

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SAZONALIDADE NO TEOR PROTEICO E COMPOSIÇÃO DE
AMINOÁCIDOS NO PÓLEN APÍCOLA PRODUZIDO EM BOTUCATU,
ESTADO DE SÃO PAULO**

ADRIANA FAVA NEGRÃO

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU – SP

Janeiro – 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SAZONALIDADE NO TEOR PROTEICO E COMPOSIÇÃO DE
AMINOÁCIDOS NO PÓLEN APÍCOLA PRODUZIDO EM BOTUCATU,
ESTADO DE SÃO PAULO**

ADRIANA FAVA NEGRÃO

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU – SP

Janeiro – 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

N385e Negrão, Adriana Fava, 1988 -
Efeito da sazonalidade no teor proteico e composição de
aminoácidos no pólen apícola produzido em Botucatu, Estado
de São Paulo / Adriana Fava Negrão. - Botucatu : [s.n.],
2014
vii, 48 f. : il., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
2014
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Inclui bibliografia

1. Abelha - Criação. 2. Aminoácidos na nutrição animal.
3. Abelha - Polén. I. Orsi, Ricardo de Oliveira. II. Univer-
sidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus
de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
III. Título.

Dedico

Aos meus pais, Maria Amália e Antonio Carlos, por serem as pessoas mais maravilhosas da minha vida. Por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos. Por terem me incentivado a perseguir todos os meus sonhos. Pessoas nas quais me espelho. Que fizeram sacrifícios para que eu alcançasse meus objetivos. Pessoas por quem eu faço o meu melhor para que sempre tenham orgulho de mim. Amo-os incondicionalmente.

A minha irmã, Aline, pelo companheirismo, carinho e amizade que só fizeram aumentar ao longo das nossas vidas.

Aos meus padrinhos, Cida e Jorge, e meus primos Danilo e Marcelo, por todo carinho recebido durante todos os momentos da minha vida. Obrigada por me apoiarem em mais esta jornada. Adoro vocês.

Aos meus tios, Eliza e Manoel, por sempre estarem ao meu lado, desde quando saí de casa para buscar meus objetivos, até o momento em que conquisto mais uma etapa. Obrigada por tudo.

Ao meu avô, Durval, pelo amor que recebo desde sempre. Por me pedir um pote de mel e um cabritinho toda vez que eu voltava para casa. Para você eu sempre digo: Um queijo Durvalina.

Ao meu priminho, Lucas, por me ensinar um amor tão enorme e maternal. Por me alegrar com suas brincadeiras e por me deixar dar umas broncas merecidas. Você ilumina minha vida de muitas maneiras. Te amo Lukete.

Agradeço

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade concedida de estudar em um programa de excelência.

A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa inicial concedida.

A FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa e reserva técnica concedida.

Ao meu orientador e amigo (como um irmão), Professor Doutor Ricardo de Oliveira Orsi, por ter me mostrado o mundo da apicultura, e me despertado a paixão pelas abelhas. Por todos os ensinamentos, pela dedicação e paciência. Obrigado por me ajudar a crescer tanto pessoalmente, como profissionalmente.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ, Seila e Carlos, e ao secretário do Departamento de Produção Animal, Renato, pelos serviços prestados.

Aos meus colegas da pós-graduação, Thais, Melina, Edson, Renata, Rodrigo e Samir, pelo companheirismo, atenção, ajuda e pelos descontraídos almoços (e é claro muito deliciosos).

Aos meus amigos, Anelise (Rumi), Jessica (Funci) e Célio (Puro), por compartilharem momentos inesquecíveis durante todos esses anos e espero que durante muitos mais.

Aos profs. João Carlos Nordi e Simone Fernandes, pelas sugestões dadas ao trabalho, visando sua melhoria. Muito Obrigada!

A todos que, direta ou indiretamente, me auxiliaram nesta pesquisa e contribuíram para a conclusão deste mestrado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	01
Considerações iniciais	02
1. As Abelhas <i>Apis mellifera</i> L.	02
1.1. Histórico	02
1.2. Castas e produtos apícolas	04
2. O grão de pólen	05
3. Coleta de pólen pelas abelhas operárias	06
4. Importância do pólen para as abelhas	07
5. O pólen apícola	09
5.1. Definição e obtenção	09
5.2. Beneficiamento do pólen apícola	10
6. Composição química do pólen apícola	11
7. Importância do conhecimento da qualidade do pólen apícola	13
8. Benefícios do pólen apícola para a saúde humana	14
9. A palinologia	15
Referências Bibliográficas	17
CAPÍTULO II	26
Resumo	27
Abstract	28
1. Introdução	29
2. Material e Métodos	30
2.1. Origem das amostras	30
2.2. Produção de pólen apícola	30
2.3. Análise palinológica	31

2.4. Análise de proteína total	32
2.5. Análise de aminoácidos	32
2.6. Análise de resultados	32
3. Resultados	32
4. Discussão	35
6. Conclusões	39
7. Referências	42
CAPÍTULO III	42
Implicações	43
ANEXOS	44

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Médias (%) e desvios-padrão dos teores proteicos para granulometrias maior que 2,0mm e menor que 2,0mm e o teor de proteína total, de amostras de pólen apícola coletado por <i>Apis mellifera</i> em diferentes estações do ano.....	33
Tabela 2. Médias (g/100g) e desvios-padrão da composição de aminoácidos, de amostras de pólen apícola coletado por <i>Apis mellifera</i> em diferentes estações.....	34

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. As abelhas *Apis mellifera* L.

1.1. Histórico

Acredita-se que as abelhas surgiram há cerca de 30 milhões de anos atrás, e que este fato esteja intimamente ligado à evolução das plantas angiospermas (Pirani e Cortopassi-Laurino, 1993; Tautz, 2010). Durante o desenvolvimento da vida na terra havia insetos, semelhantes às vespas atuais, que visitavam as flores para coletar néctar, sua principal fonte de energia, e caçavam pequenos animais para suprir sua necessidade de proteínas. Quando algumas destas vespas substituíram a proteína animal de sua dieta pela proteína vegetal, isto é, passaram a consumir pólen, também iniciaram uma história de vida própria. Dessas vespas originaram-se as abelhas (Pirani e Cortopassi-Laurino, 1993).

Desde a antiguidade as abelhas têm sido valorizadas pelos seus produtos e observadas pelo seu comportamento, gerando grande admiração. A interação entre seres humanos e abelhas da espécie *Apis mellifera* L. é muito antiga. Os primeiros registros de abelhas foram encontrados em pinturas de cavernas e manuscritos de livros científicos. Gravuras feitas em cavernas datadas de 7.000 a.C., mostram o ser humano colhendo mel de ninhos silvestres de forma extrativista, sem qualquer tipo de cuidado, causando danos à estrutura e longevidade dos enxames (Crane, 1999).

As abelhas *Apis mellifera* L. originaram-se no continente africano e, em seguida, em pelo menos dois eventos diferentes e anteriores à chegada do *Homo sapiens*, migraram para a Ásia e Europa diferenciando-se em pelo menos duas dúzias de subespécies fisiologicamente, comportamentalmente e morfolologicamente distintas (Parker et al., 2010).

