°C (UFC g <sup>-1</sup> )	Staphylococcus coagulase positivo (UFC g <sup>-1</sup> )	Salmonella spp. (presença ou ausência em 25g)
SX 15	<10	$2,05 \times 10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 16	<10	$1,00 \times 10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 17	<10	$7,50 \times 10^2$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 18	<10	$1,95 \times 10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
SX 19	<10	$1,15 \times 10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 01	$1,00 \times 10^2$	$3,90x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 02	$5,90x10^3$	$1,40x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 03	<10	$1,10x10^3$	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 04	<10	$2,15 \times 10^3$	ausente	ausente	$2,5x10^{1}$	ausente	ausente
TA 05	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 06	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 07	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 08	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas das amostras de samburá das espécies de abelhas sociais sem ferrão *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* manejadas no bioma de Mata Atlântica.

"Continuação"

Amostras	Bolores e Leveduras (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Mesófilos (UFC g <sup>-1</sup> )	Aeróbios Psicrotróficos (UFC g <sup>-1</sup> )	Clostidrium Sulfito Redutor (UFC g <sup>-1</sup> )	Coliformes 35°C e 45°C (UFC g <sup>-1</sup> )	Staphylococcus coagulase positivo (UFC g <sup>-1</sup> )	Salmonella spp. (presença ou ausência em 25g)
TA 09	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 10	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 11	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 12	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 13	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 14	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 10	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<i>TA</i> 11	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 12	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 13	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
TA 14	<10	<10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

TA- Tetragonisca angustula, SX- Scaptotrigona xanthothicha.

Os coliformes a 35°C foram encontrados em duas amostras de samburá, sendo uma de S, *xanthotricha*  $(1,8 \times 10^2 \text{ UFC g}^{-1})$  e outra de *T. angustula*  $(2,5 \times 10^1 \text{ UFC g}^{-1})$ . Apesar de serem encontrados nas amostras de samburá, essa contagem encontra-se dentro do estabelecido pelo código alimentar Argentino (ARGENTINA, 1990), que estabelece  $<10^5 \text{ UFC g}^{-1}$  para o pólen apícola (produzido pela espécie *Apis mellifera*). Os trabalhos desenvolvidos por Arruda et al. (2017), De Melo et al. (2015), Puig-Peña et al. (2012) descreveram a presença dos coliformes a 35°C em pólen de abelha de <10 a  $10^4$  UFC g $^{-1}$ , <10 a  $2,80 \times 10^3$  UFC g $^{-1}$  e  $>10^4$  UFC g $^{-1}$ , respectivamente.

A quantificação de coliformes nos alimentos pode ser um indicativo de contaminação ou das condições higiênico-sanitárias insatisfatórias (NEVES et al., 2015). No grupo dos coliformes a 45°C destaca-se a *Escherichia coli* conhecida como a mais importante por ser um indicativo de contaminação fecal (SILVA et al., 2010). Esses micro-organismos ao entrar em contato com alimento ocasiona uma deterioração e podem acarretar problemas gastrointestinais ou mesmo infecção alimentar (PATEL et al., 2014).

Os valores obtidos para contagem dos aeróbios mesófilos oscilaram de <10 a 7,50 x 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> para o samburá de *S. xanthotricha* e de <10 a 3,90 x 10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup> para o samburá de *T. angustula*. Estes valores, ligeiramente elevados, podem estar relacionados com o elevado valor de umidade observado nas amostras analisadas (artigo 1) e por ser um alimento fermentado. Porém, nenhuma das amostras analisadas houve presença dos aeróbios psicrotróficos (<10 UFC/g).

Resultados semelhantes foram relatados por Barbara et al. (2018) em estudo da caraterização microbiológica e físico-química do samburá por outra espécie de abelhas sem ferrão. Esses autores observaram a presença em todas as amostras das bactérias aeróbias mesófilas, variando de 1,8x10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> para o samburá de *Melipona scutellaris* a 8,5x10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> para *Scaptotrigona* sp. Eles também não registraram a presença dos aeróbios psicrotróficos. Contudo, Almeida-Muradian et al. (2012) avaliando pólen apícola encontraram valores que oscilaram de 9,5 x 10 a 1,48 x 10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> para aeróbios mesófilos, sendo que todas as amostras avaliadas estavam isentas dos aeróbios psicrotróficos.

