



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DAS
PROTEÍNAS DO PÓLEN APÍCOLA**

Geraildo Alexandre Souza Silva

Orientadora: Prof^a D. Mônica T. Cavalcanti

POMBAL - PB

2015

GERAILDO ALEXANDRE SOUZA SILVA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DAS PROTEÍNAS DO PÓLEN APÍCOLA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre – Area de concentração: - Linha de Pesquisa: Produção e Tecnologia Agroindustrial.

Orientadora: Prof^ª DSc. Mônica Tejo Cavalcanti

POMBAL-PB

2015

S586c Silva, Geraildo Alexandre Souza.
Caracterização físico-química e funcional das proteínas do
pólen apícola / Geraildo Alexandre Souza Silva. – Pombal, 2018.
78 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) –
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e
Tecnologia Agroalimentar, 2015.

"Orientação: Profa. Dra. Mônica Tejo Cavalcanti".

Referências.

1. Pólen apícola. 2. Proteína alimentar. 3. Apicultura. I.
Cavalcanti, Mônica Tejo. II. Título.

CDU 638.138(043)

GERAILDO ALEXANDRE SOUZA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL
DAS PROTEÍNAS DO PÓLEN APÍCOLA**

Aprovada em: 29/07 de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Mônica Tejo Cavalcanti

Orientadora: Prof^a. DSc. Mônica Tejo Cavalcanti

UATA/CCTA/UFCG

Robelúcia Araújo Candeia

Prof^a. DSc. Robelúcia Araújo Candeia

UATA/CCTA/UFCG

José Nilton da Silva

Prof. DSc. José Nilton da Silva

UAEQ/CCT/UFCG

A DEUS,

*Ao meu filho Áislan e minha esposa Rosani, pelo amor, dedicação e
compreensão, muito obrigado.*

E a meus pais, Geraldo e Maria de Fátima.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus por me iluminar e me dar força para não desistir e prosseguir mesmo com dificuldades.

A minha esposa Rosani pela parceria e incentivo me fazendo sempre seguir em frente e ao meu amado filho, Áislan pelo amor incondicional.

A minha orientadora, D.^a Mônica Tejo Cavalcanti, pela orientação, parceria, amizade, confiança e principalmente, pelas broncas que me levaram para o caminho certo.

Aos membros da Banca Examinadora, D. José Nilton da Silva e D.^a. Roberlucia Araújo Candeia.

As minhas irmãs, Erica e Eilhanny, pelo carinho, apoio e incentivo dedicados a mim durante toda a vida.

A minha tia Anita seu esposo Cizinato, e meu tio Pedro, por sempre ter acreditado e confiado nessa conquista.

A todos os meus familiares: tios, primos, cunhados, sogro e sogra pelo apoio e carinho.

Aos amigos e companheiros Magno, Franceilton e Tiquinho, por sempre estarem me apoiando.

As técnicas de laboratório do CCTA-UFCG, Climene e Fabíola, pelos ensinamentos e apoio na realização das análises.

As meninas do projeto BALCOM, Jessika, Jayury e Leidiana pela dedicação e compreensão. A Erick por ter me ajudado no início do trabalho. Wallber e Yan pela ajuda para finalizar o trabalho.

Em especial, a Thayse Cavalcante pela essencial ajuda durante as análises desta pesquisa, muito obrigado pela força, dedicação, empenho e principalmente, pela amizade.

A todos que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigado!!!

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Abelha <i>Apis mellifera</i> , colheita de pólen.....	6
Figura 3.2 – Grão de pólen na corbícula da abelha.....	7
Figura 3.3 – Coletor de pólen apícola.....	8
Figura 3.4 – Pólen Apícola.....	8
Figura 3.5 – A) O detergente SDS e o agente redutor β -mercaptoetanol; B) O aparato de eletroforese; C) Cadeias individuais de polipeptídeos formando um complexo com o SDS carregado negativamente e correndo em um gel de poliacrilamida.....	14
Figura 4.1 – Fluxograma de obtenção do concentrado proteico do pólen apícola.....	26
Figura 5.1 – Análise eletroforética em sistema PAGE-SDS-2 β Me das proteínas presentes no concentrado proteico e pólen apícola coradas em nitrato de prata (Legenda: Faixa A – padrão Sigma - S8445; Faixa B – padrão Sigma M 3546; Faixa C – Concentrado proteico do pólen apícola; Faixa D – Pólen apícola).....	35
Figura 5.2 – Análise densitométrica da eletroforese em gel de poliacrilamida, em sistema PAGE-SDS-2 β Me das proteínas presentes no concentrado proteico e pólen apícola.....	36
Figura 5.3 – Solubilidade da proteína em função do pH da farinha do pólen apícola.....	39
Figura 5.4 – Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Cloreto de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L.....	41
Figura 5.5 – Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Citrato de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L.....	42
Figura 5.6 – Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Sulfato de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L.....	43
Figura 5.7 – Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e da concentração (0,0 a 0,30	

mol/L) de sal na Solubilidade: Citrato de Sódio; Cloreto de Sódio;
Sulfato de Sódio..... 45

Figura 5.8 – Solubilidade da proteína em função do pH do concentrado
proteico..... 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Análises físico-químicas do pólen apícola desidratado.....	32
Tabela 5.2 – Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Cloreto de Sódio.....	40
Tabela 5.3 – Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Citrato de Sódio.....	41
Tabela 5.4 – Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Sulfato de Sódio.....	43
Tabela 5.5 – Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola. Cloreto de Sódio, Citrato de Sódio e Sulfato de Sódio.....	44
Tabela 5.6 – CAA e CAO da farinha do pólen apícola e do concentrado proteico.....	47
Tabela 5.7 – Atividade da emulsão da farinha do pólen apícola.....	49
Tabela 5.8 – Estabilidade de emulsão da farinha do pólen apícola.....	50
Tabela 5.9 – Capacidade de formação de espuma da farinha do pólen apícola.	51
Tabela 5.10 – Estabilidade de espuma após 60 minutos.....	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Apicultura	16
3.2 Pólen Apícola	17
3.3 Proteínas dos Alimentos	22
3.3.1 Análise eletroforética de proteínas.....	25
3.3.2 Propriedades funcionais.....	27
3.3.2.1 Solubilidade proteica.....	28
3.3.2.2 Capacidade de absorção de água.....	29
3.3.2.3 Capacidade de absorção de óleo.....	30
3.3.2.4 Propriedades emulsificantes.....	30
3.3.2.5 Propriedades espumantes.....	31
3.3.3 Fatores que influenciam na funcionalidade da proteína.....	32
3.3.3.1 Efeito do pH.....	32
3.3.3.2 Efeito do sal.....	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Obtenção da Farinha do Pólen Apícola Desidratado	35
4.2 Caracterização do Pólen Apícola Desidratado	35
4.2.1 Umidade.....	35
4.2.2 Cinzas.....	35
4.2.3 Lipídeos.....	36
4.2.4 Proteínas.....	36
4.2.5 Acidez livre.....	36
4.2.6 pH.....	36
4.2.7 Açúcares totais.....	36
4.2.8 Compostos fenólicos totais.....	36

4.2.9 Flavonoides totais e antocianinas.....	37
4.3 Obtenção da Farinha Desengordurada.....	37
4.4 Obtenção do Concentrado Proteico.....	37
4.5 Análise Eletroforética.....	38
4.6 Propriedades Funcionais.....	39
4.6.1 Solubilidade.....	39
4.6.1.1 Solubilidade da farinha do pólen apícola.....	39
4.6.1.2 Efeito do pH e da concentração de sal na solubilidade da farinha do pólen apícola.....	40
4.6.1.3 Solubilidade das proteínas do concentrado proteico.....	40
4.6.2 Capacidade de absorção de água e óleo.....	40
4.6.2.1 Capacidade de absorção de água (CAA).....	40
4.6.2.2 Capacidade de absorção de óleo (CAO).....	41
4.6.3 Atividade de emulsão.....	41
4.6.4 Estabilidade de emulsão.....	42
4.6.5 Capacidade e estabilidade de formação de espuma.....	42
4.7 Análise Estatística.....	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 Caracterização do Pólen Apícola Desidratado.....	44
5.2 Análise Eletroforética.....	47
5.3 Propriedades Funcionais.....	50
5.3.1 Solubilidade.....	50
5.3.1.1 Solubilidade da farinha do pólen apícola.....	50
5.3.1.2 Efeito do pH e da concentração de sal na solubilidade.....	51
5.3.1.3 Solubilidade do concentrado proteico.....	57
5.3.2 Capacidade de absorção de água (CAA) e óleo (CAO).....	59
5.3.3 Atividade e estabilidade de emulsão.....	60
5.3.4 Capacidade e estabilidade de formação de espuma.....	63
6 CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

RESUMO

Pólen apícola consiste da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares. Os grãos de pólen são aglutinados em bolotas ou grânulos, que são fixados nas corbículas para que possa ser transportado até a colmeia, o qual é recolhido por coletores. Além da nutrição das abelhas, o pólen, pode ser utilizado como complemento alimentar na nutrição humana, por ser importante fonte de proteínas. As propriedades funcionais são as várias características que a proteína hidratada propicia ou com a qual contribui em um produto alimentício possibilitando variação na: solubilidade, capacidade de absorção e retenção de água e óleo, capacidade emulsificante, e formação de espumas. O presente trabalho investigou a caracterização físico-química, os compostos bioativos do pólen apícola desidratado, a obtenção do concentrado proteico e algumas propriedades funcionais das proteínas da farinha do pólen apícola e do concentrado. O estudo das propriedades funcionais foi conduzido em sistemas de diversas composições, a temperatura ambiente, e o comportamento da proteína nesses sistemas foi avaliado, em função do tipo de sal e concentração dos mesmos. O conteúdo proteico na solubilidade foi quantificado pelo método de Lowry. O pólen apícola desidratado apresentou um teor proteico de 25,67%. Na obtenção do concentrado proteico do pólen apícola o pH de precipitação proteica e de extração foram 4,25 e 10,5, o concentrado proteico apresentou o dobro de proteínas em relação ao pólen apícola 51,64%. A análise eletroforética dos pesos moleculares das proteínas da farinha do pólen apícola e do seu concentrado proteico em PAGE-SDS-2 β Me, revelou 3 bandas principais na faixa de peso molecular de 95,54 e 25,6 kDa. A capacidade de absorção de água e de óleo do concentrado proteico é superior ao das proteínas da farinha do pólen apícola. Os resultados mostraram que para a solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola o melhor sistema foi o que utilizou o sulfato de sódio na concentração de 0,20 mol/L. Adição de sal não foi favorável a atividade de emulsão. Já para a estabilidade de emulsão a adição dos sais foi vantajoso. As propriedades espumantes foram favorecidas na presença de sal em relação à formação de espumas, apresentaram melhores resultados com a adição do sal citrato de sódio e sulfato de sódio na concentração de 0,30 mol/L e na estabilidade de espuma com a adição de cloreto de sódio. O pólen apícola pode ser utilizado como uma fonte alternativa de proteínas alimentares no desenvolvimento de novos produtos e como substituto em produtos já disponíveis no mercado e que as suas propriedades tecnológicas são influenciadas pela variação do pH e da concentração e do tipo de sal.

Palavras Chave: Concentrado Proteico. Eletroforese. Propriedades Funcionais.

ABSTRACT

Bee pollen is defined as the result of agglutination of pollen of flowers, conducted by the worker bees, by their nectar and salivary substances. The pollen grains are agglutinated on acorns or granules, which are fixed in the corbicula so it can be transported to the hive, which is collected by collectors. Beyond the nutrition of bees, pollen can be used as a food supplement for human nutrition, because it is an important source of protein. The functional properties are the various characteristics of the hydrated protein which promotes or contributes to a food product allowing variation in the: solubility, absorption, capacity and retention of water and oil, emulsifying capability, and foaming. In this work there was the characterization of physicochemical and bioactive compounds of dehydrated bee pollen, obtaining the protein concentrate and was determined some functional properties of the defatted flour proteins of bee pollen and of the concentrate. The study of the functional properties was conducted in systems of various compositions, at ambient temperature, and the behavior of the protein in these systems was evaluated, depending on the type of salt and their concentration. The protein content in solubility was quantified by the Lowry method. The bee pollen dehydrated showed a protein content of 25.67%. In obtaining of the protein concentrate of bee pollen, the pH of protein precipitation and extraction were 4.25 and 10.5, the protein concentrate showed twice the protein compared to 51.64% bee pollen. The electrophoretic analysis of the molecular weights of the proteins of the defatted flour of bee pollen and its protein concentrated in PAGE-SDS-2 β Me, revealed 3 major bands in the molecular weight range of 95.54 and 25.6 kDa. The water and oil absorption capacity of the protein concentrate is higher than the protein of the flour from defatted bee pollen. The results showed that for the protein solubility of defatted flour from bee pollen, the best system was the one that used sodium sulfate in a concentration of 0.20 mol/L. Salt addition was not in favor of emulsion activity, but to emulsion stability the addition of salts was advantageous. The foaming properties were favored in the presence of salt compared to foam formation, showed the best results with the addition of sodium citrate salt and sodium sulfate in a concentration of 0.30 mol/L and the stability of foam with the addition of sodium chloride. The bee pollen can be used as an alternative source of dietary protein in the development of new products and as a substitute for products already available on the market and their technological properties are influenced by the pH variation and the concentration and type of salt.

Keywords: Protein Concentrate, Electrophoresis, Functional Properties.

1 INTRODUÇÃO

A deficiência geral de alimentos com elevada qualidade proteica, existe uma busca por novas fontes proteicas em virtude da escassez desse composto em algumas regiões do mundo. Esta busca estimula o desenvolvimento de pesquisas aumentando a qualidade das fontes convencionais de proteínas e se possível, desenvolver outras fontes não convencionais deste nutriente.

O interesse na pesquisa por novas fontes proteicas não convencionais com o intuito de estudar suas propriedades funcionais para aplicação na indústria alimentícia é cada vez maior (MODESTI et al., 2007).

O pólen apícola é uma mistura de pólen de flores de várias fontes vegetais, néctar e secreções das abelhas. Os apicultores o recolhem sem agressão nenhuma a colmeia. Este produto natural está conquistando espaço, e, vem sendo reconhecido pelo seu potencial em aplicações médicas e nutricionais (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005). O pólen contém proteínas, os 22 aminoácidos básicos, hidratos de carbono, lipídios, vitaminas e minerais (MORAIS et al., 2011).

A quantidade de proteínas para um pólen ser considerado de qualidade é de no mínimo 8,0% (BRASIL, 2001). As médias encontradas apresentam valores acima dos 20%, o que demonstra a riqueza desse alimento em material proteico (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006; MODRO et al., 2007; CARPES, 2008).

As organizações internacionais recomendam que os nutrientes procedam de fontes naturais e que o organismo esteja capacitado para absorvê-los facilmente. É preciso, ainda assumir que algumas fontes naturais são deficitárias em alguns nutrientes essenciais (CARVAJAL, 2009). Para que, a dieta seja balanceada, existe uma procura por suplementos nutricionais, e nisso, o pólen apícola está a frente, principalmente, por ser um dos poucos alimentos que contém todos os aminoácidos essenciais que o organismo, por si só, não consegue sintetizar (LEGLER, 2002).

O pólen apícola, apesar de ser utilizado principalmente como suplemento alimentar, também é usado em farmacologia (ingrediente em produtos apifito-aromáticos), cosmética (filtros solares, cremes, máscaras, batons, sabonetes, shampoos, etc.), na atividade apícola como alimento para as abelhas, etc. (CASTRO, et al., 2002).

Muitos estudos sobre pólen apícola têm sido realizado do ponto de vista físico químico, bioquímico, sobre os compostos bioativos ou microbiológico, mas ainda são poucos os trabalhos que fazem uma abordagem sobre as suas propriedade funcionais e a extração das proteínas. Neste sentido, esta pesquisa foi realizada para avaliar as propriedades funcionais do pólen apícola e sua proteína extraída, bem como as propriedades funcionais tecnológicas do pólen apícola em função da variação do pH, da adição e concentração de sais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve por objetivo caracterizar o pólen apícola através de análises físico-químicas e avaliar as propriedades funcionais de suas proteínas.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar análises físicas, físico-químicas e bioativas no pólen apícola desidratado comercial;
- Obter o concentrado proteico do pólen apícola por precipitação isoelétrica;
- Analisar o perfil eletroforético das proteínas contidas no pólen apícola e no concentrado proteico extraído;
- Avaliar o efeito da variação do pH e da adição e concentração de sais (Cloreto de Sódio, Sulfato de Sódio e Citrato de Sódio) na solubilidade das proteínas do pólen apícola;
- Determinar as propriedades funcionais do pólen apícola (solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade e estabilidade de formação de espuma, atividade e estabilidade de emulsão) e do concentrado proteico (solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Apicultura

A apicultura é uma atividade produtiva em franca expansão que se apresenta como uma opção de exploração de propriedades rurais, além de intensificar a polinização das espécies vegetais da região, contribuindo para a preservação da natureza. Considerada do ponto de vista econômico, social e ambiental, muito importante, pois proporciona geração de renda, fixação do homem no campo e a conservação da flora nativa (OLIVEIRA, 2011; VIDAL, 2013).

O clima tropical do Brasil propicia condições ótimas para a exploração da atividade apícola, com uma vegetação extensa e variada, tendo enorme potencial para a produção dos diversos produtos da colmeia (PEROSA et al., 2004).

A característica principal pelo crescimento da apicultura são as condições favoráveis à criação das abelhas encontradas em todas as regiões. É uma atividade que se apresenta como alternativa de renda para regiões carentes, utilizando mão-de-obra familiar e baixo custo de implantação. Isto faz com que a atividade tenha potencial para se desenvolver no Nordeste brasileiro. Portanto torna-se necessário aumentar as pesquisas e aperfeiçoar técnicas de manejo para viabilizar a exploração de maneira racional na região do semiárido (SILVEIRA, 2012).

A apicultura é uma atividade do agronegócio que preserva a natureza, pois não destrói e não polui. No Brasil, grande parte da produção de mel e de outros produtos da colmeia depende das matas nativas para a obtenção de néctar, pólen e resinas. Por isso, o apicultor é naturalmente um defensor da natureza e trabalha por sua preservação (EMBRAPA, 2008).

Na apicultura é possível a exploração de diversos produtos elaborados pelas abelhas, dentre eles podemos citar o mel, a própolis, o pólen apícola, a cera, apitoxina, geleia real; além dos serviços de polinização (SEBRAE, 2009). O mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas, de que as abelhas coletam, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

O estudo dos produtos da colmeia é bastante complexo, em virtude destes terem uma dupla origem: animal e vegetal. Entre esses produtos, o mel é o mais conhecido e comercializado, entretanto, a procura pelo pólen apícola tem aumentado nos últimos anos, e está associado à busca do homem por ingredientes mais saudáveis (SANTOS, 2011).

3.2 Pólen Apícola

O pólen é um produto característico das flores angiospermas, é o elemento masculino da planta cuja função é fecundar o elemento feminino, e reproduzir novos seres da mesma espécie (MARTINS, 2010). O pólen, junto com o néctar, é o alimento de maior importância na dieta das abelhas, que, possuem órgãos de recolha especializados, tanto para o pólen como para o néctar. As patas estão adaptadas para a recolha de pólen e a estrutura bucal está adaptada à sucção de néctar (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006).

As abelhas (*Apis mellifera*) visitam as flores, tocam os estames e o pólen adere aos pelos do seu corpo, em seguida, usam os pentes tibiais para escovar os grãos de pólen, e estes são aglutinados em bolotas ou grânulos. A abelha transporta o pólen até a colmeia, onde é depositado nos alvéolos dos favos, comprimindo com a cabeça das operárias para obter uma massa compacta, na qual sofre transformações sob ação da temperatura, umidade e enzimas salivares, sendo misturado com o néctar para formar o pão das abelhas (CARPES et al., 2008).