Com o processo da expansão territorial europeia e a colonização das novas terras descobertas, as abelhas que antigamente ocupavam apenas o Velho Mundo foram introduzidas em locais onde não se tinham registros de existência. Os primeiros ninhos de *Apis mellifera* encontrados nas Américas datam do século XVII, no ano de 1621 (Crane, 1990).

Em março de 1839 o Padre Antônio Carneiro trouxe para o estado do Rio de Janeiro, proveniente da cidade de Porto em Portugal, as primeiras abelhas europeias da subespécie *Apis mellifera mellifera*. Imigrantes alemães, entre os anos de 1870 e 1880, trouxeram para o Rio Grande do Sul as abelhas *Apis mellifera ligustica*. Outras subespécies também foram trazidas por imigrantes europeus, disseminando-se, assim, as abelhas *Apis mellifera* L. por todo território brasileiro (Wiese, 2005).

Em meados de 1950, a produção apícola nacional era muito baixa (cerca de 4 a 6 mil toneladas/ano), a maioria dos equipamentos apícolas eram importados (centrifugas, decantadores, mesas desoperculadoras etc.) e o associativismo era praticamente inexistente (De Paula, 2008).

Em 1955, havia um enorme descontentamento com a baixa produtividade de mel das *Apis mellifera* no Brasil, que não era condizente com o tamanho do país e com suas características tropicais, propícias à exploração da apicultura e esta situação chamou a atenção de algumas autoridades brasileiras. Neste período, a Argentina apresentava grande destaque internacional, sendo considerada como um dos cinco maiores produtores mundiais de mel, ao passo que o Brasil não figurava nem entre os primeiros vinte países produtores de mel (Kerr, 1967).

Devido ao interesse do governo brasileiro em mudar a situação da apicultura nacional, o Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr dirigiu-se a África, trazendo e introduzindo em 1956, na cidade de Rio Claro no estado de São Paulo, as abelhas africanas *Apis mellifera scutellata* (Gonçalves, 2006).

Em 1957, 26 enxames, com suas respectivas rainhas africanas, escaparam e se estabeleceram como colônias selvagens. Iniciou-se então uma rápida expansão das abelhas *Apis mellifera scutellata* por todo o Brasil realizando um intercruzamento com as várias subespécies europeias aqui existentes originando um descendente polihíbrido, denominado abelha africanizada, tendo predominância das características das abelhas africanas (De Jong, 1996; Gonçalves, 2006).

Este novo híbrido apresentou desempenho superior as abelhas europeias presentes no continente. Além da alta capacidade de produção, essa nova abelha demonstrou importantes características como rápida adaptação, desenvolvimento populacional, rusticidade, resistência a doenças, prolificidade, eficiência na polinização e maior capacidade de identificação de fonte de alimento (Couto e Couto, 2006).

As abelhas africanizadas rapidamente se espalharam pelas Américas, colonizando inicialmente o Brasil, seguindo por quase toda a América do Sul, exceto as regiões abaixo do paralelo 35° na Argentina, onde o limite foi provavelmente imposto pelas baixas temperaturas de inverno encontradas nesta região (Sheppard et al., 1999). Ao Oeste, sua expansão foi limitada pela presença da Cordilheira dos Andes, que impediu a passagem dos enxames em razão das baixas temperaturas. Segundo Del Lama et al. (2004), devido as Cordilheiras, o Chile é o único país da América do Sul que não apresenta abelhas africanizadas em seu território até os dias de hoje.

A América Central foi rapidamente colonizada, mesmo com as tentativas frustradas de se criar barreiras que impedissem o avanço dos enxames na região do Panamá. Atualmente, ocupam grande parte ou totalidade dos Estados do Texas, Califórnia, Arizona, Novo México e Nevada, no Sul dos Estados Unidos (Alice Pinto et al., 2007).

O surgimento das abelhas africanizadas no Brasil e as suas consequências para a vida dos produtores apícolas, comerciantes e pesquisadores, causaram grande modificação no cenário apícola brasileiro, sendo considerado como marco divisório na história da apicultura brasileira (Nogueira-Couto e Couto, 2006).

1.2. Castas e produtos apícolas

As abelhas *Apis mellifera* L. são insetos sociais que vivem em colônias organizadas onde os indivíduos se dividem em três castas, possuindo funções bem definidas que são executadas visando sempre à sobrevivência e manutenção do enxame. A abelha rainha (fêmea fértil) tem a função de manter a coesão do enxame através da liberação de feromônios, a cópula com o zangão durante o vôo nupcial e a postura diária de milhares de ovos, garantindo o nascimento de novos indivíduos. O zangão (macho fértil) é responsável pela fecundação da abelha rainha durante o vôo nupcial.

A manutenção dos trabalhos da colmeia é realizada pelas abelhas operárias (fêmeas inférteis), que dividem as tarefas de acordo com sua idade fisiológica. Do 1° ao 3° dia de vidas, realizam a limpeza de quaisquer sujidades existentes na colônia. Do 4° ao 12° dia, cuidam da nutrição das larvas, produzem geleia real alimentando a rainha e providenciam a criação de novas rainhas, caso seja necessário. Do 13° ao 18° dia são responsáveis pela produção de cera e construção dos favos. Do 19° ao 20° dia ficam de

guarda no alvado defendendo seu território contra qualquer invasão. E, finalmente, do 21º dia em diante as abelhas operárias fazem os serviços externos no campo, coletando néctar, pólen, resinas e água, os quais são recursos de manutenção dos enxames e tornam-se produtos importantes para a produção apícola (Wiese, 2005).

A apicultura é uma das raras atividades pecuárias que não têm impacto ambiental negativo. Ao contrário, transforma o apicultor em um “ecologista prático”, pois a polinização intensiva favorece a manutenção da biodiversidade, causando impacto positivo na sustentação do ecossistema local, bem como aumento de produtividade em diversas culturas. No Brasil há uma grande disponibilidade de matéria-prima e atualmente, exploram-se apenas 15% do potencial da flora apícola (Barreto et al., 2006).

Atualmente, além do mel, outros produtos também podem ser obtidos por meio da exploração racional apícola, como a própolis, o pólen, a geleia real, a cera e a apitoxina. Além de fornecerem os produtos citados, as abelhas ainda contribuem ao meio ambiente com seus serviços de polinização. Ao forragear as plantas em busca de alimento (pólen e néctar), as abelhas operárias campeiras promovem a reprodução cruzada dos vegetais, aumentando o vigor das espécies, possibilitando novas combinações de fatores hereditários e melhorando a produção de frutos e sementes (Couto e Couto, 2006). De acordo com Ricketts et al., (2008) em torno de 75% das espécies vegetais existentes são dependentes de agentes polinizadores (água, vento, animais, etc.), no entanto, as abelhas são responsáveis por polinizar cerca de 73% de todas as espécies vegetais cultivadas no mundo.

2. O grão de pólen

Os grãos de pólen são estruturas microscópicas, cuja forma e ornamentação são variáveis. Cada grão de pólen transporta em seu interior, duas células: uma que é vegetativa e outra que tem importância na reprodução, ou seja, a célula geradora ou generativa capaz de produzir células sexuais masculinas (Moreti et al., 2002; Raven et al, 2007).