Embora ocorra contagem as bactérias aeróbias mesófilas no samburá, a presença desses micro-organismos não está relacionada ao risco para a saúde dos consumidores, uma vez que essas bactérias não apresentam relação com toxinas ou associações patogénicas (SOUZA et al., 2012). Pressupõe-se que esses alimentos (samburá) não

suporte um período prolongado de armazenamento *in natura*, deste modo ocasionando prejuízo econômico (BARBARA et al., 2018).

Os bolores e leveduras estiveram presente em 9% das amostras analisadas, ultrapassando o valor máximo de 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> estabelecido pelo Código Alimentar Argentino (ARGENTINA, 1990). No entanto, Arruda et al. (2017), Estevinho et al. (2012) e Nogueira et al. (2012) encontraram esses micro-organismos em 60% dos pólens de abelhas analisadas. Os bolores e leveduras são conhecidos e importantes em colônias de abelhas sem ferrão, sua importância é semelhante às funções das baterias no samburá, elas secretam enzimas que ajudam a preservá-los bem como a converter substancias de alimentos reservados (MENEZES et al., 2013).

Grande parte dos micro-organismos requerem água, nutrientes, temperatura adequada e níveis de pH para o seu crescimento (RAHMAN, 2003), porém o baixo teor de pH no samburá, ocorre devido a fermentação lática que através da ação de enzimas salivares da abelha reflete-se num grau de acidez mais acentuado. Esta acidez confere ao samburá um ambiente de auto conservação que inibe o crescimento de bolores e de outros micro-organismos (NAGAI et al., 2004).

# CONCLUSÃO

O samburá de *Scaptotrigona xanthotricha* e *Tetragonisca angustula* apresentou condições microbiológicas adequadas, uma vez que se encontraram isentas de contaminação por micro-organismos patogênicos. Do ponto de vista microbiológico, o samburá ser um produto seguro para o consumo humano.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-MURADIAN L. B.; ARRUDA, V. A. S.; BARRETO, L. M. R. C. 2012. Manual de Controle de Qualidade do pólen apícola. São Paulo: APACAME.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis, São Diego 18:105-111.
- ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L. 2018. Pot-Pollen "Samburá" marketing in Brazil and suggested legislation. p.435-443. In: Vit, P.; Pedro, S.R.M.; Roubik, D. (eds.). Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology. New York: Springer.
- ALVES, R. M. O; SODRÉ, G. S.; CARVALHO, C. A. L. 2018. Chemical, Microbiological, and Palynological Composition of the 'Samburá' *Melipona scutellaris*. p.349-360. In: Vit, P.; Pedro, S.R.M.; Roubik, D. (eds.) Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology New York: Springer.
- ANDRADE, L. M. S.; BERTOLDI, M. C. 2012. Atitudes e motivações em relação ao consumo de alimentos orgânicos em Belo Horizonte MG. Brazilian Journal Food Technology, Campinas. 15:31-40.
- AOAC Official Method of Analysis. 1990. edition, Washington, DC, aspects, chemistry, microbiology, technology, Utrecht: ECCEAMST.
- ARGENTINA. 1990. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnologia Médica. Alimentos. Código Alimentario Argentino. (Capítulo X: Alimentos Azucarados: Artículo 785 Resolucion 1550.
- ARRUDA, V. A. S.; SAMPAIO, F. D. S.; ARAÚJO, S. E. S.; PEIXOTO, L. A. P.; ESTEVINHO, M. L.; DE-MELO, A. A. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. 2017. Microbiological quality and physicochemical characterization of Brazilian bee pollen. Journal of Apicultural Research 10:02-16.
- BÁRBARA, M. F. S.; MACHADO C. S.; SODRÉ G. S.; DIAS, L. G.; ESTEVINHO, L. M.; CARVALHO, C. A. L. 2015. Microbiological Assessment, Nutritional Characterization and Phenolic Compounds of Bee Pollen from Mellipona mandacaia Smith, 1983. Molecules 20:12525-12544.
- BÁRBARA, M. F. S.; MACHADO C. S.; SODRÉ G. S.; SILVA F. L.; CARVALHO C. A. L. 2018. Microbiological and physicochemical characterization of the pollen stored by stingless bees. Brazilian Journal Food Technology 21:1-2.
- BARRETO, L. M. R. C.; NORDI, J. C.; DIB, A. P. D. S.; CÉSAR, V. S.; ALVARELI, L. G.; NORDI, N. T.; CANELLA, J. B. 2012. Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba-SP. Revista Biociências 18:64-70.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. 2005. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. Boletim da Indústria Animal 62:167-175.

- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA ANVISA. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.
- CABALLERO, P.; TRONCOSO, M.; PATTERSON, S. I.; LÓPEZ-GÓMEZ, R.; FERNANDEZ, C. R.; SOSA, M. A. 2016. Neurotoxins from *Clostridium* botulinum (serotype A) isolated from the soil of Mendoza (Argentina) differ from the A-Hall archetype and from that causing infant botulism. Toxicon 121:30-35.
- CAN, Z.; OKTAY, Y.; SAHIN, H.; TURUMTAY, E. A.; SILICI, S.; KOLAYLI, S. 2015. An investigation of Turkish honeys: Their physic-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chemistry 180:133-141.
- CARPES, S. T.; CABRAL, I.S.; LUZ, C. F. P.; CAPELETTI, J. P.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. 2009. Palynological and physicochemical characterization of Apis mellifera L, bee pollen in the Southern region of Brazil. Journal of Food Agriculture and Environment 7:667-673.
- DE-MELO, A. A. M.; ESTEVINHO, M. L.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. 2015. A diagnosis of the microbiological quality of dehydrated bee-pollen produced in Brazil. Letters in Applied Microbiology 61:477-483.
- ESTEVINHO, M. L.; RODRIGUES, S.; PEREIRA, A. P.; FEÁS, X. 2012. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. International Journal of Food Science and Technology 47:429-435.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. 2008. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu.
- FORSYTHE, S. J. 2013. Microbiologia da segurança dos alimentos. Porto Alegre: Artmed.
- HANI, B.; DALILA, B.; SALIHA, D.; DAOUND, H.; MOULOUND, G.; SEDDIK, K. 2012. Microbiological sanitary aspects of pollen. Advances in Environmental Biology 6:1415-1420.
- KROYER, G.; HEGEDUS, N. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Amsterdam 2:171-174.
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, F.A.F.L.; VENTURIERI, G. C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 2013. Pot-honey: a legacy of stingless bees. p.153-171. The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. Vit, P.; Pedro, S.R.M.; Roubik, D., New York: Springer.
- NAGAI, T.; NAGASHIMI, T.; MYODE, T.; INOUE, R. 2004. Preparation and functional properties of extracts from bee bread. Nahung / Food 3:226-229.
- NEVES, A. P. M.; ALMEIDA, A. M. B.; MACHADO, A. V.; COSTA, R. O. 2015. Análise Físico-química e Microbiológica do Mel de Abelha. Revista Brasileira de Agrotecnologia 5:14-18.

- NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEA'S, X.; ESTEVINHO, L. M. 2012. Commercial bee pollen with different geographical origins: A comprehensive approach. International Journal of Molecular Sciences 13:11173-11187.
- PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R.; PANDEY, A.; JOSHI, V. K.; NIGAM, P. S.; SOCCOL, C. R. 2014. Enterobacterriaceae, *Coliforms, E. coli*. Encyclopedia of Food Microbiology 2:659-666.
- PUCCIARELLI, A. B.; SCHAPOVALOFF, M. E.; KUMMRITZ, S.; SEÑUK, I. A.; BRUMOVSKY, L. A.; DALLAGNOL, A. M. 2014. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. Revista Argentina de Microbiología 46:325-332.
- PUIG-PEÑA, Y.; RÍOS, C.A.R.; RIVERA, V. P. Á.; CASTILLO, V. L.; NENINGER, R. G. 2012. Comparación de la calidad microbiológica del polen apícola fresco y después de un proceso de secado. Revista CENIC Ciencias Biológicas 43:23-27.
- RAHMAN, M. 2003. Manual de conservación de alimentos. Zaragoza, España.
- REBELO, K. S.; FERREIRA, A. G.; CARVALHO-ZILSE, G. 2016. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. Ciência Rural 46:927-932.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. 2010. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. São Paulo: Varela.
- SOUZA, L. S.; BÁRBARA, S. M. F.; SODRÉ, G. S; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, L. S. 2011. Quantificação de coliformes em própolis e geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponina). Magistra 23:01-04.
- SOUZA, L. S.; BARBARA, M. F. S.; SODRÉ, G. S.; SANTOS, P. C.; ALMEIDA. A. M. M.; CARVALHO, C. A. L. 2012. Qualidade microbiológica do mel de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) produzido na região Nordeste do Estado da Bahia. Magistra, Cruz das Almas 24:194-199.
- VIT, P.; SANTIAGO, B.; PEDRO, S. R.; PEREZ-PEREZ, E.; PENAVERA, M. 2016. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by Melipona and Scaptotrigona stingless bees from Paria Grande, Amazonas State, Venezuela. Emirates Journal of Food and Agriculture 28:78-84.
- YOSHIYAMA, M.; KIMURA, K. 2009. Bacteria in the gut of Japanese honeybee, *Apis cerana japonica*, and their *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood. Journal of Invertebrate Pathology, 102: 91 96.

# **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estudo permitiu demostrar que o perfil químico do samburá das espécies S. xanthotricha e T. angustula, são distintos demostrando a importância de fixar padrões de qualidade para samburá das abelhas sociais sem ferrão. Além disso, os resultados auxiliaram no conhecimento da qualidade microbiológica do produto, possibilitando comprovar a qualidade e estimular o consumo do samburá, assim como sua expansão e geração de renda.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-GHAMDI, A.A.; AL-KHAIBARI, A.M.; OMAR, M.O. 2010. Comsumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honeybee workers. **Saudi Journal of Biological Sciences** 18: 73-77.

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

ALVARELLI, L.G.; SANTOS, S.S.F.; LEÃO, M.V.P.; SANTOS, M.M.E.O.; BRAGA,T.C.; MOREIRA, R.M.; BARRETO, L.M.R.C. 2011. Índices microbiológicos na rota da coleta ao beneficiamento do pólen apícola em Canavierias, estado da Bahia. **Revista Magistra** 23: 22-25.

ALVES, R.M.O.; CARVALHO, C.A.L. 2018. **Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology**. p.435: 443. In: Vit, P.; Pedro, S.R.M.; Roubik, D. eds. New York: Springer.

ALVES, R.M.O.; SANTOS, D.R.; NASCIMENTO, A.S.; SODRÉ, G.S.; CARVALHO, C.A.L. de. 2018a. Herdabilidade de parâmetros biométricos de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **PUBVET** 12: 1-7.

ALVES, M.L.T.M.F. 2013. Pólen - alimento e grande fonte de renda para o apicultor. **Apta Regional** 10: 2.

ANDERSON, K.E.; CARROLL, M.J.; SHEEHAN, T.; LANAN, M.C.; MOTT, B.M.; MAES, P.; CORBY-HARRIS, V. 2014. Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. **Molecular Ecology** 23: 5904-5917.

ANDRADE, P.B.; AMARAL, M. T.; ISABEL, P.; CARVALHO, J.C.M.F.; SEABRA, R.M.; CUNHA, A.P. 1999. Physicochemical attributes and pollen spectrum of Portuguese heather honeys. **Food Chemistry** 66: 503-510.