O pólen apícola, (Figura 3.1) é diferente do pólen das plantas, como a saliva da abelha é rica em enzimas, aminoácidos e vitaminas, quando misturada ao pólen, faz com que este, passe a possuir uma qualidade e quantidade de substância diferente da do pólen contido nas flores (BREYER, 2007).

Os grãos de pólen são incorporados à saliva das abelhas e armazenados nas corbículas (Figura 3.2), daí em diante, passa a ser denominado de pólen apícola. As abelhas operárias realizam a coleta dependendo de diversos fatores como número de larvas, quantidade de pólen já estocado na colmeia e disponibilidade do recurso no meio ambiente (CAMAZINE, 1993). O pólen é de extrema importância, quer para as abelhas, quer para os produtos derivados da colmeia, a quantidade e a qualidade

do pólen estão diretamente relacionadas com a produção de mel, cera e geleia real de um apiário (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006).

Figura 3.1 - Abelha *Apis mellifera*, colheita de pólen



Fonte: Breyer (2007)

A grande diversidade da flora nativa, possibilita um enorme potencial para a produção de pólen de qualidade, permitindo ao apicultor uma alternativa de renda no aproveitamento desse produto nobre da apicultura (ARRUDA, 2013).

Segundo Brasil (2001) define-se pólen apícola como sendo o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia. O pólen apícola para ser comercializado no Brasil, deve atender os seguintes requisitos físico-químicos: umidade máxima de 30% ou máxima de 4% para pólen apícola desidratado; cinzas máximo de 4%; lipídeos mínimo de 1,8%; proteínas mínimo de 8%; açúcares totais de 14,5% a 55,0%; fibra bruta, mínimo de 2% e um pH de 4 a 6 e acidez livre de no máximo 300 mEq/kg.

O pólen apícola deve ainda apresentar cor e aroma característicos de acordo com a origem floral, os grãos devem ser heterogêneos de forma e tamanhos variados, e o sabor deve ser característico (BRASIL, 2001).

O pólen não é armazenado em grandes quantidades na colmeia, não podendo ser recolhido como o mel, pois não se separa facilmente da cera. Este é recolhido por meio de aparelhos especiais, os chamados coletores ou armadilhas de pólen, que é colocado na entrada de voo da colmeia (Figura 3.3). As abelhas ao

entrar na colmeia tem que passar pelo coletor, assim o pólen que é transportado nas corbículas cairão na armadilha (Figura 3.4) (FNAP, 2009).

Figura 3.2 - Grão de pólen na corbícula da abelha



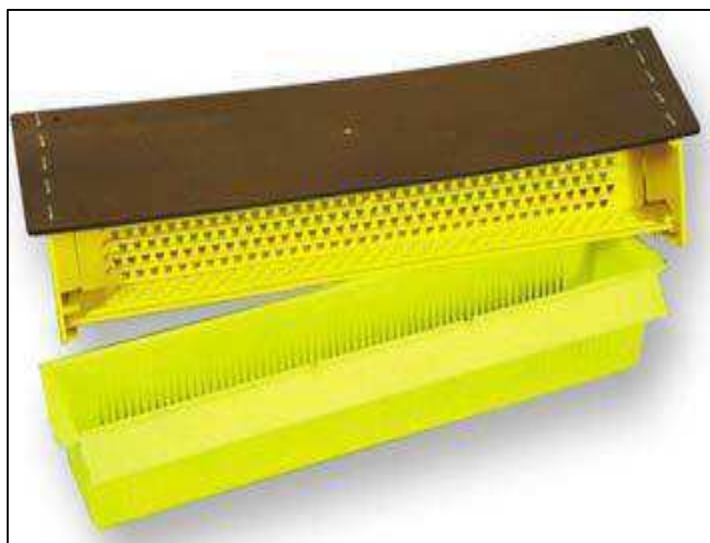
Fonte: Menezes (2009)

Após a coleta do pólen apícola, sua conservação pode ser feita por dois métodos, a fresco ou a seco. No método de conservação a fresco, é usado principalmente para a alimentação das abelhas, sendo realizado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e em sacos de polietileno. Este deve ser refrigerado desde a recolha até o consumo. No método a seco, a desidratação do pólen apícola é realizada em estufas de circulação forçada ou secador com temperaturas que não devem ultrapassem de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante um período de 12 a 48 horas (NOGUEIRA, 2012).

Com o pólen apícola seco é realizada a limpeza manual para retirada de materiais externos como partes de abelha, larvas secas, bolotas de própolis e restos de resíduos vegetais. Posteriormente é armazenado em frascos de vidro ou de plástico hermeticamente fechados a uma temperatura ambiente e ao abrigo da luz (BARRETO et al., 2006).

Segundo Torres; Guinard; Guerra (2003) se o pólen apícola não for armazenado adequadamente, pode perder valor nutricional rapidamente, sofrendo reações de Maillard. Neste caso é de extrema importância o controle e supervisão do processamento, para que este produto apícola, valioso, não perca nutrientes e propriedades organolépticas.

Figura 3.3 – Coletor de Pólen Apícola



Fonte: FNAP (2010)

Figura 3.4 – Pólen Apícola



Fonte: Sattler (2013)

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a qualidade dos alimentos, portanto, com a diminuição dos riscos à saúde. Nessa perspectiva, o pólen apícola ocupa lugar de destaque na alimentação humana, como um alimento distinto, por possuir propriedades nutritivas, medicinais e um elevado teor de proteínas (MARCHINI; REIS; MORETI, 2006). O mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, vem estimulando e promovendo essa modalidade da cadeia produtiva apícola (FUNARI et al., 2003).

Desde a antiguidade, o pólen apícola é reconhecido por suas propriedades nutricionais, medicinais e efeitos benéficos à saúde (LOPES et al., 2011). Na sua composição o pólen apícola contém proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais. Contêm as vitaminas do complexo B e vitamina D, as vitaminas antioxidantes (vitamina C, E (α -tocoferol) e β -caroteno, como provitamina A) (ARRUDA, 2013). Porém, a composição do pólen apícola depende da fonte vegetal, juntamente com outros fatores, como condições climáticas, tipo de solo, e o manejo do apicultor (MORAIS et al., 2011).

O pólen apícola contém ainda, 27 minerais (principalmente potássio, cálcio, magnésio, fósforo, ferro e sódio), 18 enzimas (dentre elas, catalase, amilase e sacarase) e 22 aminoácidos livres, incluindo 8 essenciais, além de ácidos nucléicos, materiais antibacterianos e hormônios (NAGAI et al., 2007).

Arruda et al. (2013) estudaram as propriedades biológicas do pólen apícola de coqueiro e, concluíram que, as amostras possuem fenólicos e flavonóides em potencial biológico. Martins et al. (2011) obtiveram para o teor proteico uma média de $19,57 \pm 3,0\%$, proveniente de 154 amostras de pólen apícola desidratado de 12 diferentes estados brasileiros.

Negrão (2014) avaliou o efeito da sazonalidade no teor proteico e composição de aminoácidos de pólen apícola do município de Botucatu São Paulo – Brasil observou que o teor proteico do pólen apícola é maior no período de inverno, não apresentando diferenças em sua composição de aminoácidos. Nicolson e Human (2013), relataram que o pólen apícola de girassol possui valor de proteína bruta de $14,21 \pm 0,28$ g/100 g em massa seca.

O efeito de dois tipos de processo de desidratação do pólen apícola, na manutenção dos teores das vitaminas C, E e o β -caroteno foi estudado por Almeida-Muradian (2006), um com temperatura de desidratação entre 29 e 32 °C e o outro com temperaturas entre 40 e 42 °C, que é o processamento tradicional, e verificou que o processamento mais eficiente na manutenção das três vitaminas é o de temperaturas mais amenas.

Alvareli; Moreira; Barreto (2011) avaliaram os aspectos relacionados a qualidade microbiológica do pólen apícola, desde da coleta ao beneficiamento do pólen apícola produzido em Canavieiras Bahia - Brasil, tendo como foco principal a melhoria da sua qualidade. Os autores verificaram que, após o treinamento dos

produtores, em boas práticas de produção e processamento, a contaminação microbiológica reduziu em 75% no produto.

Estudos apontaram que o pólen apícola possui substâncias polifenólicas, como os flavonoides, que lhe conferem a característica de antioxidante e, também, a habilidade de sequestrar radicais livres que são prejudiciais à saúde humana, podendo assim, ser usado pela indústria alimentícia e farmacêutica, substituindo os antioxidantes sintéticos, ou ainda, como suplemento alimentar. (NEVES; ALENCAR; CARPES, 2009; CARPES et al., 2009; MENEZES et al., 2010; KARLING; CARPES, 2010).

Carpes et al. (2009) avaliaram o potencial antimicrobiano de amostras de extrato alcoólico de pólen apícola da região Sul do Brasil, contra nove microrganismos a saber: *Bacillus subtilis* ATCC 21.332, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15.442, *Streptococcus mutans* Ingbritt 1600, *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923, *Klebsiella pneumoniae*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas vesicatoria* pv. *vesicatoria*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*. Concluíram que o extrato alcoólico de pólen apícola desta região não apresenta atividade inibitória, nem bactericida contra os microrganismos testados.

Porém, Pascoal et al. (2014) estudaram as atividades biológicas de pólen apícolas comerciais e suas funções antimicrobiana e antioxidante, e constataram que todas as amostras de pólen apícola tiveram atividade antimicrobiana substancial. Os resultados demonstraram que o pólen apícola possui uma boa atividade antioxidante, podendo atuar na prevenção de doenças em que os radicais livres estão implicados.

Quanto aos aspectos mercadológicos, Petersen et al. (2011) procuraram rastrear as possíveis vias e formas de comercialização do pólen apícola na América Latina, encontrando o produto na forma desidratada, misturada com mel, produtos cosméticos e concentrados na forma de óleo essencial.

3.3 Proteínas dos Alimentos

As proteínas dos alimentos são polímeros complexos e apresentam até 20 aminoácidos diferentes, que quando degradadas no sistema digestivo de

organismos vivos, liberam os aminoácidos essenciais. A ingestão dos aminoácidos é de extrema importância para os seres vivos, pois exercem funções importantes no organismo, sendo indispensáveis à dieta de seres humanos e animais (RODRIGUES; COELHO; CARVALHO, 2012). Através da alimentação adquirimos os aminoácidos que não são sintetizados pelo organismo (BEZERRA et al., 2012).

De acordo com Damoradan (2010), as proteínas são formadas por longas cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas. Estas proteínas desempenham função estrutural e dinâmica nas células, formando os componentes do esqueleto celular e das estruturas de sustentação, além de participar de praticamente todos os processos biológicos e serem responsáveis, também, pelo transporte de moléculas. As proteínas atuam no controle do metabolismo, sendo parte integrante dos mecanismos de defesa dos organismos, são responsáveis pela contração dos músculos e controlam a atividades dos genes (NELSON; COX, 2011). Segundo Coultate (2004) as proteínas apresentam peso molecular variando de 10.000 até vários milhões de Kilodaltons (kDa).

As proteínas, podem se apresentar sob as formas, a saber: primária, representada pelas ligações peptídicas entre os aminoácidos; secundária, representada por dobras na cadeia (α -hélice) que são estabilizadas por pontes de hidrogênio; a estrutura terciária, que apresenta maior grau de enrolamento, surgindo as pontes de dissulfeto para estabilizar a estrutura e a quaternária sendo uma estrutura bastante complexa, ocorrendo quando quatro cadeias polipeptídicas se associam através de pontes de hidrogênio (CONN; STUMPF, 2007):

As proteínas são os componentes mais críticos, escassos e caros da alimentação humana. Possuem funções estruturais e, além disso, apresentam outras funções indispensáveis para o funcionamento do organismo, atuando nas reações do metabolismo, do sistema imunológico e hormonal (SGARBIERI, 1996).

Smithers (2008), considera que as proteínas são um valioso ingrediente alimentar, pois apresentam importantes propriedades nutricionais e funcionais. Diante disso, vários métodos têm sido usados com o intuito da obtenção destas proteínas sem impacto indesejável nas suas propriedades, garantindo, desta forma, sua aplicação como ingrediente na indústria alimentícia.

As proteínas são utilizadas para desempenhar funções em sistemas alimentícios, tais como, absorção de água, formação e estabilidade de emulsão,

formação de gel e espuma, dentre outras, dependendo de numerosos fatores como conteúdo proteico, solubilidade, pH, concentração de sal e métodos de processamento (WANG; FERNANDES; CABRAL, 2000; SGARBIERI, 1996).

A soja tem sido a principal fonte de matéria prima usada para produção industrial de concentrados, hidrolisados e isolados de proteínas, devido ao seu alto teor de proteínas e bom desempenho tecnológico dos produtos. Entretanto, outras opções de matéria prima vem sendo adotadas como ingredientes proteicos na indústria de alimentos (TOMOSKOZI et al., 2001).

Concentrado proteico consiste do produto preparado a partir da farinha desengordurada. O processo de obtenção baseia-se na insolubilização da maioria das proteínas, resultando em um produto com teor de proteína elevado. O isolado proteico é definido como o produto contendo quase a totalidade da fração proteica, sendo removida a maior parte dos componentes não proteicos (SMITH; CIRCLE, 1972). Porém, as matérias primas com teor de proteína abaixo dos 30% não resultam em isolados proteicos, que satisfaçam essa definição em termos de teor mínimo de 90% de proteína, sem fazer uso de meios de extração drásticos (CARVALHO et al., 2009).

A hidrólise de proteínas, é um processo considerado importante que tem sido utilizado para melhorar propriedades físicas, químicas e funcionais dos alimentos, sem prejudicar seu valor nutritivo. Melhorando, particularmente, as características de absorção das proteínas, os hidrolisados devem ser osmoticamente equilibrados, hipoalergênicos e apresentar sabor aceitável, sendo que, o valor nutritivo do hidrolisado deve permanecer tão próximo da proteína original, quanto possível (PACHECO et al., 2005).

Os hidrolisados são aplicados em sopas, molhos, carne enlatadas, produtos de panificação e bebidas. São utilizados para aumentar o gosto de carne e seus produtos, pois, seu flavor é parecido com carne. Os hidrolisados de amido e caseína são mais claros, possuindo flavor mais suaves e são preferidos em produtos de peixe, aves e porcos, enquanto hidrolisados de soja, leveduras e glúten possuem forte flavor e cores mais escuras, e por esta razão, tem sido preferidos em preparações de produtos de bife e de carne de bode (POMERANTZ, 1991).

3.3.1 Análise eletroforética de proteínas

O princípio físico-químico que orienta a eletroforese é a capacidade de moléculas carregadas migrarem sob influência de um campo elétrico, ou seja, as moléculas com carga negativa migram para o polo positivo, e moléculas com carga positiva migram para polo negativo, em resposta a um campo elétrico, esta migração segue a Lei de Coulomb. A velocidade de migração das moléculas é proporcional ao campo elétrico e inversamente proporcional ao seu volume molecular. Assim, uma amostra submetida à eletroforese terá cada molécula constituinte localizada em uma zona do gel, sendo que, proteínas com menor tamanho passarão mais facilmente através da malha do gel, e, portanto, migrarão a uma distância maior (MORAES et al., 2013).

A eletroforese tem como objetivo principal a separação de moléculas orgânicas, como DNA, RNA e proteínas, de acordo com sua carga elétrica e volume molecular. Atualmente, existem dois modelos mais utilizados de eletroforese: um baseado em gel de agarose e outro em gel de poliacrilamida. Estes polímeros formam tramas de poros com tamanhos variáveis. São necessários dois componentes básicos para se realizar uma eletroforese: um campo elétrico (obtido através de uma fonte de corrente contínua) e a própria molécula carregada. Para visualização das moléculas separadas são utilizados diversos métodos de coloração de gel SDS-PAGE, o mais comum é o Coomassie Blue, capaz de detectar, no mínimo, 5 mg de proteína. Para quantidades menores de proteína pode-se utilizar a coloração com nitrato de prata. A coloração do gel é um passo importante, pois desta forma, pode ser visualizado as proteínas separadas pela eletroforese (SPEROTTO, 2014).

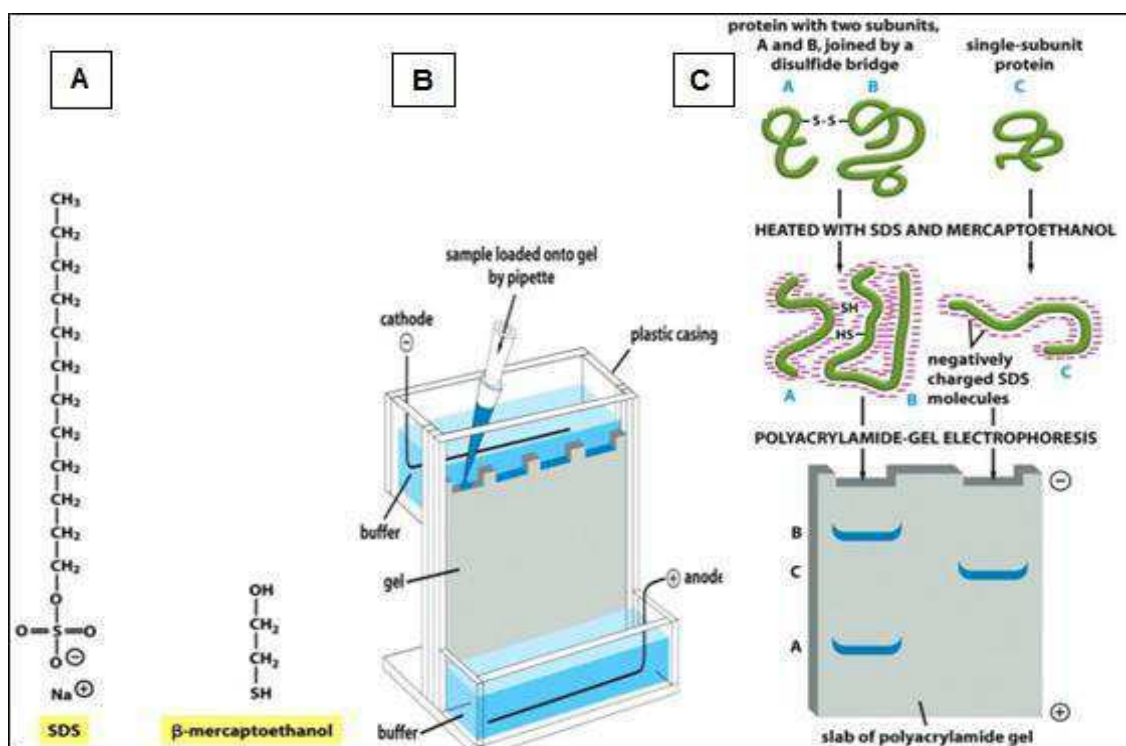
Na técnica, utiliza-se uma cuba com dois compartimentos separados. Os eletrodos determinam os pólos positivo e negativo em cada compartimento, onde é adicionada uma solução-tampão com sal, que conduz eletricidade. O gel é montado entre os dois compartimentos, de tal forma que, a única conexão elétrica entre os compartimentos seja através do gel (MORAES et al., 2013).