Cada grão de pólen compreende uma única célula, que se apresenta envolvida por duas camadas protetoras, a exina e a intina, uma mais externa e a outra mais interna, respectivamente. A intina é composta basicamente por celulose e a exina de

esporopolenina, cuja origem deva ser pela polimerização oxidativa de carotenoides (Cornejo, 1994). Os grão de pólen possuem diâmetro entre 6 e 200 μ m, com formas e cores diversas; normalmente são esféricos e possuem poros na superfície, conforme as espécies de plantas das quais foram originados (Almeida-Muradian et al., 2007).

Segundo Barth et al., (2009) os grãos de pólen podem apresentar diversas cores, como branco, amarelo, laranja, vermelho, verde, marrom entre outros, variando de acordo com a presença de flavonóides presentes na exina.

3. Coleta de pólen pelas abelhas operárias

De acordo com Funari et al., (2003) e Costa (2004), os grãos de pólen aderem aos pelos do corpo das abelhas coletoras quando entram em contato com as anteras dos estames florais. Depois de pousar em várias flores, estes grãos são escovados com os pentes tibiais, e então aglutinados com adição de néctar e substâncias salivares em bolotas ou grânulos e colocados na corbícula. A corbícula é uma estrutura resultante de modificações na tíbia do terceiro par de pernas, que se tornou muito larga e ligeiramente côncava na face externa, com pelos de comprimento e formas variáveis dispostos a sua margem. As abelhas africanizadas levam, para a colmeia uma carga média de pólen de 11,4 mg nas duas corbículas, e que corresponde à cerca de 17% do peso da operária coletora.

Para que o vôo tenha uma aerodinâmica perfeita, as duas bolotas de pólen devem ter o mesmo tamanho, peso e forma. Ao chegar à colmeia, a abelha comunica, através de danças, o local onde o pólen foi coletado, recrutando novas campeiras para o trabalho. Em seguida, elege um alvéolo próximo à área de cria para depositar o produto, dobrando o abdome sobre o alvéolo escolhido e, com auxílio do esporão das pernas medianas, derruba as bolotas das corbículas para que caiam no fundo do alvéolo. Em seguida, abelhas mais jovens promovem a compactação do pólen no fundo do alvéolo utilizando a cabeça e mandíbulas. Finalmente, adicionam enzimas, néctar ou mel para prevenir a germinação de pólen e preparam-no para o período de armazenamento dentro dos alvéolos (Barreto et al., 2006).

Este pólen que foi estocado nos alvéolos, que recebeu néctar, mel secreções glandulares e sofreu fermentação láctica ácida é denominado “pão de abelhas” (Breyer, 2007; De Grandi-Hoffman et al., 2013).

4. Importância do pólen para as abelhas

As abelhas *Apis mellifera* possuem necessidades específicas de nutrientes para que possam desenvolver todo o seu potencial produtivo e reprodutivo. O pólen representa a principal fonte de proteínas, gordura (lipídeos), vitaminas e minerais e possui funções fundamentais no desenvolvimento adequado das crias e nutrição de abelhas jovens, no funcionamento das glândulas e ovários e formação das gorduras corporais, além de servir como fonte de nitrogênio (Schäfer et al., 2006; Brodschneider e Crailsheim, 2010). O constituinte mais importante é a proteína, cujo conteúdo pode variar de 4 a 34%, sendo a única fonte natural disponível deste nutriente para as abelhas (Winston, 2003; Estevinho et al., 2011; Silveira, 2012).

Os teores de proteína no pólen são extremamente importantes para a nutrição da colmeia, pois durante os primeiros cinco ou seis dias de vida adulta, as abelhas operárias consomem grandes quantidades de pólen para obter um nível adequado de proteínas e aminoácidos necessários para completar o seu crescimento e desenvolvimento. Da mesma forma, se as abelhas operárias jovens não consomem quantidade ideal de proteínas, suas glândulas hipofaríngeas não se desenvolvem completamente e a produção de geleia real pode ficar prejudicada (Standifer, 2003).

Apesar da presença de altas concentrações de proteína no pólen contribuir mais para o crescimento e desenvolvimento das colônias do que baixas concentrações, a qualidade nutricional do pólen que contém altos teores de proteína será reduzida se existirem quantidades insuficientes dos aminoácidos essenciais. Isto sugere que o valor nutritivo do pólen pode ser definido mais precisamente por meio de sua composição de aminoácidos do que pelo teor de proteínas. Pólens de diferentes espécies de plantas podem diferir na composição de aminoácidos, e pólenes com elevadas proporções de aminoácidos essenciais são assumidos como sendo de maior valor nutricional do que pólenes com proporções inferiores destes compostos (Loper e Cohen, 1987; Day et al., 1990; Cook et al., 2003).

Os primeiros estudos de De Groot (1953) mostraram que dez aminoácidos encontrados na proteína do pólen foram considerados como sendo essenciais para os requerimentos nutricionais das abelhas, indentificados como metionina, arginina, lisina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, histidina, valina, leucina e treonina. Dentre estes,

leucina, isoleucina e valina foram necessários as abelhas em maiores quantidades (aminoácidos “mais essenciais”), triptofano, metionina e histidina em quantidades menores (aminoácidos “menos essenciais”), enquanto que treonina, fenilalanina, arginina e lisina foram necessários em quantidades intermediárias. Uma dieta deficiente em qualquer um destes aminoácidos pode gerar sintomas específicos de deficiência, uma vez que as abelhas não poderão sintetizar as proteínas que os contenham (Brodschneider e Crailsheim, 2010).

Os aminoácidos que são considerados não essenciais para as abelhas são: cisteína, serina, hidroxiprolina, glicina, prolina, tirosina, alanina, asparagina, aspartato e glutamato, entretanto glicina, prolina e serina exercem um efeito estimulante sobre o crescimento dos indivíduos da colônia (De Groot, 1953; Somerville e Nicol, 2006).

Segundo Funari et al. (1998) e Somerville (2005), a deficiência de proteínas e outros nutrientes podem prejudicar o desenvolvimento, manutenção e reprodução das colônias, reduzir a vida das abelhas, provocar estresse e facilitar o aparecimento de doenças, afetar a capacidade das abelhas de cuidarem das crias novas, como também a composição bromatológica das pupas, diminuindo os níveis de proteínas brutas e sais minerais em até 8,4 e 38,5%, respectivamente.

As abelhas operárias visitam uma ou várias espécies florais a fim de obter um pólen completo, de acordo com o tamanho da bolota e do conteúdo nutricional. Desta forma, o pólen monofloral mantém as mesmas características organolépticas e bioquímicas da planta original, enquanto que o pólen heterofloral apresenta propriedades variadas. Assim abelhas alimentadas com determinados tipos de pólen desenvolvem-se mais rapidamente do que com outros, pois a origem botânica do pólen interfere na quantidade de nutrientes presentes neste produto (Moreti et al., 2002).

Experimentos de alimentação demonstram uma necessidade média de 145mg de pólen para que uma abelha operária complete seu ciclo de vida (Stanley e Linskens, 1974). Crailsheim et al. (1992) estimaram que o requerimento de pólen para colônias de abelhas *Apis mellifera*, varia entre 13,4 e 17,8 kg por ano.