ARGENTINA. 1990. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnologia Médica. Alimentos. **Código Alimentario Argentino**. (Capítulo X: Alimentos Azucarados: Artículo 785 – Resolucion 1550 de 12 de dezembro de 1990).

BAPTISTA, I.; ROCHA, S.M. CUNHA, Â.; SARAIVA, J.A.; ALMEIDA, A. 2016. Inactivation of *Staphylococcus aureus* by high pressure processing: an overview. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 36: 128-149.

BÁRBARA, M.F.S.; MACHADO C.S.; SODRÉ G.S.; DIAS, L.G.; ESTEVINHO, L.M.; CARVALHO, C.A. L. 2015. Microbiological Assessment, Nutritional Characterization and Phenolic Compounds of Bee Pollen from *Mellipona mandacaia* Smith, 1983. **Molecules** 20: 12525-12544.

BÁRBARA, M.F.S.; MACHADO C. S.; SODRÉ G. S.; SILVA F. L.; CARVALHO C.A. L. 2018. Microbiological and physicochemical characterization of the pollen stored by stingless bees. **Brazilian Journal Food Technology** 21:1-9.

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

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

BARTH, O.M. 2004. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola** 61: 342-350.

BELLUSCI, S.; MARQUES, M.D. 2001. Circadian activity rhythm of the foragers of a eusocial bee (*Scaptotrigona* aff. *depilis*, Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) outside the nest. **Biological Rhythm Research** 32: 117-124.

- BOGDANOV, S. Pollen: nutrition, functional properties, health: a review. 2017. Bee **Product Science** 1-36. Disponível em: <a href="http://www.bee">http://www.bee</a> hexagon.net/files/file/fileE/Health/PollenBook2Review.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2019.
- BRASIL. **Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA.** Resolução RDC n°12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.
- CABALLERO, P.; TRONCOSO, M.; PATTERSON, S. I.; LÓPEZ-GÓMEZ, R.; FERNANDEZ, C.R.; SOSA, M.A. 2016. Neurotoxins from *Clostridium botulinum* (serotype A) isolated from the soil of Mendoza (Argentina) differ from the A-Hall archetype and from that causing infant botulism. **Toxicon** 120: 30-35.
- CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIGERIO, C.; FERREIRA, F. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research and Bee World** 47: 156-163.
- CAMPOS, M.G.; CUNHA, A.; MARKHAM, K.R. 1997. **Bee products: properties, applications and apitherapy**. p.100. In: Mizrahi, A.; Lensky, Y. New York: Plenum Press.
- CAPPELLI, S.; LUNEDO, P.; FREITAS, C.P.; RABER, H.R.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H.; OLIVEIRA, V. 2016. Avaliação química e microbiológica das rações secas para cães e gatos adultos comercializadas a granel. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** 10: 90-102.
- CARNEIRO, L.C. 2008. Avaliação de *Escherichia coli* em manipuladores de alimentos da cidade de Morrinhos GO. **Vita et Sanitas** 2: 31-42.
- CARPES, S.T.; CABRAL, I.S.; LUZ, C.F.P.; CAPELETTI, J.P.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M.L. 2009. Palynological and physicochemical characterization of *Apis mellifera* L, bee pollen in the Southern region of Brazil. **Journal of Food Agriculture and Environment** 7: 667 673.
- CARPES, S.T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S.M.; MASSON, M.L. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidantand antibacterial activity. **Ciência Agrotecnologia** 31: 1818-25.
- CARVALHO, C.A.L.; MARCHINI, L.C. 1999. Abundância de ninhos de Meliponinae (Hymenoptera:Apidae) em biótopo urbano no município de Piracicaba-SP. **Revista Agricola** 74: 35-44.
- CHANTARUDEE, A. PHUWAPRAISIRISAN, P.; KIMURA, K.; OKUYAMA, M.; MORI, H.; KIMURA, A.; CHANCHA, A. 2012. Chemical constituents and free radical scavenging activity of corn pollen collected from *Apis mellifera* hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand. **Complementary and Alternative Medicine** 12: 1-12.
- COLETTO-SILVA, A. 2005. Captura de enxames de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem destruição de árvores. **Acta Amazonica** 35: 383-388.
- DAMER, J.R.S.; DILL, R.E.; GUSMÃO, A.A. MORESCO.; RUOSO, T. 2014. Contaminação de carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Revista Contexto e Saúde** 14: 20-27.
- DENISOW, B.; DENISOW-PIETRZYK, M. 2016. Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v: 4303-4309.
- DE FLORIO A. J. REISA, A.S.; HELDTA, L.F.C. PEREIRAA, D.; BIANCHINA, M.; MOURAA, C.; PLATA-OVIEDOB, M.V; HAMINIUKB, CH. W.I. RIBEIROC, I.S.; LUZD, C. F. P.; CARPE, S.T. 2017. Lyophilized bee pollen extract: a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. **LWT-Food science and Tecnology** 76: 299-305.
- DUARTE, A.W.F.; VASCONCELOS, M.R. dos S.; ODA-SOUZA, M.; OLIVEIRA, F.F.; LÔPEZ, A.M.Q. 2018. Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology** 38: 493-503.