Geralmente, o sistema de eletroforese utilizado para análises proteicas é o sistema SDS-PAGE. Nesse sistema, utiliza-se gel de poliacrilamida (PAGE), que é formado por copolimerização de acrilamida e Bis-acrilamida (Bis) na presença de

persulfato de amônia (APS), tetrametiletenodiamina (temed) e dodecil sulfato de sódio (SDS). A proteína é extraída em tampão com controle de pH, desnaturada por aquecimento na presença de β -mercaptoetanol, que rompe as ligações dissulfeto, e os polipeptídios adquirem a carga negativa do SDS (BRAMMER, 2001), ilustrada na Figura 3.5.

A montagem das cubas de eletroforese em gel de poliacrilamida pode variar significativamente, de acordo com o modelo do equipamento. No geral, as cubas são verticais e o gel é polimerizado entre duas placas de vidro. A lavagem dos materiais utilizados deve ser realizada em local específico, assim como a vidraria de preparo dos géis deve ser de uso exclusivo dessa técnica (SPEROTTO, 2014).

Figura 3.5 - A) O detergente SDS e o agente redutor β -mercaptoetanol; B) O aparato de eletroforese; C) Cadeias individuais de polipeptídeos formando um complexo com o SDS, carregado negativamente e correndo em um gel de poliacrilamida.



Fonte: Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

A eletroforese em alimentos é usada para detectar compostos tóxicos em aditivos químicos como os corantes artificiais. A introdução no mercado de produtos fraudulentamente rotulados e de produtos de qualidade inferior, quer por razões econômicas, quer por razões de saúde pública, como por exemplo, a adição de leite de vaca ao leite de ovelha e/ou cabra para a preparação de queijo, a incorporação

de proteínas do soro na produção de queijos e a adição de caseínas, ou proteínas do soro a produtos alimentares, particularmente nos derivados de carne, podendo ser identificados através do peso molecular das proteínas (VELOSO et al., 2002; PRADO; GODOY, 2003).

O perfil eletroforético do pólen apícola foi determinado por Kostic et al. (2015), em 26 amostras coletadas de apicultores locais na Servia, em que foi observado as bandas proteicas variando entre 10 kDa a 80 kDa. Todas as amostras, exceto uma amostra, continha duas bandas principais com pesos moleculares de 77 kDa e 59 kDa, indicando a presença de proteínas similares em diferentes amostras de pólen apícola.

Martin-Munoz et al. (2010), realizaram um estudo de caso, utilizando a eletroforese para verificar qual o componente proteico do pólen apícola responsável pela reação alérgica em uma criança de 4 anos, os resultados apontaram para *Artemisia vulgaris* da família da Asteraceae, como a fonte alérgica do pólen responsável pela reação adversa sofrida pela criança, após a ingestão de pólen apícola.

3.3.2 Propriedades funcionais

A propriedade funcional é um parâmetro físico-químico que afeta o comportamento do alimento, ou de um dos seus componentes, durante seu processamento, armazenamento, preparo e consumo, influenciando nas propriedades sensoriais. As proteínas nos alimentos podem ser influenciadas pela composição e sequência de aminoácidos, estruturas em que se encontram, bem como a polaridade. As principais propriedades funcionais das proteínas em alimentos são: capacidade de retenção ao óleo, capacidade emulsificante e capacidade de retenção de água (KINSELLA, 1976).

Os ingredientes proteicos devem possuir propriedades extrínsecas (flavor, textura e cor) aceitáveis, bom valor nutricional e propriedades funcionais adequadas para uma variedade de aplicações, sendo as propriedades funcionais, de extrema importância na determinação da qualidade do produto final, além de facilitar o processamento. Para a indústria de alimentos é importante a caracterização dessas propriedades nos produtos que apresentam potencial para serem comercializados,

assim como, a avaliação do efeito dos processamentos sobre tais propriedades (NAVES et al., 2010).

3.3.2.1 Solubilidade proteica

A solubilidade pode ser caracterizada em termos de uma escala de hidrofobicidade, e resulta de propriedades dos grupos hidrofílicos, que estão situados na superfície da molécula, e hidrofóbicos, encontrados no interior da estrutura proteica (NASCIMENTO, 2013). Esta propriedade relacionada com o equilíbrio das interações proteína-proteína e proteína-água, resultando na precipitação e hidratação da proteína, respectivamente (KARACA; LOW; NICKERSON, 2011). Solubilidade da proteína pode ser afetada por fatores extrínsecos, como pH, temperatura e força iônica (BOLONTRADE; SCILINGO; ANÓN, 2013).

A principal característica funcional dos ingredientes proteicos como farinhas desengorduradas e concentrados proteicos é a solubilidade, devido sua atuação na maioria das outras propriedades, tais como: geleificação, capacidade espumante e emulsificante. Assim sendo, o conhecimento da habilidade das proteínas em combinar água à sua estrutura é importante para a maioria das aplicações alimentares (CHOU e MORR, 1979).

A solubilidade da proteína é tida como critério de qualidade, que ao ser realizada em diferentes índices de pH atua como indicador de desempenho dos co-produtos proteicos nos alimentos, como os concentrados e isolados (KAUR; SINGH, 2007). No processo de obtenção desses isolados e concentrados devem ocorrer em condições favoráveis de extração com o intuito de alcançar máxima solubilidade da proteína (PERICIN et al., 2008). Para utilização da proteína, geralmente uma solubilidade alta é considerada um requisito para que a funcionalidade proteica atinja as expectativas nos alimentos (SCHWENZFEIER; WIERENGA; GRUPPEN, 2011).

O perfil da solubilidade é um indicador do potencial da funcionalidade, pois uma alta solubilidade na região alcalina direciona a proteína para utilização em produtos de panificação e uma alta solubilidade em meio ácido conduz à utilização da proteína na fabricação de bebidas (NASCIMENTO, 2013).

Segundo Vojdani (1996), com a diminuição da solubilidade proteica esta afeta desfavoravelmente a funcionalidade, sendo verificado nas proteínas, que quando

usadas para funcionalidade, tenham elevada solubilidade para promover emulsão, espuma, geleificação entre outras propriedades.

3.3.2.2 Capacidade de absorção de água (CAA)

A estimativa da capacidade de absorção de água é importante na escolha da fonte proteica, ideal a participar de um processamento de alimento, pois quando essa capacidade é elevada torna o alimento frágil não sendo viável a indústria alimentícia (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010). Com base nisso, a capacidade de absorção de água pode ser útil na identificação de compostos proteicos e farinhas a serem adicionados nas formulações de cada alimento específico (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004).

A propriedade funcional de capacidade de absorção de água está relacionada com a interação proteína-água, intumescimento, sorção, ligação e retenção de água, são importantes na elaboração dos alimentos, sobretudo, de produtos derivados da carne como embutidos, salsichas, almôndegas, salgados, produtos de panificação e confeitaria, como por exemplo, tortas, massas, doces, pudins, cremes de cobertura de sobremesas; nos quais as proteínas devem reter água sem dissolver e ao mesmo tempo, conferir corpo. Portanto, é dependente de fatores extrínsecos, tipo e composição do material proteico, tempo em água, pH e força iônica do meio e temperatura do processo, e de propriedades intrínsecas das proteínas, estrutura e organização espacial das proteínas do material (LOURENÇO, 2000).

Essa propriedade funcional é uma indicação da quantidade de água retida no componente proteico sob condições específicas definidas. Pois, pode modificar as propriedades dos produtos alimentícios e influir de forma crítica na aceitabilidade do produto final, como ocorre nos produtos com baixo teor de umidade, nos quais o fator determinante de sua aceitabilidade é a capacidade de retenção de água das proteínas (CHOU; MORR, 1979).

A capacidade de retenção de água, quando as proteínas são utilizadas como componentes de produtos alimentícios, determina sua qualidade (aparência, textura, suculência, etc.). Essas propriedades têm sido usadas como critério para a seleção de proteínas a serem adicionadas a alimentos formulados, especialmente, derivados de carne (LIN; ZAYAS, 1987).

3.3.2.3 Capacidade de absorção de óleo (CAO)

A capacidade de absorção de óleo é uma propriedade funcional importante principalmente porque aumenta a retenção do flavor e melhora, consideravelmente, a sensação na boca (NASRI; TINAY, 2007). Esse parâmetro é essencial à utilização de concentrados proteicos na elaboração de alimentos, pois, com elevada CAO são favoráveis à produção de produtos como salsichas, massas de bolo, maioneses e molhos para salada (MARIOD; FATHY; ISMAIL, 2010).

Segundo Silva-Sanchez et al. (2004), esta propriedade pode determinar se o material proteico desempenhará, satisfatoriamente, em produtos cárneos, tendo em vista que, o mecanismo de absorção de óleo é atribuído principalmente à hidrofobicidade das moléculas proteicas. Tal propriedade determina a qualidade e rendimento dos produtos acabados, favorecendo ainda, a utilização do alimento proteico na produção de linguiças, patês, salsichas, bolos e massas. O mecanismo de retenção do óleo é atribuído às moléculas proteicas (CARVAJAL, 2009).

3.3.2.4 Propriedades emulsificantes

As proteínas são de interesse da indústria de alimentos, em termos de suas propriedades emulsificantes, e devido à sua natureza anfifílico e habilidades de formação de película (FOEGEDING; DAVIS, 2011). Emulsionante ou emulsificante é a substância que torna possível a formação ou manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento (BRASIL, 1997).

Na indústria de alimentos, emulsões são misturas em água-óleo, no caso da margarina e manteiga, ou misturas em óleo-água, no caso do leite, cremes, molhos para salada, maionese e sopas. Um terceiro componente ou combinação de diversos componentes é requerido para conferir estabilidade a emulsão (PAL, 2011).

As emulsões são conhecidas por conferir características desejáveis de sensação bucal para o alimento, mas, além disso, elas são ingredientes chave na formação de estruturas em grande variedade de produtos alimentares, tais como cremes de café, licores, algumas bebidas de fruta e muitos produtos à base de carne (DALGLEISH, 2004).

De acordo com Schultz et al. (2004), as emulsões são formadas através da indução de cisalhamento mecânico de mistura ou usando um homogeneizador, uma válvula de alta pressão, ou por meio de um homogeneizador de aspensão, de modo a criar pequenas gotículas de um líquido disperso no outro. As emulsões também podem ser formados na presença de um agente emulsionante, o qual compreende de ambos os componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, que se integram na interface óleo-água ou água-óleo para reduzir a tensão interfacial (BOS; VAN VLIET, 2001).

Estabilizante é a substância que torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento. Então, todo emulsificante é um estabilizante, mas nem todo estabilizante é um emulsificante. A formação e estabilização de emulsões de substâncias não miscíveis entre si, permitem a fabricação de produtos estáveis cuja homogeneização facilita o processo industrial e os aspectos sensoriais dos alimentos (SANTOS, 2008).

3.3.2.5 Propriedades espumantes

A capacidade de uma proteína para formar espumas se refere à expansão de volume da dispersão proteica com a incorporação de ar por batimento, agitação ou aeração. As proteínas podem agir como estabilizantes desse sistema, acumulando-se na interface ar-água, alterando as propriedades de superfície. As bolhas são separadas por uma camada de líquido, denominada de lamela, formando uma interface gás-líquido de elevada proporção, resultando num filme adsorvido nesta região que previne a coalescência das bolhas de ar (HALLING, 1981; SGARBIERI, 1996).

A capacidade de formar espuma estável em presença de ar é uma propriedade funcional importante das proteínas em muitos produtos alimentícios do tipo bolos, suspiros, suflês, vários tipos de cobertura de bolos e sobremesas, além de bebidas como as cervejas (SATHE; SALUNKHE, 1981). Segundo Penfield e Campbell (1990) a espuma é uma propriedade funcional de interfase que depende da natureza, da solubilidade e do seu estado de desnaturação, da presença de sais e de outros aditivos utilizados no processamento dos alimentos.

Existem duas formas mais utilizada para medir esta propriedade: a atividade espumante e a estabilidade espumante. Atividade espumante, indica quando uma

proteína tem a capacidade de formar espuma e em que medida acontece o aumento do volume sobre o volume da solução. Já a estabilidade de uma espuma, se refere à habilidade que uma espuma formada tem para reter o máximo do volume, após um tempo de repouso (KINSELLA, 1976).

As propriedades das proteínas para formar e estabilizar espumas, tem vasta aplicação na indústria de alimentos, como na fabricação de suflês, suspiros, produtos de confeitaria e panificação (TOWNSEND, NAKAI, 1983; CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

3.3.3 Fatores que influenciam na funcionalidade da proteína

3.3.3.1 Efeito do pH

O pH tem forte influência sobre as propriedades funcionais das proteínas, visto que, várias propriedades funcionais estão sujeito ao estado de ionização de grupos ionizáveis na molécula proteica (SGARBIERI, 1996).

A mudança de pH altera a distribuição de sítios catiônicos, aniônicos e não iônicos na molécula de proteína, que por sua vez, afeta as interações água-proteína e proteína-proteína. Comumente, as proteínas são mais solúveis em valores de pH baixos (ácidos) e altos (alcalinos), devido ao excesso de cargas do mesmo sinal, produz repulsão entre as moléculas aumentando a solubilidade água-proteína (PELEGRINE, GASPARETTO, 2005).

Segundo Damoradan (2010), quando uma solução de proteína está no seu ponto isoelétrico, as interações proteína-proteína aumentam, pois as forças eletrostáticas moleculares estão num mínimo, conseqüentemente, menos água interage com as moléculas de proteína, condição favorável para que as moléculas de proteína se aproximem, agreguem e precipitem. Ou seja, quanto mais próximo for o pH de uma solução proteica do seu ponto isoelétrico, mais baixo será a sua solubilidade.

3.3.3.2 Efeito do sal

A adição de sais também podem afetar as interações eletrostáticas entre as macromoléculas, contribuído pela força iônica (DAMODARAN, 2010). Entretanto, isto depende da concentração e tipo de sal presente no meio. Uma concentração de 0,1 a 1,0 mol/L podem causar mudanças na estrutura da água e na conformação das proteínas aumentando a solubilidade (KINSELLA, 1982).

Em baixas concentrações de sais, a solubilidade em geral aumenta, quando adicionamos pequenas quantidades de sal a uma solução contendo proteínas, as cargas provenientes da dissociação do sal passam a interagir com as moléculas proteicas, diminuindo a interação entre elas. Conseqüentemente, temos um aumento da solubilidade da proteína no meio aquoso "salting-in" (SGARBIERI, 1996).

Em condições de elevada força iônica, decorrente do aumento da concentração de sal, os sais de sulfatos e fluoretos decrescem a solubilidade progressivamente, a esse fenômeno de insolubilização da proteína em decorrência de um considerável aumento da força iônica do meio dá-se o nome de "salting-out" (DAMODARAN, 2010). Como resultado, menos solvente fica disponível para participar da camada de solvatação das proteínas e estas, conseqüentemente, expõem as ramificações hidrofóbicas na superfície (FERREIRA, 2008).

A precipitação de proteínas pela adição gradativa de sais é um processo importante para a separação de misturas complexas de proteínas, uma vez que, a concentração de sal necessária para precipitação é diferente para cada proteína. As moléculas de água, interagem mais fortemente com os íons provenientes da dissociação do sal, promovendo desta forma, a desidratação das proteínas. Durante esse processo, a interação proteína–proteína se torna mais forte, diminuindo a solubilidade das mesmas em meio aquoso e, conseqüentemente, precipitação das proteínas (LIMA et al., 2008).

Existem na literatura várias referências utilizando sais ou mudança de pH para melhorar a solubilidade das proteínas, dentre eles está Fontanari (2006) que verificou a influência do tipo de sal (NaCO_3 , Na_2CO_3 e NaCl) na extração das proteínas da farinha de semente de goiaba, e, observou que a maior quantidade de proteína solubilizada na extração, ocorreu ao utilizar o NaOH 60,7%, seguido por

Na_2CO_3 com 53,2%. Já o NaCl solubilizou apenas 8,44% das proteínas de semente de goiaba.

O efeito do pH, da concentração e do sal (Cloreto de Sódio, Sulfato de Sódio e Citrato de Sódio) na solubilidade da farinha da semente de jaca foi estudada por Santos, (2009), constatando que ao adicionar citrato de sódio na concentração de 0,25 mol/L, nos pHs 2,0 e 10,0, a solubilidade aumenta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal, Paraíba-Brasil. A matéria prima utilizada foi adquirida dos Apiários 'Seiva das Flores' localizados na cidade de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil. As amostras foram obtidas a partir do produto processado (pólen apícola desidratado), de acordo com a metodologia estabelecida pela legislação vigente, estando dentro do prazo de validade.

4.1 Obtenção da Farinha do Pólen Apícola Desidratado

O pólen apícola desidratado foi triturado em liquidificador industrial (marca Fak-600 W) com velocidade máxima para obter uma granulometria típica de farinha, após esta etapa, o produto foi armazenado em sacos plásticos à temperatura ambiente até o momento da realização das análises.

4.2 Caracterização do Pólen Apícola Desidratado

4.2.1 Umidade

O pólen apícola foi analisado em relação ao teor de umidade através de secagem sob-irradiação infravermelha, em equipamento composto por balança eletrônica de precisão, adaptado com secador infravermelho, ajustado para 85 °C, até peso constante, conforme descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.2 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por gravimetria após incineração do material, em forno mufla a 550 °C, segundo Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.3 Lipídeos

A determinação de lipídeos consistiu na extração semicontínua, com éter etílico como solvente em aparelho Soxhlet durante 8 horas, conforme Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.4 Proteínas

Utilizou-se o método Micro-Kjeldahl e um fator de 6,25, para conversão do nitrogênio total em proteínas, conforme descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.5 Acidez livre

Acidez livre foi realizada por titulometria, com solução padronizada de NaOH 0,05 mol/L e verificação de pH até 8,5, segundo método descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.6 pH

A concentração de íons de hidrogênio foi realizada em pHmetro digital de bancada, conforme descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.7 Açúcares totais

Utilizou-se o método modificado de “Lane e Eynon”, conforme descrito por Almeida-Muradian, Arruda e Barreto (2012).

4.2.8 Compostos fenólicos totais

Os teores de fenólicos totais foram estimados pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando como padrão o ácido gálico, sendo a leitura feita em espectrofotômetro a 765 nm (WATERHOUSE, 2006).

4.2.9 Flavonóides totais e antocianinas

As análises de flavonóides totais e antocianinas foram determinadas segundo o método descrito por Francis (1982), com modificações. Sendo que 0,1g da amostra foi macerada com 40 mL de Etanol-HCl (85:15 v/v) por um minuto. O extrato foi recolhido em tubo de ensaio e deixado em repouso por 24 horas sob refrigeração, após esse período, o extrato foi filtrado e seguiu-se com leitura das absorvâncias em espectrofotômetro a 374 nm para flavonoides e a 535 nm para antocianinas. As concentrações de flavonóides foram calculadas por meio da equação 1 e de antocianinas pela equação 2:

Equação (1):

$$\text{Flavonóides (mg/100g)} = \left(\frac{\text{Fd} * \text{abs}}{76,6} \right)$$

Equação (2):

$$\text{Antocianinas (mg/100g)} = \left(\frac{\text{Fd} * \text{abs}}{98,2} \right)$$

Em que: Fd = 100/(massa(g)/volume da diluição(mL)), Abs = leitura da absorvância.