5. O pólen apícola

5.1. Definição e Obtenção

Segundo a Normativa N.º 03 de 19 de Janeiro de 2001, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil, 2001) que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, o pólen apícola é definido como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido na entrada da colmeia.

Alguns fatores influenciam a produção satisfatória de pólen apícola, tais como: a qualidade e condições da rainha, que deve ser jovem, sadia e de alta postura; o estado sanitário e nutricional da colmeia que deve ser adequado para se evitar enfermidades e queda na produção; colmeias com altas concentrações de crias abertas e abelhas jovens; realização do levantamento da flora regional a fim de se obter resultados satisfatórios durante a coleta (Crailsheim et al., 1992; Cornejo, 1994).

Para a produção de pólen apícola, o apicultor deve utilizar um coletor, também conhecido como *caça pólen*, que se trata de um acessório adicionado na colmeia. Ele é composto por uma placa de acrílico ou plástico, perfurada (chamada de trampa coletora), contendo pequenos furos com diâmetros de 5,0 mm, tamanho suficiente para permitir que as abelhas os atravessem e entrem na colmeia, mas são suficientemente estreitos para retirar as “bolotas” de pólen presente nas corbículas, por fricção. Estas “bolotas” caem em uma gaveta, recoberta por uma tela de arame impedindo que as abelhas tenham acesso ao produto (Couto e Couto, 2006).

O apicultor pode encontrar vários modelos de coletores de pólen no mercado, com vantagens e desvantagens. Segundo Barreto et al. (2006), os coletores mais utilizados são:

a) O tipo frontal de alvado é de prático manejo e higienização. Entretanto, por estar instalado no alvado principal recebe grande quantidade de sujeira resultante da limpeza interna da colmeia, pois as abelhas constantemente removem partículas estranhas jogando-as para o meio externo.

b) No coletor interno intermediário é aberto um alvado secundário, sendo o principal fechado por uma tela de ventilação. Verifica-se menor quantidade de sujeira e até mesmo o pólen possui um índice de umidade menor que o do tipo frontal.

Portanto, na escolha do coletor deve ser dada a preferência para um modelo de fácil colocação e remoção, que facilite o manejo, que permita excelente higienização, que promova boa ventilação com escape de zangão e que seja bem protegido das alterações climáticas (Barreto et al., 2006).

A colheita deverá ser feita preferencialmente ao final da tarde, quando as abelhas praticamente já encerraram esse trabalho. Com esse procedimento o pólen ficará o menor tempo possível exposto às condições ambientais, que podem prejudicar sua qualidade (Costa e Oliveira, 2005). O transporte deve ser cuidadoso, pois as bolotas são muito úmidas, frágeis e podem se compactar e quebrar, promovendo o aumento da quantidade de pó de pólen, que representa a perda mais importante no momento do beneficiamento (Barreto et al., 2006).

5.2. Beneficiamento do pólen apícola

O beneficiamento é um processo que consiste em transformar o pólen apícola *in natura* em pólen apícola desidratado, definido como sendo o produto que passa por processo de desidratação, seguindo os procedimentos adequados de tratamento, com temperatura inferior a 42 °C, e com teor de umidade inferior a 4% (Brasil, 2001).

De acordo com Lengler (2002) e Barreto et al. (2006), o beneficiamento do pólen apícola inicia-se com o armazenamento em freezer, onde deve permanecer congelado por no mínimo 48 horas, para destruição de possíveis ácaros, ovos ou larvas de traça de cera (*Galleria* sp.) e de outros insetos. O congelamento tem como propriedade controlar o desenvolvimento de microorganismos relacionados à microflora normal contida no pólen. Posteriormente deve ser descongelado gradativamente a temperatura ambiente por um período de 4 a 8 horas.

Após o descongelamento gradativo, o pólen deverá ser colocado em estufa com ventilação forçada, com temperatura entre 40 a 42° C, por um período de 8 a 12 horas, até atingir 3 a 4% de umidade. A estufa deve possuir termostato regulável e ser constituída por chapa de aço inoxidável, com prateleiras que receberão as bandejas de telas em inox. A distribuição do pólen na bandeja deve ser em camadas finas, utilizando-se um garfo inox (Wiese, 2005; Barreto et al., 2006).

Após a desidratação, a limpeza do pólen deverá ser realizada imediatamente, sendo primeiramente passado em peneiras granulométricas para que grumos maiores

sejam desfeitos e o pó do pólen retirado. Após, deve ser realizada a catação manual de sujidades como asas e pernas de abelhas, larvas secas, dentre outros e de própolis ainda misturados ao pólen apícola (Wiese, 2005; Barreto et al., 2006).

Segundo Ribeiro e Silva (2007), para que não ocorra a rehidratação do pólen, este deve ser embalado em latas, tambores ou sacos plásticos atóxicos, próprios para alimentos. Antes de fechar as embalagens, deve-se retirar o ar com auxílio de uma bomba a vácuo. O armazenamento deverá ser em ambiente seco, com temperatura amena e ao abrigo da luz.

O pólen apícola, assim como outros alimentos com alto teor proteico, pode perder o valor nutricional rapidamente caso seja armazenado de forma incorreta. À temperatura ambiente, o pólen *in natura* perde sua qualidade em poucos dias. Congelado, as perdas aumentam muito após um ano, porém se for desidratado a pelo menos 5% de umidade, pode ser mantido por meses sob temperatura ambiente e protegido da luz solar direta (Cornejo, 1994). Portanto, ambientes secos, frios e escuros podem ser considerados ideais para armazenamento do pólen apícola a fim de preservar seu valor nutricional (Campos et al., 2003).

Devido à importância nutricional e funcional dos componentes presentes nos alimentos, é necessário controlar e supervisionar os distintos processos de elaboração, de tal forma que se garanta que os alimentos processados forneçam ao consumidor todos os nutrientes em sua forma mais disponível, além de cobrir seus requerimentos e conservar suas propriedades organolépticas (Torres et al., 2003)

6. Composição química do pólen apícola

A composição do pólen varia de acordo com a espécie vegetal, condições ambientais, idade e estado nutricional da planta quando o pólen está se desenvolvendo, em diferentes localidades, entre estações do ano e em diferentes anos (Szczesna et al., 2002). Em sua composição são encontradas substâncias como proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono, lipídios, vitaminas, minerais (cálcio, cloro, cobre, ferro, magnésio, iodo, molibdênio, selênio, estrôncio, estanho, boro, flúor, fósforo, potássio, enxofre, alumínio, ferro, manganês e zinco), fibras, compostos fenólicos, flavonóides, esteróis e

terpenos, além de poder ser caracterizado quanto à presença de resinas, corantes, enzimas e coenzimas (Villanueva et al., 2002; Bogdanov, 2011).

Barreto et al. (2000) encontraram valores mínimos de 12,0% e máximo de 27,0% para os índices proteicos do pólen apícola da região de Taubaté - Estado de São Paulo, e Funari et al. (2003) analisando pólen coletado da região de Botucatu - Estado de São Paulo, obtiveram composição média de 75,9% de matéria seca; 26,2% de proteína bruta; 5,1% de extrato etéreo; 2,6% de minerais e 1,1% de fibra bruta.