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

ESWARAN, V.U.; BHARGAVA, H.R. 2014. Chemical Analysis and Anti-Microbial Activity of Karnataka Bee Bread of *Apis* species. **World Applied Sciences Journal** 32: 379-385.

FAOSTAT. 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations Crops. http://www.fao.org/faostat/en/

FATROCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K.; NÔŽKOVA, J.; KAČÁNIOVÁ, M.; MÁRIÁSSYOVÁ, M.; ROVNÁ, K.; STRIČ K.M. 2013. Antioxdant and antimicrobial properties properties of monofloral bee pollen. **Journal of Environmental Science and Health** 48:133-138.

FINOLA, M.S.; LASAGNO, M.C.; MARIOLI, J.M. 2007. Microbiological and chemical characterization of honey from central Argentina. **Food Chemistry** 100:1649-1653.

FORSYTHE, S.J., eds. 2002. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Atmed.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. eds. 2008. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu.

FREIRE, K.R.L.; LINS, A.C.S.; DÓREA, M.C.; SANTOS, F.A.R; CAMARA, C.A.; SILVA, T.M.S. 2012. Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honeybee-collected pollen from Bahia, Brazil. **Molecules** 17: 1652-1664.

GRAIKOU, K.; KAPETA, S.; ALIGIANNIS, N.; SOTIROUDIS, G.; CHONDROGIANNI, N.; GONOS, E.; CHINOU, I. 2011. Chemical analysis of Greek pollen-antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. **Chemistry Central Journal** 33: 1-9.

HANI, B.; DALILA B.; SALIHA D.; DAOUND H.; MOULOUND G.; SEDDIK, K. 2012. Microbiological sanitary aspects of pollen. **Advances in Environmental Biology** 6: 1415-1420.

HERVATIN H.L. 2009. Avaliação microbiológica e físico-química do pólen apícola in natura e desidratado sob diferentes temperaturas. Master Thesis. Faculty of Food Engineering, Unicamp; Campinas, Brasil. 70 pp.

ISIDOROV, V. A.; BAGAN, R.; BAKIER, S.; SWIECICKA, I. 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herbhoneys. **Food Chemistry** 171: 84-88.

JAY, J.M., eds. 2005. Microbiologia de Alimentos. Porto Alegre: Artmed.

KOMOSINSKA-VASSEV, K.; OLCZYK, P.; KAFMIERCZAK, J.; MENCNER, L.; KROYER, G.; HEGEDUS, N. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innovative. **Food Science & Emerging Technologies** 2: 171-174.

KWAPONG, P; AIDOO, K.; COMBEY, R; KARIKARI, A. eds. 2010. **Stingless Bees. Importance, management and utilisation. A training manual for stingless beekeeping**. Accra North, Ghana.