4.3 Obtenção da Farinha Desengordurada

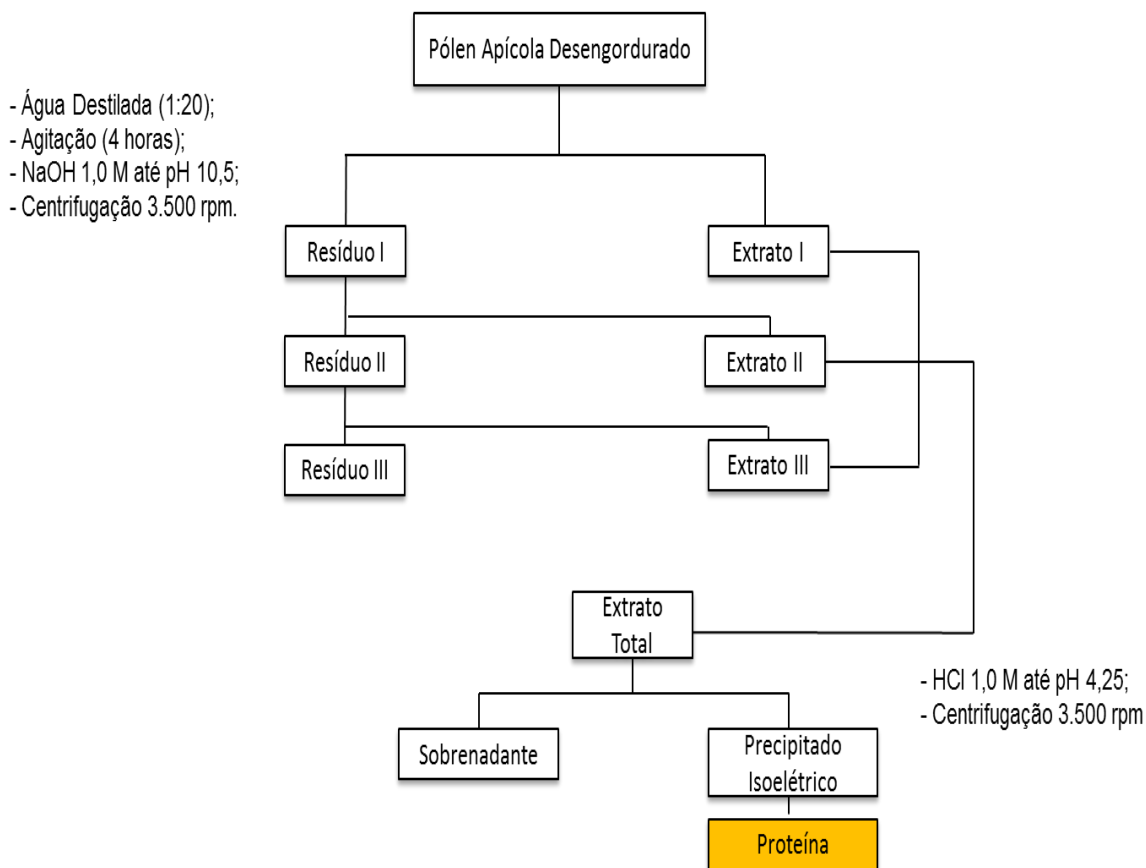
A farinha integral foi desengordurada a frio utilizando hexano como solvente durante 72 horas. Esta foi acondicionada em bandeja plástica para a dessolventização à temperatura ambiente, durante 24 horas, e em seguida, armazenada em recipiente plástico sob temperatura ambiente até o uso.

4.4 Obtenção do Concentrado Proteico

A preparação do concentrado proteico do pólen apícola seguiu os métodos descritos por McWatters e Holmes (1979), como apresentado na Figura 4.1. Adicionou-se ao pólen apícola triturado, água destilada na proporção de 1:20, no qual foi agitado por 4 horas. O pH foi ajustado a 10,5 com hidróxido de sódio 0,1 M. O extrato obtido foi centrifugado e o resíduo extraído por duas vezes nas mesmas condições. Os sobrenadantes foram então combinados, e mediu-se a concentração

de proteína solúvel pelo método do Biureto (GORNALL; BORDAWILL; DAVID, 1949). Em seguida, o pH foi ajustado para 4,25, com ácido clorídrico a 0,1 M. Após precipitação, o extrato total foi centrifugado. As proteínas precipitadas isoeleticamente foram liofilizadas, e então, armazenadas em vidro sob-refrigeração a 5 °C.

Figura 4.1 - Fluxograma de obtenção do concentrado proteico do pólen apícola



4.5 Análise Eletroforética

A análise eletroforética foi realizada na farinha do pólen apícola e no concentrado proteico, onde foi utilizado o sistema PAGE-SDS 2βMe, descrito por Laemmli (1970), adaptado para o uso de géis de separação em placas. As amostras foram tratadas a 110 °C por 30 minutos, e centrifugadas a 5.000 rpm por 2 minutos. Os extratos foram separados e alíquotas aplicadas nos poços do gel. A corrida eletroforética foi realizada a voltagem constante de 200 V. Após a eletroforese, o gel foi corado em Coomassie blue R-250 a 0,05% preparado em metanol, ácido acético e água (1:3,5:8, v/v/v). Em seguida, foi desidratado com álcool etílico a 50% e

corado com uma solução de 0,2% de nitrato de prata por 20 minutos. Após adicionada a solução reladora das unidades proteicas com carbonato de sódio a 6,0% e 0,05% de formaldeído, bem como 2% tiosulfato de sódio. O gel foi agitado até aparecimento das unidades proteicas. A reação foi parada com uma solução de ácido acético a 13%.

O gel corado foi fotografado em scanner e a imagem obtida processada através do programa Image J (National Institute of Health - NIH, EUA). O resultado foi expresso em gráfico com picos em série, sendo cada pico correspondente a uma subunidade proteica separada. O número de gráficos dispostos no espaço cartesiano dos eixos X (distancia) e Y (densidade ótica) corresponderão ao número de produtos aplicados no gel.

4.6 Propriedades Funcionais

4.6.1 Solubilidade

4.6.1.1 Solubilidade da farinha do pólen apícola

A solubilidade das proteínas foi determinada de acordo com Dench, Rivas e Caygill (1981) com algumas modificações. Amostras equivalentes a 1g da farinha foram postas em contato com 60 mL de água destilada. Sob agitação contínua, em agitador magnético, na temperatura ambiente, o pH foi ajustado em valores de 2,0 a 11,0 com ácido clorídrico a 0,1 M e hidróxido de sódio a 0,1 M. A dispersão foi agitada em agitador magnético durante 2 h, e depois, centrifugada a 3000 rpm durante 10 min. Logo após esse procedimento, o volume nos tubos foi medido e as alíquotas retiradas para a determinação de proteínas solúveis pelo método do Lowry (1951). O resultado foi expresso como índice de proteínas solúveis, em percentual, conforme equação 3.

Equação (3):

$$\text{Solubilidade (\%)} = \left(\frac{\text{Quantidade de proteína no sobrenadante}}{\text{Quantidade de proteína na amostra}} \right) \times 100$$

4.6.1.2 Efeito do pH e da concentração de sal na solubilidade da farinha do pólen apícola

Determinada de acordo com Dench, Rivas e Caygill (1981) com a seguinte modificação, a solubilidade foi avaliada com o efeito do pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0, da concentração 0,20 mol/L; 0,25 mol/L e 0,30 mol/L e do tipo dos seguintes sais Citrato de Sódio, Cloreto de Sódio e do Sulfato de Sódio. O percentual foi calculado em (g de proteína/100 g da solução).

4.6.1.3 Solubilidade das proteínas do concentrado proteico

Foram tomadas 125 mg das amostras e dispersos em 25 mL de água destilada, juntando-se os valores de pH das soluções em 2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0 e 10,0, empregando-se HCl (0,1 M) e NaOH (0,1 M), sob agitação constante, feita em um agitador magnético em temperatura ambiente. As suspensões obtidas foram centrifugadas a 2263 G, durante 40 minutos a 4 °C. A proteína contida no sobrenadante foi determinada pelo método de Lowry. O percentual foi calculado de acordo com a equação 3.

4.6.2 Capacidade de absorção de água e óleo

A metodologia utilizada foi a de Glória e Regitano D'arc (2000).

4.6.2.1 Capacidade de absorção de água (CAA)

Uma amostra de 0,5 g da farinha do pólen apícola e do concentrado proteico foi homogeneizada em 5 mL de água destilada, em tubo de centrífuga graduado por 1 minuto e deixando em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente (22 – 25 °C) e, em seguida, foi centrifugada por 30 minutos a 2600 rpm (1200 x G). A água retida após a centrifugação, foi considerada como água absorvida. O sedimento no tubo da centrífuga, foi pesado e a capacidade de absorção de água (CAA) calculada pela equação 4:

Equação (4):

$$\%CAA = (PS/PAS) \times 100$$

Em que: CAA é a capacidade de absorção de água; PS é a massa do sedimento em gramas; PAS é a massa de amostra seca em gramas.

4.6.2.2 Capacidade de absorção de óleo (CAO)

Uma amostra de 0,5 g da farinha do pólen apícola e do concentrado proteico foi homogeneizada com 3 g de óleo de soja refinado (óleo de soja SOYA Bunge - Indústria Brasileira) em tubo de centrífuga graduado por 1 minuto, e deixado em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente (22º - 25 °C). Em seguida, foi centrifugada durante 30 minutos a 2.600 rpm. O sedimento no tubo da centrífuga, foi pesado e a capacidade de absorção de óleo (CAO), calculado pela equação 5.

Equação (5):

$$\%CAO = (PS/PAS) \times 100$$

Em que: CAO é a capacidade de absorção de óleo; PS é a massa do sedimento em gramas; PAS é a massa de amostra seca em gramas.

4.6.3 Atividade de emulsão

Utilizou-se o método de Yasumatsu, Sawada e Moritaka (1972), com adaptações, onde as emulsões foram preparadas com 2g da farinha do pólen apícola, 20 mL de água destilada fria (4 °C) e 20 mL de óleo (óleo de soja SOYA Bunge - Indústria Brasileira), em um tubo de centrífuga de 50 mL e, depois, as amostras foram agitadas durante 3 minutos em vortex. Os tubos foram imediatamente centrifugados a 2600 rpm durante 10 minutos. A atividade de emulsão foi avaliada com o efeito do pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0, da concentração 0,20 mol/L; 0,25 mol/L e 0,30 mol/L e do tipo dos seguintes sais citrato de sódio, cloreto de sódio e do sulfato de sódio. O resultado da atividade de emulsão foi expresso como percentual de emulsão formada no volume total através da seguinte equação 6:

Equação (6):

$$\text{Atividade de Emulsão (\%)} = \left(\frac{\text{Altura da camada de emulsão}}{\text{Altura da camada inteira}} \right) \times 100$$

4.6.4 Estabilidade da emulsão

Estabilidade da emulsão foi medida por centrifugação das amostras da farinha do pólen apícola, após o aquecimento da emulsão num banho-maria a 80 °C durante 30 minutos e o esfriamento até à temperatura ambiente (27 °C). A estabilidade de emulsão foi avaliada com o efeito do pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0, da concentração 0,20 mol/L; 0,25 mol/L e 0,30 mol/L e do tipo dos seguintes sais citrato de sódio, cloreto de sódio e do sulfato de sódio. A altura da camada emulsionada, como uma percentagem da altura total do material foi utilizada para calcular a estabilidade de emulsão com a seguinte equação 7:

Equação (7)

$$\text{Estabilidade de Emulsão (\%)} = \left(\frac{\text{Altura da camada de emulsão após aquecimento}}{\text{Altura da camada inteira}} \right) \times 100$$

4.6.5 Capacidade e estabilidade de formação de espuma

A capacidade e estabilidade de formação de espuma foram determinadas pelo método de Narayana e Narasinga Rao (1982), onde 2g da farinha do pólen apícola foram pesadas e transferidas para um misturador elétrico padrão. Adicionou-se 100 mL de água destilada e a suspensão foi misturada a 12.000 rpm durante 6 minutos a 27 °C. O conteúdo foi imediatamente transferido para uma proveta de 250 mL e o volume da espuma gravada. A capacidade de formação de espuma foi expressa como a percentagem de aumento de volume. A estabilidade da espuma foi determinada através da monitorização da queda do valor da capacidade de formação de espuma em função do tempo, depois de 60 minutos. As determinações foram realizadas com ajustes em pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e nas concentrações e nos tipos de sais estudados para as demais propriedades.

4.7 Análise Estatística

Os resultados das análises foram submetidos à análise estatística denominada teste de tukey, considerando-se o nível de probabilidade de erro (p) menor que 5%, para determinar a significância, sendo analisados estatisticamente utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do Pólen Apícola Desidratado

As caracterizações físico-químicas e bioativas do pólen apícola desidratado estão apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Análises físico-químicas e bioativas do pólen apícola desidratado

Parâmetros Avaliados	Pólen Apícola Desidratado	Padrão
Umidade (%)	2,24 ± 0,25	Máximo 4%
Cinzas (%)	3,36 ± 0,81	Máximo 4%
Proteínas (%)	25,67 ± 2,71	Mínimo 8%
Lipídios (%)	2,72 ± 0,57	Mínimo 1,8%
Açúcares Totais (%)	20,07 ± 1,04	14,5% a 55,0%
pH	4,70 ± 0,01	4 a 6
Acidez Livre em mEq/Kg	170,90 ± 5,02	Máximo 300 mEq/kg
Compostos Fenólicos Totais mg/g	5,50 ± 0,79	-
Flavonóides Totais mg/g	1,92 ± 0,13	-
Antocianinas mg/g	0,03 ± 0,01	-

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata.

Padrão ANVISA Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

O pólen apícola desidratado apresentou teor de umidade de 2,24%, valor dentro do indicado pela ANVISA (BRASIL, 2001). Melo e Almeida-Muradian (2011) compararam seis métodos de determinação de umidade em amostras de pólen apícola desidratado e obteram resultados superiores, entre 3,96% e 10,02 de umidade. Valores de umidade variando de 2,09 a 6,75% foram encontrados por Barreto et al. (2006), ao analisarem amostras de pólen apícola desidratado de diferentes regiões do Brasil, porém, realizaram a análise por secagem em estufa a 105 °C, conforme métodos analíticos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008), enquanto neste trabalho, utilizou-se a técnica de determinação de umidade por Infravermelho a 85 °C.

O teor de cinzas encontrado no presente trabalho, revelou 3,36%, indicando que o valor das amostras estão dentro da legislação vigente. Porém, para Sattler (2013), Barreto et al. (2005) e Melo et al. (2009) os resultados encontrados foram

superiores, cujos valores médios de 2,0%, 2,9%, 3,08%, respectivamente. Azevedo et al. (2009) obtiveram valores superiores em cinzas 3,6%. O pólen apícola é rico em minerais (cálcio, cloro, cobre, ferro, magnésio, iodo, cobalto, molibdênio, selênio, estrôncio, estanho, boro, flúor, vanádio, cromo, fósforo, potássio, silício, enxofre, alumínio, ferro, manganês, níquel, titânio e zinco), tal parâmetro é importante, pois valores altos indica que o pólen, pode não ter sido bem limpo no seu processamento (LEGLER, 2002).

O valor médio de 25,67% de proteína encontrada nesta pesquisa demonstra a riqueza desse alimento em material proteico. Valores próximos foram obtidos por: Funari et al. (2003), 26,20% de proteína para o pólen apícola coletado na região de Botucatu São Paulo – Brasil; Sattler (2013) com 23,64% de proteína e 21,58% por Marchini, Reis e Moreti (2006), no qual trabalharam com pólen apícola de sete estados do Brasil e do Distrito Federal. No entanto, a quantidade de proteínas encontrada no presente trabalho, assumiu valor inferior aos 30,4%, corroborando com os resultados de Costa (2000), em Maringá Paraná - Brasil, e Barreto (2004), em que obteve 15,78% de proteína. Os índices deste nutriente no pólen apícola podem variar de 12% a 61%, dependendo da origem botânica (ROULSTON et al., 2005).

A média para o índice de lipídeos obtido nesta pesquisa (2,72%) foi dentro do limite mínimo de 1,8% preconizado pela legislação brasileira. Este resultado corrobora com a média observadas por Pinto, Campos e Barreto (2012), em que obtiveram 2,8%. Porém, valores maiores foram encontrados por Melo et al. (2009), Arruda et al. (2013) em amostras de pólen obtidas no estado de São Paulo – Brasil, apresentando as seguintes médias: 4,97% e 5,40% respectivamente. Esse resultado diverge da média obtida por Almeida-Muradian (2006) para pólen apícola recém-processado (6,0%).

Em relação a açúcares totais, o valor para amostras de pólen apícola (20,07%) foi menor em comparação com os valores obtidos por Barreto et al. (2012) e Arruda (2009), nas quais obtiveram valores de 30,20% e 50,00%, respectivamente. Portanto, as amostras apresentaram-se dentro do intervalo estabelecido pela legislação brasileira vigente, em que inferi o intervalo de 14,5% a 55,0% (Tabela 5.1).

Para acidez livre, os dados obtidos foram de 170,90 mEq/kg. Resultado este, compatíveis com Barreto, Funari e Orsi (2006), em que abordaram valores médios de 164,75 mEq/kg. Mas, foram menores comparados com os obtidos por Almeida et al. (2012) (474,52 mEq/kg) para pólen desidratado. Segundo Barreto et al. (2006), a acidez livre consiste em um fator que depende dos tipos polínicos presentes no pólen apícola. As amostras analisadas apresentaram-se dentro do limite de 300 mEq/kg, estabelecido pela legislação brasileira.

Na Tabela 5.1, pode ser observado que o pH encontrado na amostra de pólen apícola desidratado, foi de 4,70, apresentando dentro da Instrução Normativa vigente que permite a variação de pH entre 4 a 6. Nas avaliações do pH do pólen apícola desidratado, Rocha (2013), obteve índices maiores dos obtidos neste trabalho, 5,60, enquanto, Pinto, Campos e Barreto (2012) revelaram índices menores de pH 4,5.

Os resultados obtidos para compostos fenólicos (5,50 mg/g) foram inferiores aos determinados por Carpes et al. (2008) e Feás et al. (2012) 30,77 mg/g e 16,40 mg/g, respectivamente. Kroyer e Hegedus (2001) em seu estudo sobre as propriedades bioativas do pólen apícola encontraram 8,2 mg/g de compostos fenólicos, analisando o pólen apícola *in natura*, o qual foi aumentado para 24,6 mg/g, quando as análises foram realizadas a partir do extrato etanólico. Carpes et al. (2009), obteve valores de 8,1 mg/g para o pólen apícola proveniente do sul do Brasil, valores próximos aos do nosso estudo. Campos et al. (2003) verificou que em amostras de pólen de Portugal e de Nova Zelândia a concentração de compostos fenólicos variaram entre 10,00 mg/g a 32,5 mg/g.

O teor de flavonóides totais foi de 1,92 mg/g, os valores obtidos são inferiores aos encontrados por Rocha (2013), obtendo 6,99 mg/g e 11,34 mg/g em seu estudo sobre o efeito de dois processos de secagem do pólen apícola, índices próximos aos desta pesquisa foram obtidos por Menezes (2009), variando de 0,62 mg/g a 2,51 mg/g, com média de 1,40 mg/g, em seu estudo sobre compostos bioativos do pólen apícola.