De acordo com Marchini et al. (2006) o pólen analisado na região de Piracicaba - Estado de São Paulo, apresentou as seguintes médias: 21,5% de proteínas; 2,8% de cinzas; 23,6% de umidade; 76,3% de resíduo seco; 3,5% de lipídios; 28,4% de açúcares totais; 20,7mEq kg⁻¹ de pólen de acidez titulável e pH igual a 5,1.

Carpes et al. (2009) analisaram pólen da região Sul do Brasil e encontraram valores médios de 20,47% para os teores de proteína bruta e alta concentração de açúcares reduzidos (48%). Os minerais predominantes nas amostras do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul foram fósforo (7.102,29; 6.873,40; 6.661,73 mg / kg de pólen), seguido pelo potássio (5.383,73; 4.997,77; 4.773,26 mg / kg de pólen), cálcio (1.179,05; 961,93; 848,36 mg / kg de pólen) e magnésio (818,02; 679,01; 725,89 mg / kg de pólen).

Modro et al. (2009) verificaram médias de 84,7±2,9% para matéria seca; 2,1±0,9% para matéria mineral; 26,2±10,5% de proteína bruta; 3,6±1,7% de extrato etéreo e 68,1±9,8% de carboidratos totais para o pólen proveniente do estado de Minas Gerais.

Martins et al. (2011) obtiveram para o teor proteico uma média de 19,57±3,0%, proveniente de 154 amostras de pólen apícola desidratado de 12 diferentes estados brasileiros.

Féas et al., (2012), analisaram 22 amostras de pólen coletados do Parque Nacional do Douro Internacional, Portugal, e encontraram valores para proteína bruta variando entre 19,1% e 27,1%. Já Nicolson e Human (2013), ao estudarem o pólen coletado de campos de produção de *Helianthus annuus* (girassol) obtiveram um valor de proteína bruta de 14,21±0,28 g/100g em massa seca.

Saffari et al. (2010), ao analisarem pólen proveniente de apiários da região sul de Ontário, no Canadá, encontraram os seguintes aminoácidos: arginina (1,759%),

histidina (0,791%), isoleucina (0,962), leucina (3,169), lisina (1,483%), metionina (0,606%), fenilalanina (2,135%), treonina (1,592%), triptofano (0,366%) e valina (1,388%).

Hassan (2011) ao coletar pólen apícola da palma (*Phoenix dactylifera* L. Variedade El-Hayani), proveniente do Egito, identificou oito aminoácidos essenciais que foram: isoleucina (1,49g/100g de pólen); leucina (3,34g/100g); lisina (2,95g/100g); fenilalanina (1,63g/100g); treonina (1,72g/100g); valina (1,81g/100g); histidina (1,61g/100g) e metionina (0,11g/100g), sendo este último considerado aminoácido limitante no pólen de palma. Já os valores encontrados para os aminoácidos não essenciais foram: alanina (2,61g/100g); arginina (1,61g/100g), aspartato (3,55g/100g); glutamato (1,74g/100g); glicina (2,24g/100g); serina (1,89g/100g); cisteína (0,42g/100g); tirosina (1,55g/100g) e prolina (0,28g/100g).

7. Importância do conhecimento da qualidade do pólen apícola

No Brasil, a produção de pólen apícola iniciou-se de forma modesta no final da década de 80. Atualmente, o mercado favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, tem promovido e estimulado essa modalidade da cadeia produtiva apícola. Mas, por ser um produto de comercialização recente no Brasil, ainda não apresenta avaliações completas de sua qualidade nutricional, das características físico-químicas e microbiológicas, o que se mostra importante pra uma possível utilização nas indústrias alimentícia, farmacêutica e também no meio ambiente como bioindicadores (Reis, 2001; Barreto et al., 2006; Neves et al., 2009).

A regulamentação brasileira preconiza que o pólen apícola para ser comercializado no Brasil deve atender os seguintes requisitos físico-químicos: umidade máxima de 30%; 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 300Eqg/kg. Além de apresentar aroma e cor característicos de acordo com a origem floral, os grão devem ser heterogêneos de forma e tamanhos variados, tendendo a esféricos e o sabor deve ser característico (Brasil, 2001).

Segundo Bonvehí e Jordà (1997), um dos primeiros países a estabelecer normas para a padronização do pólen apícola foi a Espanha, pois a carência de normativas

específicas sobre a qualidade do pólen apícola espanhol resultou na expansão da comercialização de produtos de baixa qualidade e consequente perda do mercado Europeu.

Além do Brasil e Espanha, apenas alguns países como, Suíça, Argentina e França têm reconhecido legalmente o pólen como um complemento alimentar e apresentando seu padrão de identidade e qualidade, assim como os limites de cada parâmetro a ser analisado. Embora comercializado em muitas lojas de produtos naturais, o pólen não é considerado um aditivo alimentar pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos e não tem sido comercializado com padrões especiais (Almeida-Muradian et al., 2005).

Segundo Barreto et al. (2005), na legislação em vigor, vários regulamentos específicos ainda não foram elaborados, como por exemplo, para a questão dos possíveis contaminantes orgânicos e inorgânicos. Além disso, provavelmente pela falta de respaldo científico, a Regulamentação brasileira não prevê qual o prazo de validade do pólen apícola desidratado.

Não existem dúvidas sobre as ações benéficas do pólen apícola à saúde do homem, porém, existem questões básicas pendentes a serem esclarecidas visando assegurar a qualidade do produto para o consumo, a partir do monitoramento da produção, beneficiamento e armazenamento do mesmo (Barreto et al., 2006).

8. Benefícios do pólen apícola para a saúde humana

Atualmente, a maior utilidade do pólen apícola é como suplemento alimentar natural, embora não deva ser considerado um alimento perfeito, já que possui baixos teores de lipídeos e consequentemente de vitaminas lipossolúveis. Porém, segundo a comunidade científica, o valor nutricional do pólen apícola deve ser de particular interesse para aqueles que possuem uma dieta desbalanceada ou deficiente, devido aos potenciais benefícios deste produto para a saúde humana (Krell, 1996).

O pólen apícola ou produtos a base de pólen apícola tem demonstrado várias aplicações positivas à saúde humana. O pólen das flores, fonte primária de alimentação das abelhas, contém compostos fitoquímicos, nutrientes e são ricos em carotenoides, flavonóides e fitosteróis (Mizrahi e Lensky, 1997). Este produto possui ação antimicrobiana, porém é mais conhecido por sua atividade antioxidante.

Os benefícios cientificamente comprovados para o homem, atribuídos ao consumo do pólen, são a atuação como fortificante extraordinário do organismo, estimulante e gerador de bem estar e vigor físico, além de corrigir a alimentação deficiente, o que resulta em equilíbrio funcional (Kroyer e Hegedus, 2001).

Foi constatado notável efeito do pólen em anemia ferro priva, em patologias urológicas, aumentando a imunidade do organismo frente aos processos infecciosos devido aos seus componentes (Liebelt, 1994).