MAIA, U.M.; JAFFE, R.; CARVALHO, A.T.; FONSECA, V.L.I. 2017. Meliponiculture in Rio Grande do Norte. Brazilian. **Journal of Veterinary Medicine** 37: 327-333.

MARCHINI, L.C; REIS, V.D.A.; MORETI, A.C.C.C. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, São Paulo. **Ciência Rural** 36: 949-953.

MEDEIROS, M. I. M.; NADER FILHO, A.; SOUZA, V.; MELO, P.C.; FERREIRA, L. M.; MEDINA, C.L.M. 2013. Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* na produção de queijo minas frescal. **Ciência Animal Brasileira** 14: 98-105.

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, F.A.F.L.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. 2013. **Pot-honey: a legacy of stingless bees.** p.153-171. The role of useful

microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. Vit, P.; Pedro, S.R.M.; Roubik, D., New York: Springer.

MICHENER, C.D. 2. eds. 2007. **The bees of the world**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.

MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P.; MEIRA-NETO, J.A.A. 2011. Flora de importância polinífera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore** 35: 1145-1153.

MORENO P.; VELOSA S. 2009. Evaluación de la Inocuidad del Polen Producido por *Apis Mellifera* en la Provincia Centro de Boyacá. **Facultad de Química de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia**.

MORES-ARROCHA, A. ROLDÁN, A.; JIMÉNEZ-CANTIZANO, I.; PALACIOS, C.V. 2018. Evaluation of the use of multiflora bee pollen on the volatile compounds and sensorial profile of Palomino fino and Riesling white young wines. **Food Research International** 105: 197-209.

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

MOURA, S.G. MURATORI, M.C.S.; MONTE, A.M.; CARNEIRO, R.M; SOUZA, D.C., MOURA, J.Z. 2014. Qualidade do mel de *Apis mellifera* L. relacionadas às boas práticas apícola. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** 15: 731-739.

MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. 2018. Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region, online version. http://moure.cria.org. br/catalogue?id=34135.

NAGAI,T.; NAGASHIMI, T; MYODE, T.; INOUE, R. 2004. Preparation and functional properties of extracts from bee bread. **Nahung/Food** 3: 226-229.

NEVES, A.P.M.; ALMEIDA, A.M.B; MACHADO, A.V.; COSTA, R.O. 2015. Análise físico-química e microbiológica do mel de abelha. **Revista Brasileira de Agrotecnologia** 5: 14-18.

NICOLSON, S.W.N.; NEVES, S.; HUMAN, H.; PIRK, C.W. 2017. Digestibility and nutritional value of fresh and stored pollen for honey bees (*Apis mellifera scutellata*). **Journal of Insect Physiology** 107: 302-308.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L.M.. 2012. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. **International Journal of Molecular Science** 13: 11173-87.

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis 445p.

NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ F.; V.L., KLEINERT, G.A.; VIANA, B.F.; CASTRO, M.S., eds.1986. **Biologia e manejo das abelhas sem ferrão**. São Paulo.

NOVAIS, J.S.; ABSY, M.L. 2015. Melissopalynological records of honeys from *Tetragonisca* angustula (Latreille, 1811) in the Lower Amazon, Brazil: pollen spectra and concentration. **Journal of Apicultural Research** 10: 37-41.

OMAR, W.A.W. AZHAR, N.A.; FADZILAH, N.H.; SYAZNI, N.N.; KAMAL, N.M. 2016. Bee pollen extract of Malaysian stingless bee enhances the effect of cisplatin on breast cancer cell lines. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 6: 265-269.

PALAZUELOS BALLIVIAN, J.M.P., eds. 2008. **Abelhas nativas sem ferrão**. São Leopoldo: Oikos.

PATEL, A.K.; SINGHANIA, R.R.; PANDEY, A.; JOSHI, V.K.; NIGAM, P.S.; SOCCOL, C.R. 2014. **Enterobacterriaceae, Coliforms na** *E. coli.* p. 659-666. In book: Encyclopedia of Food Microbiology, Edition: 2nd, Publisher: Elsevier Ltd, Academic Press, Editors: Batt C.A., Tortorello M.L.