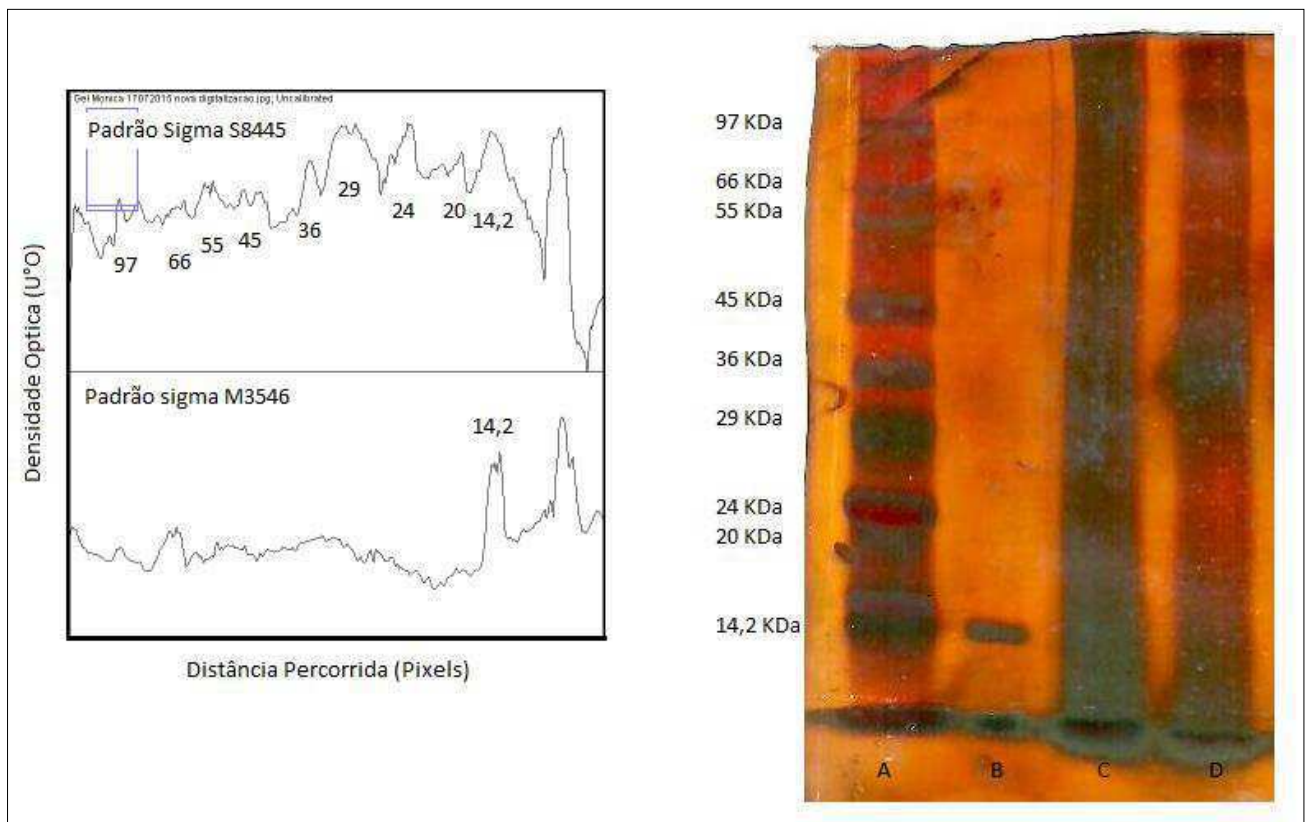
A concentração média obtida para antocianinas foi de 0,03 mg/g. Esse resultado foi superior ao obtido por Leja et al. (2007), em que estudaram os constituintes fenólicos e a capacidade antioxidante do pólen apícola de 12 espécies

diferentes da região da Krakow (Polônia), obtendo concentração entre 0,91 mg/g e 3,27 mg/g de antocianinas.

5.2 Análise Eletroforética

O pólen apícola e o concentrado proteico apresentaram perfil eletroforético, no sistema PAGE-SDS-2 β Me, com suas bandas reveladas conforme observado na Figura 5.1.

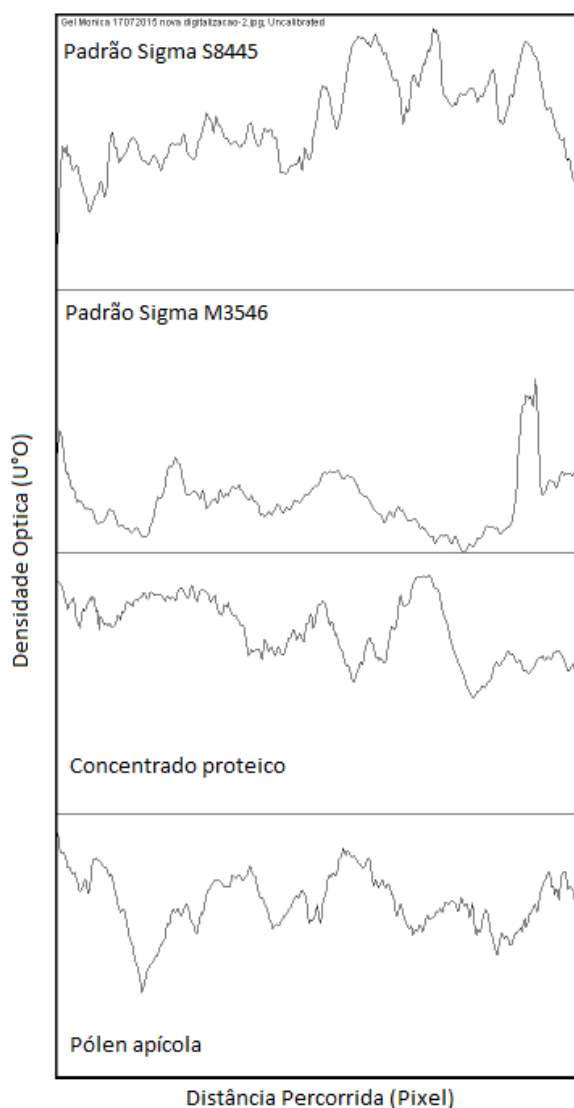
Figura 5.1 - Análise densitométrica (A) e eletroforética (B) em sistema PAGE-SDS-2 β Me das proteínas presentes no pólen apícola coradas em nitrato de prata (Legenda: Faixa A – padrão Sigma - S8445; Faixa B – padrão Sigma M 3546; Faixa C – Concentrado proteico; Faixa D – Pólen apícola)



Pode ser observado que, a partir das unidades reveladas no gel com nitrato de prata (Figura 5.1B), o pólen apícola apresentou 6 unidades reveladas e o concentrado proteico 5 unidades reveladas. Os padrões utilizados no gel em análise foram analisados densitometricamente, onde os pesos moleculares revelados apresentados foram os de 97, 66, 55, 45, 36, 29, 24, 20 e 14,2 kDa apresentados na Faixa A do gel (Figura 5.1A) e o outro padrão, Faixa B, apresentou uma unidade

revelada relativo ao peso molecular 14,2 kDa, porém as bandas de polipeptídios reveladas da amostra, mais e menos proeminentes, também foram indicadas através da Figura 5.2, relacionadas à análise densitométrica, onde os picos representam as subunidades proteicas separadas.

Figura 5.2 - Análise densitométrica da eletroforese em gel de poliacrilamida



O concentrado proteico e o pólen apícola apresentaram o mesmo número de unidades reveladas, com pesos moleculares próximos, porém com diferença nos seus conteúdos. O pólen apícola apresentou unidades reveladas de 93,11 KDa (12,38%), 62,95 KDa (8,71%), 48,24 KDa (16,26%), 35,27 KDa (9,29%), 28,33 KDa (20,38%), 16,63 KDa (15,03%), 10,81 KDa (11,20%) e 10,07 KDa (6,75%). Quando concentradas as proteínas apresentaram pesos moleculares em regiões próximas ao encontrado no pólen, sendo 95,32 KDa (7,88%), 62,95 KDa (18,87%), 49,38 KDa

(13,72%), 31,60 KDa (17,02%), 25,18 KDa (5,79%), 19,91 KDa (17,68%), 13,05 KDa (9,08%) e 10,40 KDa (9,96%). Podemos observar a partir da distribuição das diferentes unidades que o pólen apresentou 59,21% das bandas com peso molecular das proteínas menor que 20 KDa, já o concentrado para esta mesma faixa apresentou 36,72%. Na faixa de 20 a 50 KDa o pólen apresentou 45,93% de suas unidades reveladas, enquanto o concentrado apresentou 36,53%, já na faixa de peso molecular acima de 50 KDa, o concentrado proteico apresentou mais conteúdo revelado que o pólen sendo de 26,75 e 21,09%, respectivamente.

Kóstic et al. (2015) em estudo com 26 amostras de pólen apícola coletadas na Servia observaram várias bandas proteicas com 2 bandas predominantes com pesos moleculares de 77 e 59 kDa. Já Martin-Munoz et al. (2010) realizaram um estudo em um menino que desenvolveu alergia ao pólen apícola, e analisaram as origens florais deste pólen, e observaram que a espécie floral *Artemisia vulgaris* apresentou maior capacidade na inibição do fator alergênico e possui um peso molecular entre 50 e 60 kDa, lembrando que o pólen apícola possui suas características a partir do pólen das flores que os deu origem podendo o fator alergênico ser bem relativo a este aspecto.

5.3 Propriedades Funcionais

5.3.1 Solubilidade

5.3.1.1 Solubilidade da farinha do pólen apícola

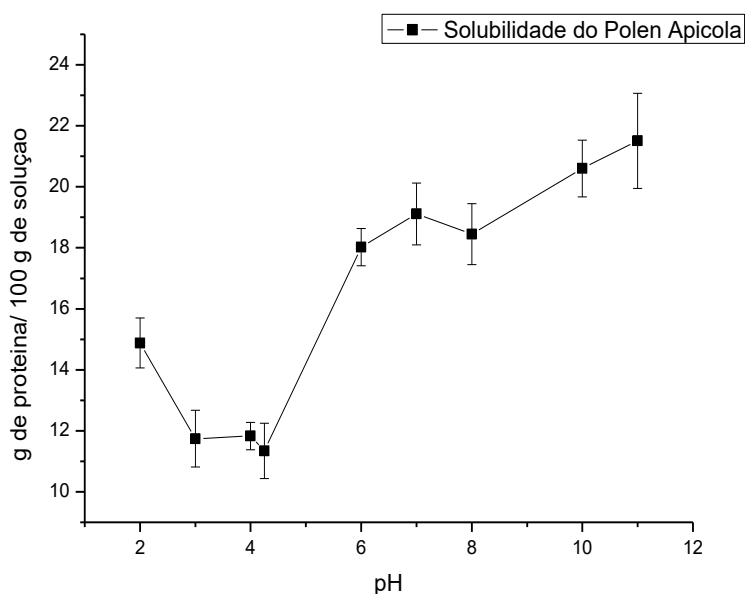
A solubilidade é um parâmetro importante para as propriedades funcionais de proteína do alimento, revelando potenciais nas aplicações em diferentes sistemas. (CATTANEO et al., 2014). O perfil de pH dependente da solubilidade da farinha do pólen apícola esta apresentado na Figura 5.3.

A solubilidade proteica é menor para os valores de pH entre 3,0 e 4,25, representando a região isoelétrica; mínima a pH 4,25 (11,83 g de proteína / 100 g de solução) e máxima a pH 11,0 (21,51 g de proteína / 100 g de solução). O pH 11,0 foi o que apresentou maior solubilidade proteica, provavelmente, em função de predomínio de cargas negativas que ocorre em pHs alcalinos, provocando uma

maior interação proteína-água e uma maior repulsão entre as moléculas de proteína, aumentando a solubilidade no pH (SGARBIERI, 1996). O pH, 4,25 foi o que atingiu menor solubilidade, indicando ser próximo do ponto isoelétrico do pólen apícola, em virtude dos números de cargas positivas e negativas do meio serem iguais, ocorrendo a neutralização intramolecular com menor afinidade entre as moléculas de proteína e o solvente, ocasionando a precipitação das proteínas (DAMORADAN, 2010). Kóstic et al. (2015) em seu estudo revelou uma baixa solubilidade da proteína (2,79-25,90 g de proteína / 100 g de solução).

As características de solubilidade em água determina condições apropriadas de extração de proteínas nos alimentos. Através do estudo de solubilidade verifica-se também o efeito do processamento de extração da proteína no perfil de solubilidade apresentado pela mesma (LOURENÇO, 2000; MORR et al., 1985).

Figura 5.3 - Solubilidade da proteína em função do pH da farinha do pólen apícola



5.3.1.2 Efeito do pH e da concentração de sal na solubilidade

Observa-se a partir das Figuras 5.4, 5.5 e 5.6 que a solubilidade das proteínas foi maior nas regiões ácida (pH=2,0) e alcalina (pH=10,0). Alguns sais neutros promovem o efeito *salting in*, isto é, o aumento da solubilidade. O efeito “*salting in*” se manifesta porque, em baixa concentração de sal, os íons interagem com os grupos carregados da proteína e aumenta progressivamente sua

eletronegatividade, o que intensifica a repulsão eletrostática intermolecular (AROGUNDADE; AKINFENWA; SALAWU, 2004).

O efeito de aditivos e sais, na solubilidade de proteínas tem sido frequentemente objeto de estudo, na busca de compreender os perfis de solubilidade para suas possíveis aplicações nas indústrias de alimentos (ABTAHI, AMINLARI, 1997). No presente estudo, foi analisada a influência de três sais na solubilidade da farinha do pólen apícola: cloreto de sódio, citrato de sódio, e o sulfato de sódio.

a) Cloreto de Sódio (NaCl)

O efeito do pH e da concentração do cloreto de sódio na solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola é apresentado na Tabela 5.4 e na Figura 5.4.

Tabela 5.2 - Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Cloreto de Sódio.

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	14,88 ± 0,82 ^{abc}	11,83 ± 0,45 ^{abd}	18,02 ± 0,61 ^{ab}	18,45 ± 1,00 ^{ab}	20,60 ± 0,59 ^{aa}
0,20	13,38 ± 1,18 ^{bc}	8,78 ± 1,00 ^{cd}	15,12 ± 0,94 ^{bb}	15,88 ± 0,98 ^{bb}	20,22 ± 0,98 ^{aa}
0,25	14,29 ± 0,89 ^{abc}	13,42 ± 1,53 ^{ac}	15,64 ± 1,78 ^{bbc}	16,47 ± 1,24 ^{bb}	20,75 ± 1,61 ^{aa}
0,30	15,31 ± 1,22 ^{ab}	11,36 ± 1,05 ^{bc}	14,98 ± 0,48 ^{bb}	18,94 ± 0,91 ^{aa}	20,21 ± 1,08 ^{aa}

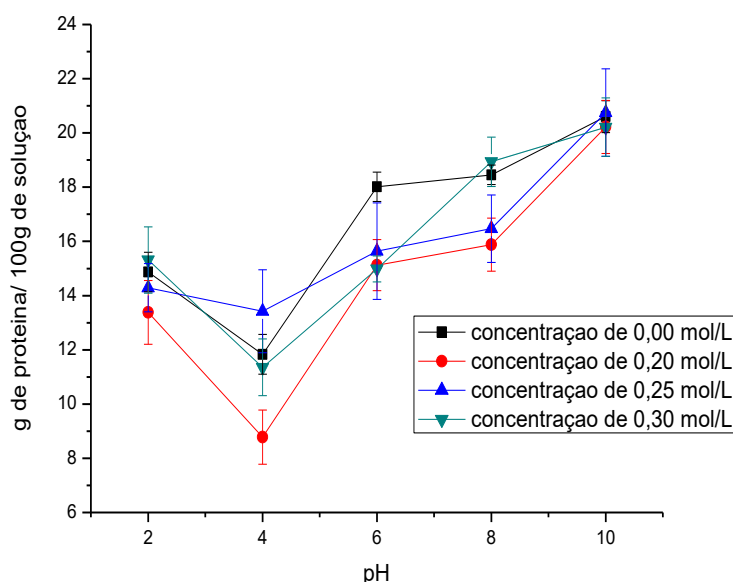
Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Em todas as concentrações testadas, as proteínas da farinha do pólen apícola apresentaram uma solubilidade mínima em pH 4,0, próximo ao ponto isoelétrico. No pH 4,0 a concentração de 0,20 mol/L, tem-se a menor solubilidade desta concentração, enquanto que no pH 10,0 a concentração de 0,25 mol/L, tem-se a maior solubilidade.

Através da análise dos resultados, pode inferir que a solubilidade utilizando-se o sal cloreto de sódio, em relação ao controle, no pH 2,0 não diferiu significativamente, em relação as demais concentrações. No pH 6,0 todas as amostras diferiram em relação ao controle. Em pH 8,0 a concentração de 0,30 mol/L

não difere em relação à amostra controle e o pH 10,0 todas as amostras não apresentaram diferença significativa. O cloreto de sódio, que é o sal mais utilizado na solubilidade das proteínas, apresentou resultados satisfatórios em relação a solubilidade controle. Gomes et al. (2006) apresentaram resultados satisfatórios na solubilidade com adição de cloreto de sódio, e trabalhando com a farinha do feijão. A farinha do grão-de-bico teve sua solubilidade aumentada na presença de NaCl (SILVA; NEVES; LOURENÇO, 2001).

Figura 5.4 - Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Cloreto de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L



b) Citrato de Sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)

O efeito do pH e da concentração do citrato de sódio na solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola, seguem exposto na Tabela 5.5.

Em quase todas as concentrações testadas, as proteínas da farinha do pólen apícola apresentaram uma solubilidade mínima em pH 4,0, porém, apenas na concentração 0,20 mol/L no pH 6,0 ocorreu a menor solubilidade, acreditando-se que ocorreu aumento na solubilidade na região do ponto isoelétrico.

No pH 4,0 a concentração de 0,30 mol/L tem-se a menor solubilidade em 3,88 g de proteína/ 100 g de solução, enquanto que, no pH 10,0 a concentração de 0,25 mol/L tem-se a maior solubilidade 25,28 g de proteína/ 100 g de solução.

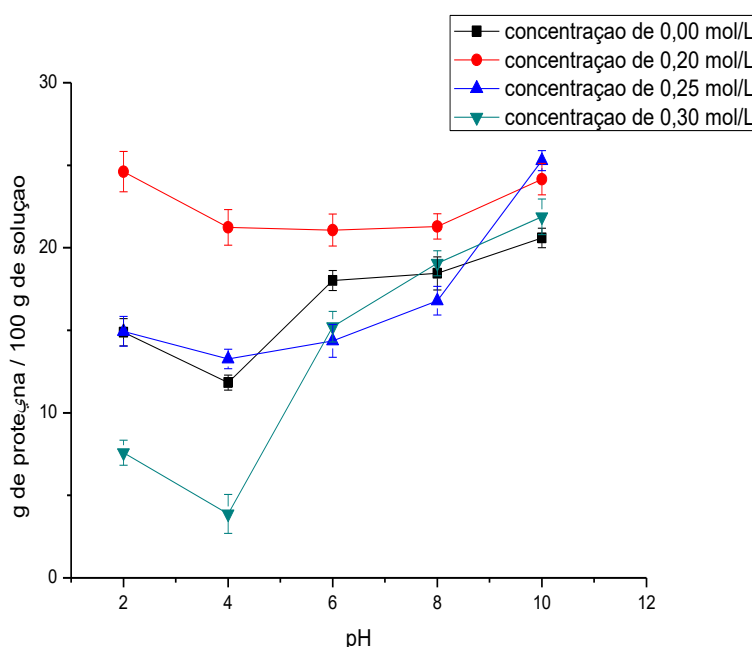
Tabela 5.3 - Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Citrato de Sódio.