O pólen apícola também funciona como excelente complemento alimentar, tonificante e revitalizante das funções orgânicas, estimulante de crescimento, regulador das funções intestinais, influenciando positivamente no sistema nervoso como antidepressivo, aumentando a capacidade de atenção e o estado de ânimo, contribuindo para redução e prevenção do colesterol LDL (Low Density Lipoprotein), atuando na prevenção do câncer de próstata, auxiliando na recuperação em processos anêmicos, no estresse e exercendo uma função antioxidante e antialérgica inibindo ativação de mastócitos cutâneos induzido pela IgE (Salomé e Salomé, 1998; Yang et al. 2007; Ishikawa et al., 2009).

Segundo Costa e Oliveira (2005), essas ações em termos biológicos e dietéticos têm consequências diretas sobre o desenvolvimento físico, devido à presença de aminoácidos como arginina e metionina, além das vitaminas D e B12. As demais vitaminas e oligoelementos presentes conferem ao produto um fator de harmonia orgânica e energética vital.

9. A Palinologia

O termo Palinologia foi introduzido pelos cientistas ingleses Hyde & Williams para designar o estudo morfológico do pólen e dos esporos, bem como de sua dispersão e aplicações. As camadas que envolvem o grão de pólen possuem formas muito variadas (rugosas, lisas, com ou sem ornamentações), que permitem realizar as classificações sistemáticas, diferenciando assim as espécies botânicas (Cornejo, 1994).

Na entomologia, a palinologia tem sido utilizada para estudos nutricionais, comportamentais e ecológicos das ordens coleóptera, díptera, lepidóptera, hemíptera e hymenoptera. De acordo com Jones e Jones (2001), o pólen pode ser usado para

determinar os mecanismos de polinização, os recursos de forrageamento, as rotas de migração e locais de procedência de insetos e de outros polinizadores.

O conjunto de plantas úteis para as abelhas como fornecedoras de néctar, pólen e resinas é definido, pela maioria dos autores, como flora apícola. O Brasil possui uma abundante e variada flora apícola, capaz de produzir méis de ótima qualidade, com cores e sabores diferenciados, e ainda, proporcionar ao apicultor outros produtos facilmente comercializados, como o pólen e a própolis (Arruda, 2009).

Nas últimas décadas, os estudos da morfologia dos grãos de pólen das plantas atuais bem como as investigações moleculares vêm sendo cada vez mais utilizados como dados auxiliares na classificação taxonômica dos grupos vegetais, gerando clados filogenéticos que expressam de forma mais precisa a origem e a evolução desses organismos (Judd et al., 1999).

A análise polínica realizada em cargas de pólen se torna um indicativo seguro do período de produção, origem botânica e geográfica do produto (Barth, 2004). O uso da análise polínica, visando o conhecimento da qualidade dos produtos apícolas, tem sido utilizado e muito tem contribuído para o desenvolvimento regional da atividade apícola no Brasil (Luz et al., 2007). Estes estudos, no entanto, são ainda incipientes para as necessidades produtivas e podem ser utilizados como ferramenta para o melhor conhecimento e aproveitamento dos recursos apícolas disponíveis, para a melhoria da qualidade e para o aumento da quantidade destes produtos (Modro et al., 2011).

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram efetuar o levantamento polínico das espécies botânicas presentes no pólen apícola e realizar análises dos teores proteicos e composição de aminoácidos ao longo do ano.

A presente pesquisa resultará no artigo intitulado **“Efeito da sazonalidade no teor proteico e composição de aminoácidos no pólen apícola produzido em Botucatu, estado de São Paulo”**, o qual será submetido à revista Journal of Apicultural Science, conforme as suas regras de publicação.

Referências Bibliográficas

ALICE PINTO, M.; SHEPPARD, W.S.; JOHNSTON, J.S.; RUBINK, W.L.; COULSON, R.N.; SCHIFF, N.M.; KANDEMIR, I.; PATTON, J.C. Honey bees (Hymenoptera: Apidae) of African origin exist in non-africanized areas of the southern United States: evidence from mitochondrial DNA. **Annals of the Entomological Society of America**, v.100, p.289-295, 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n.1, p.105-111, 2005.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. **Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.203, 2007.

ARRUDA, V.A.S. Estabilidade de vitaminas do complexo B em pólen apícola. **Dissertação de Mestrado** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, p.105, 2009.

BARRETO, L.M.R.C.; RABELO, P.C.; BELEZIA, C.O. Perfil protéico do pólen coletado por *Apis mellifera* (híbrida africanizada) no período outono-inverno no Apiário Escola do Centro de Estudos Apícolas da Universidade de Taubaté. In: **Congresso Brasileiro de Apicultura**, 13, 2000, Florianópolis. Anais... Florianópolis: Confederação Brasileira de Apicultura, 2000.

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

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

BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v.61, n.3, p.342-350, 2004.

BARTH, O.M.; MUNHOZ, M.C.; LUZ, C.F.P. Botanical origin of *Apis* pollen loads using colour, weight and pollen morphology data. **Acta Alimentaria**, v. 38, n. 1, p. 133-139, 2009.

BOGDANOV, S. Pollen: Nutrition, Functional Properties, Health: A Review. Bee Product Science, 2011. Disponível em: <http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/Health/PollenBook2Review.pdf>; Acesso em: 06 de junho de 2013.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa N°3, de 19 de Janeiro de 2001. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, D.F. 23 de jan 2001, Seção 16-I, p. 18-23, 2001.

BREYER. O pólen apícola. 2007. Disponível em: http://www.breyer.ind.br/apicultura/apicultura_polen.htm . Acesso em: 06 de junho de 2012.

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

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

CARPES, S.T.; CABRAL, I.S.R.; LUZ, C.F.P.; CAPELETTI, J.P.; ALENCAR, S.M. and MASSON, M.L. Palynological and physicochemical characterization of *Apis*

mellifera L. bee pollen in the Southern region of Brazil. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v.7, p.667-673, 2009.

COOK, S.M.; AWMACK, C.S.; MURRAY, D.A.; WILLIAMS, I.H. Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? **Ecological Entomology**, v. 28, p. 622-627, 2003.

COSTA, P.S.C. **Produção de pólen e geleia real**. 1. ed. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, p.144, 2004.

COSTA, P.S.C.; OLIVEIRA, J.S. **Manual prático de criação de abelhas**. Viçosa, MG. Aprenda Fácil Editora, v.1, p.283-308, 2005.

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. Jaboticabal: UNEP, p.193, 2006.

CORNEJO, L.G. **Pólen**: tecnologia de su produccion, procesado, y comercializacion. Buenos Aires: IPTEA, p.114, 1994.

CRAILSHEIM, L.H.W.; SCHNEIDER, N.; HRASSNIGG, G.; BÜHLMANN, U.; BROSCHE, R.; GMEINBAUER, B. Pollen consumption and utilization in worker honey bee (*Apis mellifera carnica*) dependence on individual age and function. **Journal of Insect Physiology**, v.38, p.409-419, 1992.

CRANE, E. **The world history of beekeeping and honey hunting**. 1.ed. New York: Routledge, p.682, 1999.

DAY, S.; BEYER, R.; MERCER, A.; OGDEN, S. The nutrient composition of honey bee-collected pollen in Otago, New Zealand. **Journal of Apicultural Research**, v.29, p.138-146, 1990.