- PEDRO, S.R.M. 2014. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology** 61: 348-354.
- PEREIRA, F.M.; FREITAS, B.M.; NETO, J.M.V.; LOPES, M.T.R.; BARBOSA, A.L.; CAMARGO, R.C.R. 2006. Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos protéicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 4: 1-7.
- PINHEIRO F.M.; COSTA C.V.P.; DAS N.; BAPTISTA R.D.C.; VENTURIERI G.C.; PONTES M.A.N. 2012. Pólen de abelhas indígenas sem ferrão *Melipona fasciculata* e *Melipona flavolineata*: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial.
- http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/408842/1/polendeabelhasindigenassemferraome lipona
- PUIG-PENÃ, Y.; DEL-RISCO-RÍOS, C.A.; ÁLVAREZ-RIVERA, V.P.; LEIVA-CASTILLO, V.; GARCÍA-NENINGER, R. 2012. Comparacíon de la calidad microbiológica del polen apícola fresco y después de um processo de secado. **Ciência Biológicas** 43: 23-27.
- REBELO, K.S.; FERREIRA, A.G.; AL CARVALHO-ZILSE, G. 2016. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. **Ciência Rural** 46: 927-932.
- SANTANA, A.S.; CORREA, S.S. 2006. Efeito da Adição de Dicloran ao diluente, para enumeração de fungos em alimentos desidratados utilizando-se o sistema Petrifilm TM para bolores e leveduras. **Revista Higiene Alimentar** 24: 122-126.
- SANTOS, C.S. 2009. Apicultura uma alternativa na busca do desenvolvimento sustentável. **Revista Verde** 4:01-06.
- SEBRAE-Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Agronegócios: produção de pólen**. 2017.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A., eds. 2010. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. São Paulo: Varela.
- SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.A.; ALMEIDA, E.A.B., eds. 2002. **Abelhas brasileiras. Sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Composição e Arte.
- SOUSA, J.M.B.; SOUZA, E.L.; MARQUES, G.; BENASSI, M.T.; GULLON, B.; PINTADO, M.M.; MAGNANI, M. 2016a. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT Food Science and Technology** 65: 645-65.
- SOUZA, B.A.; ALVES, R.M.O.; CARVALHO, C.A.L. 2007. Diagnóstico da arquitetura de ninho de *Oxytrigona tataira* (Smith, 1863) (Hymenoptera: Meliponinae). **Biota Neotropica** 7: 83-86.
- SOUZA, L.S.; BÁRBARA, S.M.F.; SODRÉ, G.S; CARVALHO, C.A.L.; SOUZA, L.S. 2011. Quantificação de coliformes em própolis e geoprópolis de abelhas sociais sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponina). **Magistra** 23: 01-04.
- VALSECHI, O.A. 2006. **Microbiologia dos alimentos. Araras**: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2006, 49p.
- VÁSQUEZ, A.; OLOFSSON, T.C. 2009. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. **Journal of Apicultural Research** 48: 189-195.
- VENTURIERI, G.C., eds. 2008. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental.
- VENTURIERI, G.C.; ALVES, D.A.; VILLAS-BÔAS, J.K.; CARVALHO, C.A.L.; MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A. 2012. **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. p.213-236. Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola.

In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Canhos, D.A.L.; Alves, D.A.; Saraiva, A.M. (Org.). São Paulo: EDUSP.

VIT, P.; PEDRO, S.R.M.; ROUBIK, D. 2013. . **Pot-honey**. p. 363-373. *Melipona favosa* pot-honey from Venezuela New York: Springer.

VIT, P.; SANTIAGO, B.; PEDRO, S.R.; PEREZ-PEREZ, E.; PENA-VERA, M. 2016. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by *Melipona* and *Scaptotrigona stingless* bees from Paria Grande, Amazonas State, Venezuela. **Emirates Journal of Food and Agriculture** 28: 78-84.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. 2010. Maracujá: um alimento funcional. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 20: 459-47.