Citrato de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	14,88 ± 0,82 ^{abC}	11,83 ± 0,45 ^{abD}	18,02 ± 0,61 ^{ab}	18,45 ± 1,00 ^{ab}	20,60 ± 0,59 ^{aA}
0,20	24,61 ± 1,22 ^{aA}	21,23 ± 1,08 ^{ab}	21,07 ± 0,97 ^{ab}	21,29 ± 0,77 ^{ab}	24,16 ± 0,96 ^{aA}
0,25	14,94 ± 0,90 ^{bC}	13,26 ± 0,59 ^{bD}	14,36 ± 0,99 ^{cD}	16,79 ± 0,87 ^{cb}	25,28 ± 0,60 ^{aA}
0,30	7,58 ± 0,76 ^{cD}	3,88 ± 1,18 ^{dE}	15,22 ± 0,93 ^{cC}	19,06 ± 0,76 ^{bb}	21,88 ± 0,99 ^{bA}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Através da análise na Figura 5.5, observamos que as melhores condições de solubilidade, utilizando-se o sal citrato de sódio, em relação ao controle, ocorreu na concentração de 0,20 mol/L, obtendo maior solubilidade em todos os pHs analisados. Santos (2009), em estudo sobre a farinha de semente de jaca, obteve resultado satisfatório sobre a solubilidade adicionando o citrato de sódio.

Figura 5.5 - Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Citrato de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L



c) Sulfato de Sódio (Na_2SO_4)

O efeito do pH e da concentração do sulfato de sódio na solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola, estão apresentados na Tabela 5.6.

Em relação à amostra controle, somente no pH 6,0, não foi observado diferença significativa ao compararmos com as outras concentrações 0,20, 0,25 e 0,30 mol/L.

Tabela 5.4 - Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola, Sulfato de Sódio.

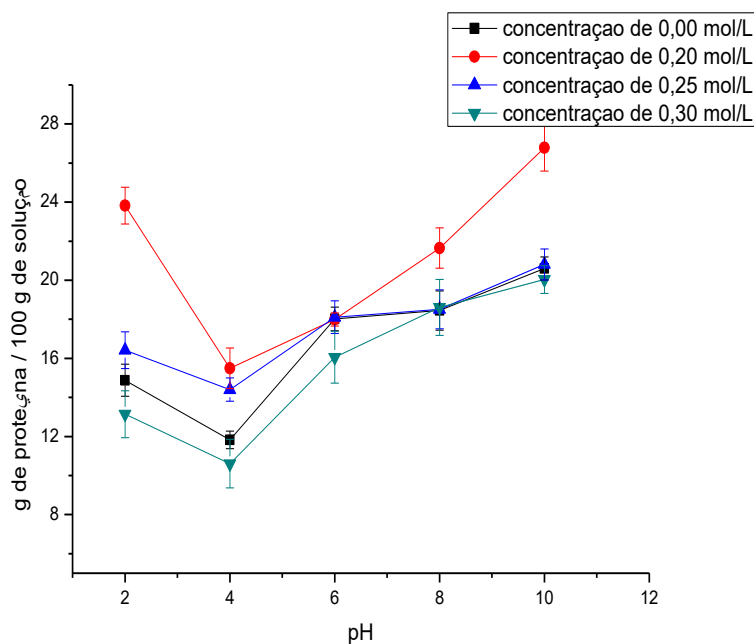
Sulfato de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	14,88 ± 0,82 ^{abC}	11,83 ± 0,45 ^{abD}	18,02 ± 0,61 ^{abB}	18,45 ± 1,00 ^{abB}	20,60 ± 0,59 ^{aA}
0,20	23,82 ± 0,94 ^{aB}	15,49 ± 1,04 ^{aE}	17,99 ± 0,34 ^{aD}	21,65 ± 1,03 ^{aC}	26,79 ± 1,20 ^{aA}
0,25	16,42 ± 0,94 ^{bC}	14,40 ± 0,60 ^{aD}	18,11 ± 0,83 ^{abB}	18,51 ± 1,00 ^{bbB}	20,81 ± 0,79 ^{baA}
0,30	13,14 ± 1,20 ^{cC}	10,61 ± 1,24 ^{bdD}	16,06 ± 1,33 ^{bbB}	18,61 ± 1,43 ^{baA}	20,04 ± 0,71 ^{baA}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os melhores valores para a solubilidade encontrados neste trabalho, adotando o sulfato de sódio foram no pH 2,0 e pH 10,0 a concentração de 0,20 mol/L. O menor valor para a solubilidade com esse sal, ocorreu no pH 4,0 a concentração de 0,30 mol/L. Neves et al. (2003), obtiveram maior eficiência na solubilidade da farinha do feijão caupí, com adição do sulfato de sódio.

Figura 5.6 - Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e concentração de Sulfato de Sódio variando entre 0,0 a 0,30 mol/L



A Tabela 5.7 e a Figura 5.7 apresentam os valores obtidos para análise da solubilidade, em função da concentração de sal e do pH, para as proteínas da farinha do pólen apícola.

Os dados obtidos nos revelam que a adição de sal favoreceu um crescimento na solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola.

A adição dos sais de citrato de sódio e sulfato de sódio, ambas na concentração de 0,20 mol/L foram favoráveis em todos os pHs estudados. A concentração de 0,30 mol/L apresentou os menores valores de solubilidade, na presença dos sais estudados, principalmente, nos sais de citrato de sódio e sulfato de sódio. Com isso o cloreto de sódio, sal mais adotado para o aumento da solubilidade da maioria das proteínas, não apresentou índices satisfatórios. Segundo Silva et al. (2001), a farinha do grão-de-bico, obteve aumento da solubilidade na presença de até 1,0 mol/L de NaCl.

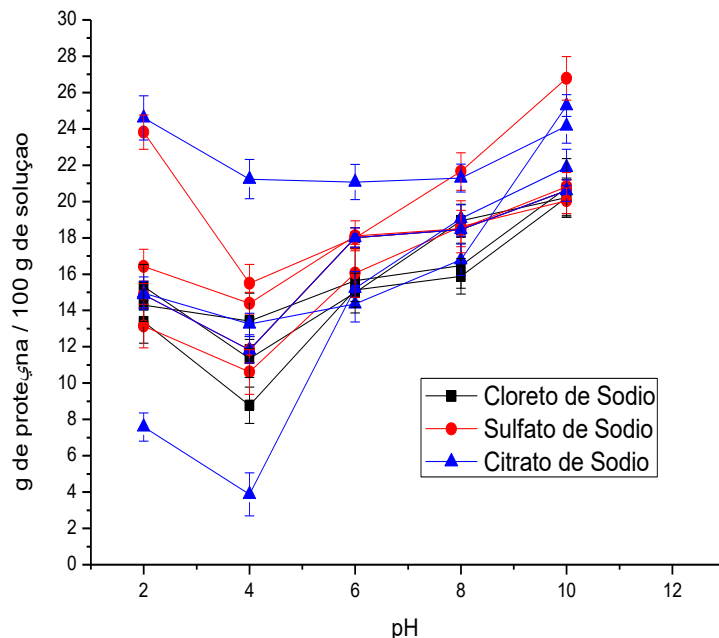
Tabela 5.5 - Efeito do pH e da concentração salina na solubilidade (g de proteína / 100 g de solução) das proteínas da farinha do Pólen Apícola. Cloreto de Sódio, Citrato de Sódio e Sulfato de Sódio.

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	14,88 ± 0,82 ^{bcdC}	11,83 ± 0,45 ^{deD}	18,02 ± 0,61 ^{bb}	18,45 ± 1,00 ^{bcdB}	20,60 ± 0,59 ^{CA}
0,20	13,38 ± 1,18 ^{cdC}	8,78 ± 1,00 ^{lU}	15,12 ± 0,94 ^{cb}	15,88 ± 0,98 ^{eb}	20,22 ± 0,98 ^{CA}
0,25	14,29 ± 0,89 ^{cdBC}	13,42 ± 1,53 ^{cdC}	15,64 ± 1,78 ^{cbC}	16,47 ± 1,24 ^{deB}	20,75 ± 1,61 ^{CA}
0,30	15,31 ± 1,22 ^{bcB}	11,36 ± 1,05 ^{ec}	14,98 ± 0,48 ^{cb}	18,94 ± 0,91 ^{ba}	20,21 ± 1,08 ^{CA}
Citrato de Sódio (mol/L)					
0,20	24,61 ± 1,22 ^{aA}	21,23 ± 1,08 ^{aB}	21,07 ± 0,97 ^{aB}	21,29 ± 0,77 ^{aB}	24,16 ± 0,96 ^{ba}
0,25	14,94 ± 0,90 ^{bcdC}	13,26 ± 0,59 ^{cdD}	14,36 ± 0,99 ^{cdD}	16,79 ± 0,87 ^{cdeB}	25,28 ± 0,60 ^{abA}
0,30	7,58 ± 0,76 ^{ed}	3,88 ± 1,18 ^{gE}	15,22 ± 0,93 ^{cc}	19,06 ± 0,76 ^{bb}	21,88 ± 0,99 ^{CA}
Sulfato de Sódio (mol/L)					
0,20	23,82 ± 0,94 ^{aB}	15,49 ± 1,04 ^{be}	17,99 ± 0,34 ^{bd}	21,65 ± 1,03 ^{ac}	26,79 ± 1,20 ^{aA}
0,25	16,42 ± 0,94 ^{bc}	14,40 ± 0,60 ^{bcd}	18,11 ± 0,83 ^{bb}	18,51 ± 1,00 ^{bcB}	20,81 ± 0,79 ^{CA}
0,30	13,14 ± 1,20 ^{dc}	10,61 ± 1,24 ^{efD}	16,06 ± 1,33 ^{cb}	18,61 ± 1,43 ^{bcA}	20,04 ± 0,71 ^{CA}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na região ácida (pH=2,0), os maiores valores obtidos foram a concentração de 0,20 mol/L, os sais de citrato de sódio e sulfato de sódio não apresentaram diferença significativa obtendo os valores de 26,61 e 23,82 g de proteína/100g de solução, respectivamente. Já na região alcalina (pH=10,0), os valores mais elevados foram obtidos com os sais sulfato de sódio a concentração de 0,20 mol/L (26,79 g de proteína/100g de solução) e citrato de sódio na concentração de 0,25 mol/L (25,28 g de proteína/100g de solução) não apresentaram diferença significativa.

Figura 5.7 - Curvas de solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola em função do pH (2,0 a 10,0) e da concentração (0,0 a 0,30 mol/L) de sal na Solubilidade: Citrato de Sódio; Cloreto de Sódio; Sulfato de Sódio.



5.3.1.3 Solubilidade do concentrado proteico

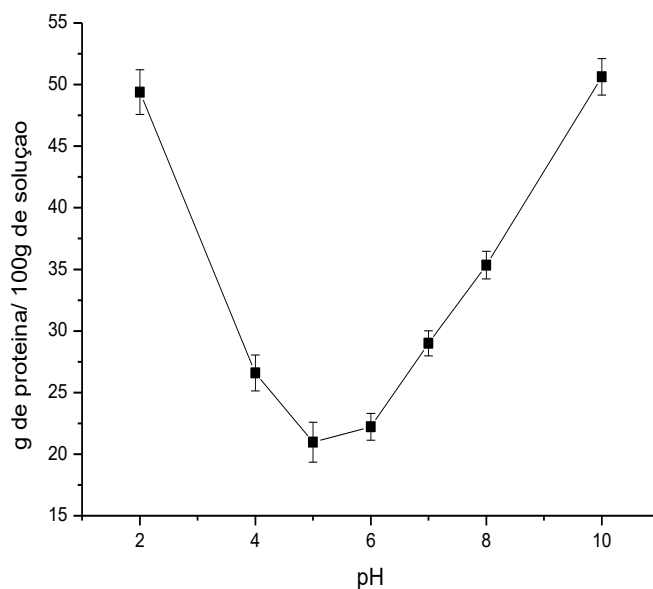
A Figura 5.8 ilustra o perfil de pH em função da solubilidade da proteína do concentrado proteico.

A solubilidade apresentada pelo concentrado proteico, mostrou-se índice mínimo em pH 5,0 e máximo, consecutivamente, em pH 2,0 e 10,0.

De acordo com a Figura 5.8, percebe-se que o concentrado proteico possui maior solubilidade nas regiões ácidas e alcalinas, divergindo do perfil apresentado pela proteína da farinha do pólen apícola (Figura 5.3), porém, a proteína da farinha apresentou solubilidade mínima entre o pH 3,0 até o pH 4,25, onde a partir desse ponto passou a ter um aumento em sua solubilidade. Entretanto o concentrado proteico, obteve solubilidade mínima na região do pH 5,0 até o pH 6,0, aumentando a solubilidade a partir do pH 7,0. A solubilidade do concentrado proteico mostrou acentuado no pH 5,0, caracterizando uma curva em forma de “V”. Esse acentuado no pH 5,0, deve-se provavelmente pelo isolamento da proteína (AULER, 2002). O concentrado proteico apresentou o dobro de proteínas em relação ao pólen apícola 51,64%. Valores similares foram obtidos por Guimarães et al. (2008), em

que conseguiram um incremento no teor de proteínas de 93% no concentrado proteico de amêndoas de baru, pois a farinha integral possuía 28,45% e no concentrado obteve um teor proteico de 55,03%.

Figura 5.8 - Solubilidade da proteína em função do pH do concentrado proteico



A maior solubilidade foi encontrada em extremos de pH (ácido e alcalino). Isto deve-se a predominância de cargas positivas ou negativas, resultando em forte interação entre a proteína e as moléculas de água, assim como também, uma maior repulsão eletrostática, proporcionando um aumento da solubilidade.

5.3.2 Capacidade de absorção de água (CAA) e óleo (CAO)

A Tabela 5.8 apresenta os valores obtidos para análises de capacidade de absorção de água e óleo para a farinha do pólen apícola e do concentrado proteico.

A capacidade de absorção de água CAA do concentrado proteico, e do pólen apícola foram respectivamente, 207,07 e 143,88%, sendo que o valor obtido para o concentrado proteico foi inferior aos observados por Glória e Regitardo D'arc (2000) em concentrados proteicos de torta de castanha do pará 388,00% e 327,00% respectivamente. Santos, (2009) obordou que a farinha de semente de jaca, obteve resultados inferiores ao encontrado neste trabalho, valores entre 87,7 e 104,6%.

A CAA pode variar com a fonte proteica, pois, a disposição e presença de carboidratos, lipídios, sais, pH podem ser influenciada por processamentos sofridos pela proteína, como aquecimento e alcalinização.

Os componentes não proteicos podem afetar a absorção de água de um produto proteico (KINSELLA et.al.1985). Os principais componentes que influenciam CAA podem ser proteínas solúveis, que contêm partes hidrofílicas.

Tabela 5.6 – CAA e CAO da farinha do pólen apícola e do concentrado proteico

Propriedades Funcionais (%)	Farinha do Pólen Apícola	Concentrado Proteico
Capacidade de absorção de água (%CAA)	143,88 ± 0,79 ^b	270,07 ± 0,93 ^a
Capacidade de absorção de óleo (%CAO)	178,58 ± 0,72 ^b	269,71 ± 1,51 ^a

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata.

Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A farinha do pólen apícola e o concentrado proteico apresentaram alta capacidade de absorção de gordura 178,58% e 269,71% respectivamente. No entanto esses foram inferiores aos encontrados por Goldmeyer et al. (2014), cujos valores foram 300% para a farinha do mirtilo. Resultados semelhantes quando comparados as farinhas de mamão e abóbora, 247,61% e 180,28%, respectivamente foram obtidos por Porte et al., (2011). Em função dos valores apresentados, a farinha e o concentrado, podem ser utilizados como ingredientes em produtos viscosos, como sopas, massas e extensores de carne. Segundo Kinsella (1976), altos valores de absorção de gordura são desejáveis para melhorar a sensação dos produtos na boca. O mecanismo de retenção de absorção de óleo é atribuído à ligação física do óleo.

O componente principal que contribui significativamente para CAO das amostras analisadas pode ser a esporopolenina, principal componente da exina. A esporopolenina é uma mistura de unidades fundamentais de fenil-propanóides, na forma de ácido p-coumárico, ácidos graxos e carotenóides, é um polímero que constitui a parede externa dos grãos de pólen que compreende mais que 20% de peso seco de pólen (STANLEY; LINSKENS, 1974). Este componente poderia reter

óleo na sua matriz. Igualmente, a parte hidrofóbica das proteínas pode aumentar a capacidade de absorção de óleo do pólen apícola.

5.3.3 Atividade e estabilidade de emulsão

A farinha do pólen apícola, na ausência de sal, apresentou uma boa atividade de emulsão em todos os pHs estudados, não diferindo entre si como apresentado na Tabela 5.9.

No pH 10,0 a adição de concentrações de cloreto de sódio influenciou de forma negativa a propriedade estudada, pois, para as concentrações de 0,20, 0,25 mol/L foram significativamente diferente da concentração sem sal. Para o citrato de sódio, no pH 2,0 as três concentrações estudadas foram inferiores ao do controle, como também o pH 4,0 nas concentrações 0,20 e 0,25 mol/L e no pH 6,0 na concentração 0,25 mol/L diferiram significativamente em relação ao controle.

A presença de sulfato de sódio melhorou a atividade de emulsão no pH 4,0 concentração 0,25 mol/L e no pH 8,0 na concentração 0,20 mol/L, porém, não diferem estatisticamente dos resultados obtidos na ausência de sal para os mesmos pHs. Os resultados obtidos para a atividade de emulsão demonstrou que a adição dos sais cloreto de sódio, citrato de sódio e sulfato de sódio nas concentrações de 0,20 mol/L, 0,25 mol/L e 0,30 mol/L, não foram favoráveis para essa propriedade.

Existe uma grande dificuldade de se comparar dados da capacidade emulsificante de diferentes proteínas, em virtude da não padronização das condições praticadas na sua determinação (KINSELLA, 1976).

Tabela 5.7 – Atividade da emulsão da farinha do pólen apícola

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	44,65 ± 0,70 ^{aA}	44,75 ± 1,22 ^{aA}	44,33 ± 1,64 ^{aA}	43,95 ± 1,11 ^{aA}	42,86 ± 1,16 ^{aA}
0,20	44,53 ± 0,30 ^{aA}	43,68 ± 0,15 ^{abAB}	42,47 ± 0,58 ^{abB}	43,28 ± 0,56 ^{abB}	39,18 ± 0,25 ^{bcdC}
0,25	41,37 ± 0,67 ^{abB}	42,58 ± 0,39 ^{abAB}	43,03 ± 0,50 ^{abA}	42,32 ± 0,34 ^{aAB}	38,93 ± 0,26 ^{cdC}
0,30	41,67 ± 0,49 ^{abAB}	41,08 ± 0,35 ^{abCB}	42,69 ± 0,44 ^{abA}	42,74 ± 1,00 ^{aA}	40,76 ± 0,27 ^{abCB}
Citrato de Sódio					
(mol/L)					
0,20	29,30 ± 1,18 ^{cC}	39,44 ± 0,53 ^{bcB}	42,85 ± 1,90 ^{abA}	42,98 ± 1,17 ^{aA}	42,52 ± 0,94 ^{aAB}
0,25	27,69 ± 2,81 ^{cC}	36,71 ± 1,91 ^{cB}	39,84 ± 0,27 ^{bAB}	42,16 ± 1,38 ^{aA}	40,64 ± 0,28 ^{abcdAB}
0,30	38,75 ± 0,49 ^{bC}	43,51 ± 0,91 ^{abA}	43,19 ± 0,49 ^{abAB}	42,37 ± 0,28 ^{aAB}	41,38 ± 1,15 ^{abB}
Sulfato de Sódio					
(mol/L)					
0,20	43,03 ± 1,02 ^{aAB}	44,12 ± 0,71 ^{aA}	43,72 ± 0,62 ^{aAB}	44,49 ± 0,29 ^{aA}	42,08 ± 0,39 ^{aB}
0,25	41,01 ± 1,76 ^{abA}	45,21 ± 3,32 ^{aA}	44,20 ± 1,11 ^{aA}	41,70 ± 2,98 ^{aA}	41,95 ± 0,65 ^{aA}
0,30	40,95 ± 2,31 ^{abA}	40,76 ± 2,53 ^{abcA}	42,25 ± 1,44 ^{abA}	41,24 ± 1,58 ^{aA}	38,38 ± 0,45 ^{dA}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Porte et al. (2011) obteve valores semelhantes ao encontrado, corroborando com os obtidos nesta pesquisa, ele trabalhou com sementes de abóbora e sementes de mamão, obtendo valores de atividade de emulsão 48,06% e 48,14%. Valores ainda menores foram obtidos por Goldmeyer et al. (2014) na farinha do mirtilo, sendo que a atividade de emulsão de 30,0%. Os resultados indicam que o pólen apícola possui boa atividade emulsificante, podendo ser utilizado em sistemas de emulsão como substitutos de ingredientes.