DE GRANDI-HOFFMAN, G.; ECKHOLM, B.J.; HUANG, M.H. A comparison of bee bread made by Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) and its effects on hemolymph protein titers. **Apidologie**, v. 44, n.1, p.52-63, 2013.

DE GROOT, A.P. Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Physiologia Comparata et Oecologia**, v.3, p.197–285, 1953.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. **Bee World**, v.77, p.67-70, 1996.

DE PAULA, J. Mel do Brasil: as exportações brasileiras de mel no período de 2000/2006 e o papel do Sebrae. Brasília: **SEBRAE**, 2008.

DEL LAMA, M.A.; SOUZA, R.O.; DURAN, X.A.A.; SOARES, A.E.E. Clinal variation and selection on MDH allozymes in honeybees in Chile. **Hereditas**, v.140, n.2, p.149-153, 2004.

ESTEVINHO, L.M.; RODRIGUES, S.; PEREIRA, A.P.; FEÁS, X. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**. p.1365-2621, 2011.

FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M.P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, I. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. **Molecules**, v.17, p.8359-8377, 2012.

FUNARI, S.R.C.; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M.; CURI, P.R.; PEROSA, J.M.Y. Coleta de pólen e produção de mel e própolis em colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). **Boletim da Indústria Animal**, v.55, p.189-193, 1998.

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

GONÇALVES, L.S. Desenvolvimento e expansão da apicultura no Brasil com abelhas africanizadas, **Revista SEBRAE**, n.3, p.14-16, 2006.

HASSAN, H.M.M. Chemical Composition and Nutritional Value of Palm Pollen Grains. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry.**, v.6, p.01-07, 2011.

ISHIKAWA, Y.; TOKURA, T.; USHIO, H.; NIYONSABA, F.; YAMAMOTO, Y.; TADOKORO, T.; OGAWA, H.; OKUMURA, K. Lipid-soluble components of honeybee-collected pollen exert antiallergic effect by inhibiting IgE-mediated mast cells activation *in vivo*. **Phytotherapy Research.**, v.23, n.11, p.1581-1586, 2009.

JONES, G.D; JONES, S.D. The uses of pollen and its implication for entomology. **Neotropical Entomology**, v.30, n.3, p. 341-350, 2001.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. Plant systematics: a phylogenetic approach. **ecologia mediterranea**, v. 25, n. 2, p. 215, 1999.

KERR, W.E. The history of the introduction of African bees to Brazil. **South African Bee Journal.** v.39, n.2, p.3-5, 1967.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO **Agricultural Services Bulletin**, v.124, p.87-113, 1996.

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

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

LIEBELT, R.A. Bee pollen, a wonderfull food and a lot more. **American Bee Journal.**, v.134, p.611-4, 1994.

LOPER, G.M.; COHEN, A.C. Amino acid content of dandelion pollen: a honey bee (Hymenoptera: Apidae) nutritional evaluation. **Journal of Economic Entomology.**, v.80, p.14–17, 1987.

LUZ, C.F.P.; THOMÉ, M.L.; BARTH, O.M. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) na região de Morro Azul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v.30, n.1, p.29-36, 2007.

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.

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

MIZRAHI, A.; LENSKEY, Y., **Bee products**: properties, applications and apitherapy. New York, London: Plenum Press, p.288, 1997.

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

MORETI, A.C.C.C.; MARCHINI, L.C.; SOUZA, V.C.; RODRIGUES, R.R. **Atlas do pólen de plantas apícolas**. Rio de Janeiro: Papel Virtual, p.93, 2002.

NEVES, L.C.; ALENCAR, S.M.; CARPES, S.T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Preprint Series, n.15, p.107-110, 2009.

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-COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3ª ed., Jaboticabal:FUNEP, p.194, 2006.

PARKER, R.; MELATHOPOULOS, A.P.; WHITE, R.; PERNAL, S.F.; GUARNA, M.M.; FOSTER, L.J. Ecological adaptation of diverse honey bee (*Apis mellifera*) populations. **PloS One**, v.5, n.6, p.1-12, 2010.

PIRANI, J.R.; CORTOPASSI-LAURINO, M. **Flores e abelhas em São Paulo**. 1.ed. São Paulo:Edusp/Fapesp, p.49, 1993.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 7.ed, p.728, 2007.

REIS, V.D.A. Fatores que influenciam na coleta de pólen por *Apis mellifera* L. e análises físico-químicas do pólen coletado. **Dissertação Mestrado – ESALQ, USP**, Piracicaba, p.76, 2001.

RIBEIRO, J.G.; SILVA, R.A. Estudo comparativo da qualidade de pólen apícola fresco, recém processado, não processado e armazenado em freezer e pólen de marca comercial através de análises físico-químicas. **Tecnologia & Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, n. 1, p.15, 2007.

RICKETTS, T.H.; REGETZ, J.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; BOGDANSKI, A.; GEMMILL-HERREN, B.; GREENLEAF, S.S.; KLEIN, A.M.; MAYFIELD, M.M.; MORANDIN, L.A.; OCHIENG', A.; VIANA, B.F. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns?. **Ecology Letters**, v.11, n.5, p.499-515, 2008.

SAFFARI, A.; KEVAN, P.G.; ATKINSON, J.; Consumption Of Three Dry Pollen Substitutes In Commercial Apiaries. **Journal of Apicultural Science.**, v.54, n.1, p.5-12, 2010.

SALOMÉ, J.A.; SALOMÉ, L.G. **Manual prático de produção de pólen apícola**. Florianópolis – Secretaria de Estado do Desenvolvimento Rural e da Apicultura (EPAGRI). p.54, 1998.

SCHÄFER, M.O.; DIETEMANN, V.; PIRK, C.W.W.; NEUMANN, P.; CREWE, R.M.; HEPBURN, H.R.; TAUTZ, J.; CRAILSHEIM, K. Individual versus social

pathway to honeybee worker reproduction (*Apis mellifera*): pollen or jelly as protein source for oogenesis. **Journal of Comparative Physiology**, v.192, p.761–768, 2006.

SHEPHERD, A.J.; GORSE, D.; THORNTON, J.M. Prediction of the location and type of β -turn types in proteins using neural networks. **Protein Science**, v.8, n.5, p.1045-1055, 1999.

SILVEIRA, T.A. Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental. **Dissertação Mestrado**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.66, 2012.

SOMERVILLE, D.C. **Fat bees, Skinny bees – a manual on honey bee nutrition for beekeepers**. Australian Government: Rural Industries Research and Development Corporation, p.150, 2005.

STANDIFER, L.N. Honey bee nutrition and supplemental feeding. **Agriculture Handbook**, 2003. Disponível em: <http://www.beesource.com/resources/usda/honey-bee-nutrition-and-supplemental-feeding/> Acesso em: 23/07/2013

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H.F. **Pollen: biology, biochemistry, management**. Berlin: Springer-Verlag, New York: Heidelberg, p.287, 1974.

SZCZESNA, T.; RYBAK-CHIELEWSKA, H.; CHMIELEWSKI, W. Sugar composition of pollen loads harvested at different periods of the beekeeping season. **Journal of Apicultural Science**, v.46, n.2, p.107–115, 2002.