A farinha do pólen apícola apresentou, na ausência de sal, uma boa estabilidade variando entre 43,96% e 52,17% entre os pHs estudados, conforme apresentado na Tabela 5.10.

No pH 10,0 a adição do cloreto de sódio influenciou negativamente na estabilidade, pois, todos os resultados foram abaixo dos obtidos na ausência de sal, no mesmo pH, diferindo estatisticamente.

A adição dos sais nas concentrações estudadas só foi favorável nos pHs 2,0 e 6,0. No cloreto de sódio, pH 2,0, nas três concentrações, e, pH 6,0 nas

concentrações 0,20 mol/L e 0,30 mol/L. Com o sal citrato de sódio só foi benéfica no pH 6,0 na concentração 0,30 mol/L e utilizando o sulfato de sódio foi favorável no pH 2,0 concentração 0,25 mol/L e pH 6,0 nas concentrações de 0,25 mol/L e 0,30 mol/L.

Tabela 5.8 – Estabilidade de emulsão da farinha do pólen apícola

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	44,19 ± 0,38 ^{cdBC}	48,63 ± 1,80 ^{aAB}	51,57 ± 2,65 ^{bcA}	52,17 ± 0,89 ^{abA}	43,96 ± 1,59 ^{abC}
0,20	47,13 ± 1,15 ^{abcC}	50,57 ± 0,01 ^{aAB}	52,95 ± 0,62 ^{abA}	48,63 ± 1,80 ^{bcBC}	23,53 ± 0,28 ^{dB}
0,25	47,25 ± 0,32 ^{abA}	48,63 ± 1,80 ^{aA}	52,16 ± 1,80 ^{bA}	51,16 ± 1,02 ^{bA}	25,64 ± 3,61 ^{dB}
0,30	47,25 ± 0,32 ^{abC}	48,62 ± 1,48 ^{aBC}	53,52 ± 0,59 ^{abAB}	55,51 ± 0,38 ^{aA}	33,18 ± 2,70 ^{cD}
Citrato de Sódio					
(mol/L)					
0,20	42,77 ± 1,69 ^{deC}	46,89 ± 0,91 ^{aB}	52,11 ± 0,66 ^{bcA}	50,77 ± 0,34 ^{bcA}	46,27 ± 1,80 ^{abB}
0,25	45,75 ± 1,29 ^{abcdB}	47,66 ± 1,00 ^{aB}	52,33 ± 0,61 ^{bA}	50,20 ± 0,34 ^{bcA}	47,44 ± 0,85 ^{aB}
0,30	44,76 ± 0,87 ^{bcdC}	49,23 ± 0,34 ^{aAB}	52,90 ± 2,91 ^{abA}	47,19 ± 0,53 ^{cBC}	48,85 ± 1,16 ^{aB}
Sulfato de Sódio					
(mol/L)					
0,20	40,34 ± 1,90 ^{EB}	46,85 ± 0,36 ^{aA}	47,08 ± 1,11 ^{cA}	49,98 ± 2,98 ^{bcA}	40,54 ± 0,27 ^{BB}
0,25	48,04 ± 1,19 ^{aB}	50,17 ± 1,26 ^{aB}	53,28 ± 0,35 ^{abA}	49,63 ± 1,17 ^{bcB}	45,08 ± 1,13 ^{abC}
0,30	44,98 ± 0,56 ^{bcdC}	49,05 ± 0,88 ^{aB}	57,52 ± 0,24 ^{aA}	55,29 ± 1,13 ^{aA}	46,95 ± 1,15 ^{aBC}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Azevedo, Bora e Silva (2011) encontraram estabilidade no intervalo de 5,64% a 62,11%, estudando sobre a funcionalidade das proteínas das amêndoas da munguba. Leite (2014) inferiu que as proteínas do sorgo *in natura* e germinado obteve uma estabilidade de 35,0% e 28,00%. Tais resultados foram abaixo dos encontrados nesta pesquisa.

Os dados expostos, revelam compatibilidade e em alguns casos superiores aos achados na literatura, mesmo quando estes últimos apresentaram uma concentração proteica maior, confirmando a afirmação de Damodaran (1996) de que as propriedades emulsificantes não são diretamente dependentes da concentração da proteína.

5.3.4 Capacidade e estabilidade de formação de espuma

Os resultados obtidos para a capacidade de formação de espuma do pólen apícola, demonstrou que a adição de sal foi favorável, conforme pode ser constatado na Tabela 5.11. Vários produtos alimentares dependem da incorporação de ar para a manutenção da estrutura e textura, durante ou após o seu processamento, como pães, bolos, sobremesas e coberturas batidas (PHILLIPS et al., 1994).

Tabela 5.9- Capacidade de formação de espuma da farinha do pólen apícola

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	22,00 ± 2,00 ^{dAB}	20,00 ± 0,00 ^{dAB}	18,00 ± 2,00 ^{CB}	20,00 ± 2,00 ^{CAB}	24,00 ± 2,00 ^{dA}
0,20	20,67 ± 1,15 ^{dB}	21,33 ± 1,15 ^{dB}	19,33 ± 1,15 ^{CB}	25,33 ± 2,31 ^{CA}	26,67 ± 1,15 ^{dA}
0,25	23,33 ± 2,03 ^{dB}	24,00 ± 2,00 ^{dB}	19,33 ± 1,15 ^{CB}	24,67 ± 3,06 ^{CB}	34,67 ± 3,06 ^{cdA}
0,30	26,00 ± 3,46 ^{dC}	42,00 ± 3,21 ^{dB}	25,33 ± 2,31 ^{CC}	72,67 ± 3,06 ^{bA}	50,00 ± 3,17 ^{CB}
Citrato de Sódio (mol/L)					
0,20	109,33 ± 3,02 ^{bcB}	126,00 ± 6,23 ^{abAB}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}
0,25	112,67 ± 5,03 ^{bA}	118,67 ± 8,08 ^{bcA}	110,00 ± 6,06 ^{bA}	146,67 ± 5,77 ^{AA}	143,33 ± 5,77 ^{AA}
0,30	143,33 ± 5,77 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	146,67 ± 5,77 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}
Sulfato de Sódio (mol/L)					
0,20	106,67 ± 2,82 ^{bcA}	100,00 ± 2,00 ^{CA}	136,67 ± 5,28 ^{abA}	136,67 ± 3,77 ^{AA}	100,00 ± 5,00 ^{BA}
0,25	86,67 ± 1,55 ^{cbB}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	135,33 ± 2,86 ^{abA}	140,00 ± 5,00 ^{AA}	143,33 ± 5,77 ^{AA}
0,30	143,33 ± 2,77 ^{AA}	146,67 ± 2,77 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}	146,67 ± 3,77 ^{AA}	150,00 ± 0,00 ^{AA}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A adição dos sais de citrato de sódio e sulfato de sódio, influenciaram de forma positiva a capacidade de formar espuma do pólen apícola, pois, em todos os pHs e concentrações estudadas, os resultados foram superiores aos obtidos na ausência de sal. No entanto, utilizando o cloreto de sódio, apenas na concentração de 0,30 mol/L e pH 10,0, verifica-se valor superior, e nos demais pHs e concentrações os resultados não foram estatisticamente significativos.

Silva et al. (2012) constataram valor de 62,0% em isolado proteico de farelo de arroz. Fontanari et al. (2007) obtiveram para isolado proteico de semente de

goiaba variações de 76% a 92% para a capacidade de formação de espuma. Kostic et al. (2015) não constatou formação de espuma em seu estudo com 26 amostras de pólen apícola coletadas na Servia, porem, este resultado diverge dos obtidos para esta propriedade utilizando o pólen apícola adicionando os sais citrato de sódio e sulfato de sódio.

Tabela 5.10- Estabilidade de espuma após 60 minutos

Cloreto de Sódio (mol/L)	pH				
	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
0,0	10,00 ± 2,00 ^{deFA}	2,00 ± 0,00 ^{eB}	5,33 ± 2,31 ^{dB}	2,00 ± 0,00 ^{CB}	4,00 ± 0,00 ^{CB}
0,20	2,67 ± 0,00 ^{IB}	2,00 ± 0,00 ^{eB}	6,67 ± 3,05 ^{dA}	4,67 ± 1,15 ^{cAB}	4,00 ± 0,00 ^{cAB}
0,25	6,67 ± 3,05 ^{eFA}	4,67 ± 1,15 ^{eA}	8,00 ± 2,00 ^{dA}	6,00 ± 3,46 ^{cA}	10,00 ± 2,00 ^{bcA}
0,30	8,00 ± 0,00 ^{eFA}	9,33 ± 1,15 ^{deA}	8,67 ± 1,15 ^{dA}	10,00 ± 0,00 ^{BA}	9,33 ± 1,15 ^{bcA}
Citrato de Sódio (mol/L)					
0,20	70,66 ± 6,40 ^{CA}	90,00 ± 12,00 ^{AA}	70,00 ± 5,00 ^{bcA}	120,67 ± 9,29 ^{AA}	12,67 ± 6,43 ^{bcB}
0,25	90,00 ± 4,00 ^{BA}	30,00 ± 9,16 ^{CA}	54,00 ± 8,48 ^{cdA}	56,67 ± 9,87 ^{BA}	27,33 ± 7,02 ^{AA}
0,30	116,00 ± 5,29 ^{AA}	50,00 ± 10,00 ^{BB}	133,33 ± 5,27 ^{AA}	132,00 ± 3,46 ^{AA}	34,00 ± 5,29 ^{AB}
Sulfato de Sódio (mol/L)					
0,20	9,33 ± 1,15 ^{deFB}	7,33 ± 2,31 ^{eB}	8,67 ± 2,31 ^{dB}	8,00 ± 0,00 ^{CB}	15,33 ± 2,30 ^{BA}
0,25	26,67 ± 1,55 ^{dA}	26,67 ± 1,55 ^{cdA}	13,33 ± 5,77 ^{dA}	8,00 ± 2,00 ^{CA}	11,33 ± 4,16 ^{bcA}
0,30	21,33 ± 4,16 ^{deB}	19,33 ± 1,15 ^{cdB}	120,00 ± 10,00 ^{abA}	8,67 ± 2,31 ^{CB}	10,00 ± 0,00 ^{bcB}

Resultados expressos através da média ± desvio padrão de análises em triplicata. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A Tabela 5.12 apresenta os dados de estabilidade de espuma, após 60 minutos, para o pólen apícola. Observa-se que apenas a adição do citrato de sódio foi benéfica em todas as concentrações e pHs estudadas, porém, utilizando o sulfato de sódio, verificou que foi favorável na concentração de 0,30 mol/L no pH 6,0, já o sal cloreto de sódio não obteve resultados satisfatórios para esta propriedade.

A estabilidade de espuma é importante em produtos de forno, merengues e coberturas de bolos, por ajudarem na incorporação de ar (JAMES; SLOAN, 1984).

Batista (2010) avaliando as propriedades funcionais de feijões obteve para a estabilidade de espuma, após 60 minutos, valores de 28,18%, 36,57% e 36,19%

para feijão carioca, preto e caupi, respectivamente. Santos (2009), com valores de 5,0% a 30,0%, em estudo sobre a farinha de semente de jaca.

6 CONCLUSÃO

O pólen apícola possui um teor de proteína de 25,67% caracterizando-o como uma ótima fonte de proteína na alimentação humana.

A obtenção do concentrado proteico do pólen apícola por precipitação isoeletrica apresentou o dobro de proteínas em relação ao pólen apícola 51,64%.

O pólen apícola apresentou o mesmo perfil de pesos moleculares e maior clareza nas unidades reveladas que o concentrado proteico.

A solubilidade das proteínas da farinha do pólen apícola é influenciada pela variação do pH e do tipo e concentração de sal. No presente estudo, o melhor sistema foi o que utilizou o sulfato de sódio na concentração de 0,20 mol/L.

A capacidade de absorção de água e de óleo do concentrado proteico é superior ao das proteínas da farinha do pólen apícola.

A adição de sal não foi favorável a atividade de emulsão. Já para a estabilidade de emulsão a adição dos sais foi vantajoso.

As propriedades espumantes apresentaram melhores resultados quanto a capacidade de formação de espuma com a adição do sal citrato de sódio e sulfato de sódio na concentração de 0,30 mol/L, e na estabilidade de espuma com a adição de cloreto de sódio.

O pólen apícola pode ser utilizado como uma fonte alternativa de proteínas alimentares no desenvolvimento de novos produtos e como substituto em produtos já disponíveis no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABTAHI, S.; AMINLARI, M. Effect of sodium sulfite, sodium bisulfite, cysteine, and pH on protein solubility and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of soybean milk base. **Journal Agric. Food Chemistry**, v.45, p.4768-4772, 1997.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. **Controle de qualidade do pólen apícola desidratado**. XVI Congresso Brasileiro de Apicultura. II Congresso Brasileiro de Meliponicultura, Aracajú-SE, 2006.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; ARRUDA, V. A. S.; BARRETO, L. M. R. C. **Manual de controle de qualidade do pólen apícola**. APACAME, São Paulo, p. 28, 2012.

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

ALMEIDA, . A. M. M.; SOUZA, L.S.; SILVA, C. A.; VALENTIM, I. B.; COSTA, J. G.; GOULART, M. O. F. Características físico-químicas e microbiológicas de pólen apícola da microrregião de Ribeira do Pombal, Bahia, Brasil. **III Conferencia de Instituto Nacional de Ciencia e Tecnologia de Frutos Tropicais**. Aracajú-SE, 2012.

ALVARELI, L. G.; MOREIRA, R. M.; BARRETO, L. M. R. C. **Índices microbiológicos na rota da coleta ao beneficiamento do pólen apícola em Canavieiras, estado da Bahia**. Magistra. Cruz das Almas, Bahia, v. 23, número especial, p. 22 -25, 2011.

AROGUNDADE, L. A.; AKINFENWA, M. O.; SALAWU, A. A. Effect of NaCl and its partial or complete replacement with KCl on some functional properties of defatted *Colocynthis citrullus* L. seed flour. **Food Chemistry**, v. 84, p. 187-193, 2004.

ARRUDA, V. A. S.; PEREIRA, A. A. S.;FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, p.100-105, 2013.

ARRUDA, V. A. S.; **Estabilidade de vitaminas do complexo B em pólen apícola**. Dissertação (Mestre em Alimentos dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmaceuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

ARRUDA, V. A. S. **Pólen apícola desidratado: composição físico-química, qualidade microbiológica, compostos fenólicos e flavonóides, atividade antioxidante e origem botânica**. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Doutorado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. 2013.

AULER, F. **Produção e caracterização de farinhas e concentrados proteicos de amaranto**. 2002. p. 62. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.

AZEVEDO, C. C.; BORA, P. S.; SILVA, B. L. A. Acetilação e funcionalidade das proteínas das amêndoas da munguba (*Pachira aquatica* Aubl). **Revista Instituto Adolfo Lutz.**; v. 70(1), p. 69-76, 2011.

AZEVEDO, J. J. C.; LIBERATO, M. C. T. C.; MORAIS, S. M.; SALUSTIANO, G. L.; MACHADO, L. K. A. Caracterização físico-química de pólen apícola produzido por abelhas *apis mellifera* no ceará. Anais, **49º Congresso Brasileiro de Química, A Química e a Sustentabilidade**. Porto Alegre-RS. 2009.

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

BARRETO, L.M.R.C. **Pólen apícola brasileiro: perfil da produção, qualidade e caracterização organoléptica**. Dissertação Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista. 2004.

BARRETO, L. M. C.; NORDI, J. C.; DIB, A. P. S.; CÉSAR, V. S.; ALVARELI, L. G.; NORDI, N. T.; CANELLA, J. B. Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba-SP. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 18, p. 64-70, 2012.

BATISTA, K. A. **Extrusão de farinha de jeijão *hard-to-cook*: características bioquímicas e propriedades funcionais**. 2010. p. 116. Dissertação. (Mestre em tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Goias. Goiania, 2010.

BEZERRA, T. K. A.; PRADO, J. P. S.; MADRUGA, M. S.; ARCANJO, N. M. O.; MACIEL, C. E. P.; SOUSA, G. T. **Análise de aminoácidos em produtos de origem animal**. IV SICTA. Simpósio em Ciencia e Tecnologia de Alimentos. João Pessoa-PB, 2012.

BOLONTRADE, A. J.; SCILINGO, A. A.; AÑÓN, M. C. Amaranth Propriedades Proteínas formação de espuma: Adsorção Cinética e formação de espuma-Parte 1. Colóides e Superfícies B: **Biointerfaces**, v. 105, p. 319-327. 2013.

BOS, M. A.; VAN VLIET, T. **Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: A review**. Advances in Colloid and Interface Science, 91. p. 437–471, (2001).

BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. **Food Research International**, v. 43, p. 414–431, 2010.

BRAMMER, S. P. **A técnica de eletroforese: importância e aplicações em análises genéticas**. Passo Fundo, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Polen Apícola, Propolis e Extrato de Própolis**. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego**. Portaria nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: <<http://institutolenus.com.br/wpcontent/uploads/2012/05/Portarian5401997aditivos2.pdf>>. Acesso em: 24 de Maio de 2014.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Instrução Normativa nº 11, de 20/10/2000, Padrão de Identidade e Qualidade do Mel. DOU de 23/01/2001, Seção 1, p. 18-23. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br//das/dispoa/instrunormativa11.htm>>. Acesso em: 30 Abril de 2015.

BREYER. **O pólen apícola**. 2007 Disponível em:<http://breyer.ind.br/apicultura/apicultura_polen.htm>. Acesso em 01 de Abril de 2015.

CAMAZINE, S. The regulation of pollen foraging by honey bees: How foragers assess the colony's need for pollen. **Behaviour Ecology and Sociobiology**, 32: 265-272, 1993.

CAMPOS, M.G.; WEBBY, R.F.; MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K.A.; DA CUNHA, A.P. Aged induced diminution of free radicals scavenging capacity in bee-pollens and the contribution of constituents favonoids. **Journal Agriculture Food Technology**. v. 51, p. 742-745, 2003.

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de Apis mellifera L. da região sul do Brasil**. tese. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2008.

CARPES, S. T.; CABRAL, I. S. R.; ROSALEN, P. L.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. **Caracterização do potencial antimicrobiano dos extratos de pólen apícola da região sul do Brasil**. Alimentos e Nutrição Araraquara v.20, n.2, p. 271-277, abr./jun. 2009.

CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. **Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil**. Química Nova, v. 31, n. 7, p. 1660-1664, 2008.

CARVAJAL, J. C. L. **Caracterização e modificações químicas da proteína da microalga spirulina (*Spirulina maxima*)**. 2009. p. 73. Tese (Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal da Paraíba, 2009.

CARVALHO, A. V.; GARCIA, N. H. P.; FARFÁN, J. A.; WADA, J. K. A. Caracterização de concentrado e isolado proteico extraído de sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 01-08, janeiro/março, 2009.

CASTRO, R.N.; **Aplicação da presença de vitaminas C, D e E por cromatografia líquida de alta eficiência, em amostras no estado do Rio de Janeiro, após análise palinológica.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA. Campo Grande – MS. 14. p.69, 2002.

CATTANEO, F.; SAYAGO, J. S.; ALBERTO, M. R.; ZAMPINI, I. C.; ORDOÑEZ, R. M.; CHAMORRO, V.; PAZOS, A.; ISLA, M. N. Anti-inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour. **Food Chemistry**. v. 161, p. 391–399. 2014.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias.** Zaragoza: Acribia, 346p., 1989.

CHOU, D. H.; MORR, C. V. Protein-water interactions and functional properties. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 56, n. 1, p. 53-62, 1979.

CONN, E; STUMPF, P. K. **Introdução a bioquímica.** Tradução Lélia Mennucci outros. 4ª edição. São Paulo: Edgar Blucher, 2007, 525 p.

COSTA, F. M. Características produtivas e reprodutivas de colônias de *Apis mellifera* submetidas a alimentação natural na região de Maringá-PR. In: **Congresso Brasileiro de Apicultura**, 13, 2000, Florianópolis. Anais. Florianópolis: CBA, 2000.

COULTATE, T. P. **Alimentos: A química de seus componentes.** 30 ed. Porto Alegre: Artemed, 2004.

DALGLEISH, D. G. Food emulsions: their structures and properties. In S. E. Friberg, K. Larsson, & J. Sjöblom (Eds.), **Food emulsions** (p. 1-44). Marcel Dekker, Inc. (2004).

DAMODARAN, S.; KIRK. L. P.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema.** Porto Alegre. 4ª ed. p.101. Artmed, 2010.

DAMADORAN, S. Amino acids, peptides and proteins. **In:** FENNEMA, O.R.(Ed). **Food Chemistry**.3 ed. New York-USA: Marcel Dekker, 1996.

DENCH, J. E.; RIVAS, R. N.; CAYGILL, J. C. Selected functional properties of sesame (*Sesamun indicum* L.) flour and two protein isolates. **J Sci. Food Agric.**, 32, 557-564, 1981.

EMBRAPA. Flora apícola arbórea flora apícola arbórea nativa na região ser va na região serrana de Pelotas para a elotas para a apicultura sustentável na apicultura sustentável na metade Sul do Rio Grande do Sul Grande do Sul Grande do Sul. Embrapa Clima Embrapa Clima Temperado. Dezembro de 2008.

FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M.P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J.A.; IGLESIAS, A. Organic bee pollen: Bioactive compounds, antioxidante activity and microbiological quality. **Molecules**, 17, p. 359-377, 2012.

FNAP, **Federação Nacional dos Apicultores de Portugal**, Manual de criação de rainhas autóctones em Portugal, 2009;

FNAP, **Federação Nacional dos Apicultores de Portugal**, Manual de produção de Pólen e Própolis, 2010.

FERREIRA, C. F. G. **Adsorção da proteína glnb de herbaspirillum seropedicae sobre a superfície da mica analisada por microscopia de força atômica**. Curitiba, UFPR, 2008, p. 78. (Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Paraná) 2008.

FOEGEDING, E. A.; DAVIS, J. P. **Food protein functionality: A comprehensive approach**. Food Hydrocolloids, 25, p. 1853–1864, 2011.

FONTANARI, G. G. **Isolado protéico de farinha de semente de goiaba (*psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais e térmicas**. 2006, p. 118. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara, 2006.

FONTANARI, G. G.; JACON, M. C.; PASTRE, I. A.; FERTONANI, F. L.; NEVES, V. A.; BATISTUTI, J. P. Isolado protéico de semente de goiaba (*Psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 73-79, 2007.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins food colors**. New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

FUNARI, S. R. C.; ROCHA, H. C.; SFORCIN, J. M.; FILHO, H. G.; CURI, P. R.; GOMES-DIERCKX, S. M. A. **Composições bromatológica e mineral do pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) Botucatu, Estado de São Paulo**. Arch Latinoam Prod Anim. 11(2), p. 88–93, 2003.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. v.20 n.2. Campinas Maio-Agosto. 2000.

GOLDMEYER, B.; PENNA, N. G.; MELO, A.; ROSA, C. S. Características físico-químicas e propriedades funcionais tecnológicas do bagaço de mirtilo fermentado e suas farinhas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p. 980-987, 2014.

GOMES, J. C.; SILVA, C. O.; COSTA, N. M. B.; PIROZI, M. R. Desenvolvimento e caracterização de farinhas de feijão. **Revista Ceres**, v. 53 nº 309: p. 548-558, 2006.

GORNALL, A. G.; BORDAWILL, C. S.; DAVID, M. M. **The determination of protein by the biuret reaction**. Journal Biology Chemistry, v. 177, p.751-780, 1949.

GUIMARÃES, R. C. A.; VIANNA, A.C.; MACHADO, A. A.; FAVARO, S. P. Caracterização química da farinha desengordurada e obtenção do concentrado protéico de amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.). In: IX Simpósio Nacional de

Cerrados e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais, 2008, Brasília. **Anais do IX Simpósio Nacional de Cerrados e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais**, 2008.

HALLING, P. J. Protein stabilized foams and emulsions. **Critical Review Food Science Nutrition**, v. 15, p. 155-203, 1981.

JAMES, C.; SLOAN, S. Functional properties of edible rice bran in model systems. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 1, p. 310-311, 1984.

KARACA, A. C.; LOW, N.; NICKERSON, M. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. **Food Research International**, v. 44, p. 2742–2750, 2011.

KARLING, M.; CARPES, S.T. **Estudo da melhor condição de extração de compostos com atividade biológica *in vitro* em extratos etanólicos de pólen apícola**. Seminário de iniciação científica e tecnológica da UTFPR. 2010.

KAUR, M; SINGH, N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 366-374, 2007.

KINSELLA, J. E. **Functional properties of proteins in food: a survey**. Critical Review Food Science and Nutrition, v. 1, n. 3, p.219-229, 1976.

KINSELLA, J. E. Structure and Functional Properties of Food Protein. In: Fox, P.P., Condon, J. J., **Food Proteins**, Applied Science Published, p. 72-85, 1982.

KINSELLA, J. E.; DAMODARAN, S.; GERMAN, A. B. Physicochemical and functional properties of oilseed proteins with emphasis on soy proteins. In: ALTSCHUL, A.M.; WILCKE, H.L. **New Protein Foods**, 2.ed. Orlando: Academic Press, v. 5, p. 107-79, 1985.

KOSTIC, A. Z.; BARAC, M. B.; STANOJEVIC, S.P.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D. M.; TESIC, Z. L.; SIROPARIJA, B.; RADISIC, P.; PRETOVIC, M.; PESIC, M. Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. **Food Science and Technology**. v.62, p.301-309, 2015.

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

LAEMMLI, U. K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage**. Nature. p. 227: 689-95, 1970.

LEITE, D. D. F. **Estudo das propriedades funcionais das farinhas do grão de sorgo (*sorghum bicolor* (L.) Moench) *in natura* e germinado**. 2014 p. 59. Monografia (Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Campina Grande. Pombal-PB.

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

LENGLER, S. **Pólen apícola**. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2 ed., 2002.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. **Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações**. Archivos latinoamericanos de nutrición Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. v. 58 Nº 4, p. 416 – 421, 2008.

LIN, C. S.; ZAYAS, J. F. Functionality of defatted corn germ protein in a model system: fat binding capacity and water retention. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 5, p. 1308-1311, 1987.

LOPES J; STANCIU O.G; CAMPOS M.G; ALMARAZ-ABARCA N; ALMEIDA-MURADIAN L.B; MARGHITAS L.A. Bee pollen antioxidant activity - a review: achievements and further challenges. **Journal of pharmacognosy**, v.2, n.2, p.25-38, 2011.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de Alimentos**. Jaboticabal: Ed. Funep. p.240 – 243. 2000.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p; 265-276, 1951.

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

MARTIN-MUNOZ, M. F.; BARTOLOME, B.; CAMINO, M.; BOBOLEA, I.; GARCIAARA, M. C.; QUIRCE, S. Bee pollen: a dangerous food for allergic children. Identification of responsible allergens. **Allergol Immunopathol**. V.38, n.5, p.263–265, 2010.

MARTINS, M. C. T. **Pólen apícola brasileiro: valor nutritivo e funcional, qualidade e contaminantes inorgânicos**. 2010 p. 5. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, 2010.

MARTINS C.T.; MORGANO M.A.; VICENTE E.; BAGGIO S.R.; RODRIGUEZAMAYA D.B. Physicochemical composition of bee pollen from eleven brazilian states. **Journal of Apicultural Science**. v. 55, n. 2, p. 107-116, 2011.

MARIOD, A. A.; FATHY, S. F.; ISMAIL, M. Preparation and characterisation of protein concentrates from defatted kenafseed. **Food Chemistry**, v. 123, p. 747–752, 2010.

Mc WATTERS, K. H.; HOLMES, M. R. **Influence of moist heat on solubility and Emulsification Properties of Soy and Peanut Flour.** Journal of Food Science. 44(3): p. 774–776, 1979.

MELO, I.L.P.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. **Comparison of methodologies for dried bee pollen's moisture determination.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, p. 194-197, 2011.

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

MENEZES, J. D. S. **Compostos bioativos do pólen apícola.** 2009. p. 11. Dissertação (Ciência de Alimentos) Universidade Federal da Bahia. 2009.

MENEZES, J. D. S.; MACIEL, L. F.; MIRANDA, M. S.; DRUZIAN, J. I. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). **Revista Instituto Adolfo Lutz.** 69(2): p. 233 - 342, 2010.

MODESTI, C. F.; CORRÊA, A. D.; OLIVEIRA, E. D. ABREU, C. M. P. SANTOS, C. D. Caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca obtido por precipitação com calor e ácido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(3): 464-469, jul.-set. 2007.

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

MORAES, C. S.; JUNIOR, F. O. R. O.; MASSON, G.; REBELLO, K. M.; SANTOS, L. O.; BASTOS, N. F. P.; FARIA, R. C. R. **Métodos experimentais no estudo de proteínas** - Rio de Janeiro: IOC, 2013. p. 61. (Série em biologia celular e molecular). 2013.

MORAIS, M., MOREIRA, L., FEÁS, X., ESTEVINHO, L.M. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: palynological origin, phenolic content, antioxidante properties and antimicrobial activity. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 1096-1101. 2011.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEIN, J. M.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A. ; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal Food Sciences**, v. 50, p. 1715 - 1718, 1985.

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

NASCIMENTO, H. M. A. **Caracterização físico-química e funcional das proteínas de amêndoas do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2013.

NASRI, N. A.; TINAY, A. H. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. **Food Chemistry**. v. 103 p. 582–589. 2007.

NARAYANA, K.; NARASINGA RAO, M. S. Functional properties of raw and heat processed winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) flour. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 534–538, 1982.

NEGRÃO, A. F. **Efeito da sazonalidade no teor proteico e composição de Aminoácidos no pólen apícola produzido em botucatu, Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2014.

NAVES, L. de P.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P. de; SANTOS, C. D. dos. Nutrientes e propriedades funcionais em sementes de abóbora (*Cucurbita máxima*) submetidas a diferentes processamentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 185-190, 2010.

NELSON, D.; COX, M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed. 5ª edição. p. 1273. 2011.

NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. **Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis melífera***. Brazilian Journal of Food Technology, VII BMCFB, junho 2009.

NEVES, V. A.; PEREIRA, D. D.; SHASHIMA, A. H. R.; TAVANO, O. L. Características da solubilidade protéica e isolamento da globulina principal de caupí (*vigna unguiculata* (L.) walp.) cultivar br 14-mulato. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.14, n.1, p. 47-55, 2003.

NICOLSON, S.W.; HUMAN, H. Chemical composition of the 'low quality' pollen of sunflower (*Helianthus annuus*, Asteraceae). **Apidologie**., v.44, p.144-152, 2013.

NOGUEIRA, C. M. P. **Estudo do polén apícola comercial**. 2012. p. 07. Dissertação (Qualidade e Segurança Alimentar) Escola Superior Agrária de Bragança. 2012.

OLIVEIRA, R. R. **Gestão da apicultura no Distrito Federal**. Dissertação (Mestre em administração) Universidade de Brasília, Brasília-DF. 2011.

PACHECO, M. T. B.; DIAS, N. F. G.; BALDINI, V. L. S. ; TANIKAWA, C.; SGARBIERI, V. C. propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25(2): p. 333-338, abril-junho, 2005.

PAL, R. **Rheology of simple and multiple emulsions**. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 16, 41–60, 2011.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L. M. **Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory**. Food and Chemical Toxicology 63. p. 233–239, 2014.

PENFIELD, M.P.; CAMPBELL, A.M. **Experimental food science**. 3.ed. The University of Tennessee, Knoxville - University of Nebraska, 386p., 1990.

PETERSEN, J.; SOUZA, E. M. P.; MOREIRA, R. M.; PASIN, L. E. V.; NORDI, J. C.; BARRETO, L. M. R. C. **Comercialização do pólen apícola em 11 países da América Latina**. Magistra (Universidade Federal do Recôncavo da Bahia). v. 23, p. 14-16, 2011.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie**, v. 38, p. 77-80, 2005.

PERICIN, D.; RADULOVIC, L.; TRIVIC, S.; DIMIC, E. Evaluation of solubility of pumpkin seed globulins by response surface method. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 591–594, 2008.

PEROSA, J. C. Y.; ARAUCO, E. M. A.; SANTOS, A. L. A.; ALBARRACÍN, V. N. Parâmetros de competitividade do mel brasileiro. **Informações econômicas**, v. 34: p. 41-48. 2004.

PHILLIPS, L. G.; WHITEHEAD, D. M.; KINSELLA, J. In S. L. Taylor (Ed.), Structure-function properties of food proteins. p. 25-178. San Diego, California: **Academic Press, Inc.** 1994.

PINTO, F. A.; CAMPOS, C. N.; BARRETO, E. L. M. R. C. Perfil físico-químico do pólen apícola produzido em Taubaté, Vale do Paraíba, sudeste do Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**. v. 20, n.1-2: p. 1-6, 2012.

POMERANTZ, Y. **Food Theory and Applications**, 2nd ed. Academic Press, Westport, Connecticut, 1991.

PORTE, A.; SILVA, E. F.; ALMEIDA, V. D. S.; SILVA, T. X.; PORTE, L. H. M. Propriedades funcionais tecnológicas das farinhas de sementes de mamão e de abóboras. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.1, p.91-96, 2011.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.14, n.2, p. 237-250, 2003.

ROCHA, J. F. M. **Avaliação do efeito do armazenamento na qualidade do pólen apícola**. Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do grau de mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. 2013.

RODRIGUES, I. M.; COELHO, J. F. J.; CARVALHO, M. G. V. S. Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 337–346, 2012.

ROULSTON, T. H.; DAFNI, A.; KEVAN, P.G.; HUSBAND, B.C. Pollen as a reward. **Practical Pollination Biology**. Cambridge: Enviroquest, 2005. p.234–260.

SÃO PAULO. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz: **Métodos físicos e químicos para análise de alimentos**. 5 ed. São Paulo, 2008.

SANTOS, C. T. **Farinha da semente de jaca: Caracterização físico-química e propriedades funcionais**. 2009, p. 73. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste Da Bahia. Itapetinga, 2009.

SANTOS, F. de A. R. **Identificação botânica do pólen apícola**. Magistra, Cruz das Almas-BA, v. 23, número especial, outubro, 2011.

SANTOS, L. V. **Emulsificantes – modo de ação e utilização nos alimentos**. 2008. p. 10. Trabalho Acadêmico. (Departamento de Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Pelotas. 2008.

SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Solubilization and electrophoretic characterization of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 1, p. 82–87, 1981.

SATTER, J. A. G. **Quantificação das vitaminas antioxidantes E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol), C (ácido ascórbico), pró-vitamina A (α -, β -caroteno) e composição química do pólen apícola desidratado produzido em apiários georreferenciados da região Sul do Brasil**. Dissertação (Mestre em Alimentos dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

SCHULTZ, S.; WAGNER, G.; URBAN, K.; ULRICH, J. **High-pressure homogenization as a process for emulsion formation**. *Chemical Engineering and Technology*, 27. p. 361–368, 2004.

SCHWENZFEIER, A.; WIERENGA, P. A.; GRUPPEN, H. Isolation and characterization of soluble protein from the green microalgae *Tetraselmis* sp. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9121-9127, 2011.

SEBRAE. Apicultura: uma oportunidade de negócio sustentável. SEBRAE Salvador 2009.

SGARBIERI, V. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Livraria Varela Ltda.1996.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins: from “gutter to gold”. **International Dairy Journal**. v. 8: p. 695-704. 2008.

SILVA, P. M.; ROCHA, M.; RIOS, D. G.; VARGAS, C. T.; SALAS-MELLADO, M. M. Propriedades funcionais de isolado protéico de farelo de arroz. **4º Simpósio de Segurança Alimentar**. FAURGS. Gramado – RS. 2012.

SILVA, M. A.; NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J. Frações protéicas e globulina principal de Grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), cv IAC-Marrocos. **Alimentos Nutrição**, v. 12, p. 131-149, 2001.

SILVA-SÁNCHEZ, C.; GONZÁLEZ-CASTAÑEDA, J.; DE LEÓN-RODRÍGUEZ, A.; BARBA DE LA ROSA, A. P. Functional and Rheological Properties of Amaranth Albumins Extracted From Two Mexican Varieties. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, p. 169–174, 2004.

SILVEIRA, D. C. **Avaliação da agressividade de abelhas *apis mellifera* L. Africanizadas no sertão da paraíba**. 2012, p. 69. Dissertação (Mestre em Sistemas Agroindustriais). Universidade Federal de Campina Grande. Pombal, 2012.

SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. Soybeans: chemistry and technology. Westport: Avi Publishing, p. 294, 1972.

SPEROTTO, R. A. (Org.) **Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana**. Lajeado Editora da Univates, 324 p. 2014.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: Biology, biochemistry, management** (p.117e248). Heilderberg: Springer-Verlag Berlin, 1974.

TÖMÖSKÖZI, S.; LÁSZTITY, R.; HARASZI, R. BATICZ, O. Isolation and study of the functional properties of pea proteins. **Nahrung**, Berlim, v. 45, n. 6, p. 399-401, 2001.

TORRES, A.; GUINAND, J.; GUERRA M. M. Propiedades nutricionales y estabilidad de los componentes de los alimentos. In: Guerra Modernell, M., cood. **Efecto del procesamiento sobre la calidad nutricional de los alimentos**. Madrid, Miranda: CYTED. V. 1, p. 1-18. 2003.

TOWNSEND, A. A.; NAKAI, S. Relationships Between Hydrophobicity and Foaming Characteristics of Food Proteins. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 2, p. 588-594, 1983.

VELOSO, A. N.; TEIXEIRA, N.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; FERREIRA, M. A. Detecção de adulterações em produtos alimentares contendo leite e/ou proteínas lácteas. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 609-615, 2002.

VIDAL, M. F. **Efeitos da seca de 2012 sobre a apicultura nordestina**, Informe Rural Etene Banco do Nordeste do Brasil S/A. ano VII, n.2, 2013.

VOJDANI, F. **Solubility. Methods of testing protein functionality**. London: Blackie Academic & Professional. p. 11–60, 1996.

WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; CABRAL, L. C. Solubilidade de nitrogênio, dispersibilidade de proteína e propriedades emulsificantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 12-17, 2000.

WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p.3-5, 2006.

YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S. **Whippings and emulsifying properties of soy bean products**. Agr Biol Chem. 35 n.5. p. 719-727, 1972.