TAUTZ, J. **O fenômeno das abelhas**. 1.ed. Porto Alegre: Atmed, p.288, 2010.

TORRES, A.; GUINAND, J.; GUERRA MODERNELL, M. Propiedades nutricionales y estabilidad de los componentes de los alimentos. In: GUERRA MODERNELL, M., coord. **Efecto del procesamiento sobre La calidad nutricional de los alimentos**. Madrid, Miranda: CYTED, cap.1, p.1-18, 2003.

VILLANUEVA, M.T.O.; MARQUINA, A.D.; SERRANO, R.B.; ABELLAN, G.B. The importance of bee-collected pollen in the diet: A study of its composition. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.53, p.217–224, 2002.

VITALI, A.A.; QUAST, D.G. Vida de prateleira de alimentos. In: MOURA, S.C.S.R.; GERMER, S.P.M. **Manual do curso de reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. Campinas: FRUTOTEC, Governo do Estado de São Paulo, p.36-45, 2002.

WIESE, H. **Apicultura: Novos tempos**. 2^a. ed. Guaíba: Agrolivros, p.378, 2005.

WINSTON, N. L. **A Biologia da Abelha**. Porto Alegre: Magister, p.276, 2003.

YANG, X.; GUO, D.; ZHANG, J.; WU, M. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. **International Immunopharmacology**, v.7, p.401-408, 2007.

CAPÍTULO II

EFEITO DA SAZONALIDADE NO TEOR PROTEICO E COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS NO PÓLEN APÍCOLA PRODUZIDO EM BOTUCATU, ESTADO DE SÃO PAULO

Resumo: Este trabalho teve por objetivo efetuar o levantamento dos tipos polínico presentes no pólen apícola e realizar análises de seus teores proteicos e composição de aminoácidos, em diferentes estações do ano. O experimento foi conduzido no Setor de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Fazenda Experimental Lageado, UNESP, Campus de Botucatu. O pólen foi coletado semanalmente durante o período de setembro de 2012 a agosto de 2013, de cinco colmeias, semelhantes quanto ao número de quadros de cria e alimento, por meio de coletor de pólen frontal. O pólen retirado dos coletores foi misturado, pesado em balança analítica, desidratado em estufa de ventilação forçada, limpo e as bolotas classificadas por granulometria menor e maior que 2,0mm. Em seguida as amostras foram armazenadas em frascos estéreis, os quais foram mantidos sob congelamento para realização das análises. Os resultados foram avaliados por ANOVA, seguido do teste de Tukey para verificar diferenças entre as médias ($P < 0,05$). Pode-se observar que o período do inverno (junho, julho e agosto) apresentou o maior teor proteico total ($22,78 \pm 3,1\%$) e diferenças significativas entre granulometrias maior e menor que 2,0mm ($20,38 \pm 2,6\%$ e $23,58 \pm 2,9\%$, respectivamente). Não foram encontradas diferenças para a composição de aminoácidos no pólen nas diferentes estações do ano. Dentre os tipos polínicos encontrados destacam-se principalmente Asteraceae, Poaceae e Myrtaceae, encontrados em todas as estações do ano, comprovando que as abelhas concentram a coleta de recursos de acordo com a disponibilidade das plantas nas estações.

Palavra-Chave: apicultura, *Apis mellifera*, nutrição, tipos polínicos.

**SEASONALITY EFFECT ON PROTEIN CONTENT AND AMINO ACID
COMPOSITION OF BEE POLLEN PRODUCED IN BOTUCATU, SAO PAULO
STATE**

Abstract: This study aimed to carry out a survey of pollen types present in bee pollen and realize analyzes of their protein content and amino acid composition during different seasons. The experiment was conducted at the Sector of Apiculture, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Lageado Experimental Farm, UNESP, Botucatu. The pollen was collected weekly during the period of September 2012 and August 2013, from five hives, similar to the number of frames of brood and food through frontal collector pollen. The pollen from the collectors was mixed, weighed on an analytical balance, dried in an oven with forced ventilation, cleaned and acorns classified by grain size smaller and larger than 2.0 mm. Then the samples were stored in sterile vials which were kept under freezing for analyzes. The results were evaluated by ANOVA followed by Tukey's test to check for differences between means ($P < 0.05$). It can be observed that the winter period (June, July, August) showed the largest total protein content ($22.78\% \pm 3.1$) and also significant differences when compared particle sizes greater than 2.0 mm and less than 2.0 mm (20.38 ± 2.6 and 23.58% , respectively). No differences in the amino acid composition between the year seasons in bee pollen were found. Among the pollen types found stand out mainly Asteraceae, Poaceae and Myrtaceae, which were found in all seasons, proving that bees concentrated collection of resources according to the availability of plants in the seasons.

Keyword: *Apis mellifera*, beekeeping, nutrition, pollen types.

1. INTRODUÇÃO

Os grãos de pólen são estruturas microscópicas (que contém a célula reprodutiva masculina das plantas) encontradas nas anteras dos estames florais em angiospermas e coletados pelas abelhas *Apis mellifera* (Campos et al., 2008). O pólen apícola, por sua vez, é diferente do pólen das plantas porque a abelha aglutina-o com a saliva, formando pequenos grãos que são fixados nas corbículas para que possa ser transportado até a colmeia. 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 substâncias diferentes do pólen contido nas flores (Pchelovodstvo, 1999).

O desenvolvimento de uma colônia de abelhas depende da qualidade e quantidade de recursos alimentares, sendo que o pólen representa a principal fonte de proteínas, gorduras (lipídeos), vitaminas, minerais e possui funções fundamentais no desenvolvimento adequado das crias e nutrição de abelhas jovens, no funcionamento das glândulas e ovários e na formação das gorduras corporais, além de servir como fonte de nitrogênio (Zerbo et al., 2001, Basim et al., 2006) .

De acordo com Szczesna et al. (2002), a composição química do pólen pode variar de acordo com a espécie vegetal, condições ambientais, idade e estado nutricional da planta quando o pólen está se desenvolvendo, diferentes localidades, entre estações do ano e em diferentes anos.

A deficiência de proteínas, aminoácidos, carboidratos, lipídeos, vitaminas, minerais e água podem prejudicar o desenvolvimento, manutenção e reprodução das colônias, reduzir a vida das abelhas, provocar estresse e facilitar o aparecimento de doenças além de afetar a capacidade das abelhas de cuidarem das crias novas (Brodschneider e Crailsheim, 2010). Estudos mostram que a porcentagem necessária de proteína bruta (em matéria seca) presente no pólen para bom desenvolvimento das larvas é de no mínimo 20% (Pirk et al., 2009).

A qualidade do pólen pode ser medida por meio dos níveis totais de proteína bruta e composição de aminoácidos. Estudos de De Groot (1953), mostraram que dez aminoácidos foram considerados essenciais para as abelhas, o que significa que as mesmas não podem sintetizá-los ou mesmo converter outros aminoácidos para adquiri-los. As abelhas devem, portanto, obtê-los diretamente de sua dieta, seja na forma de

aminoácidos livres ou digeridos a partir de proteínas. Se a quantidade de aminoácidos essenciais não estiver em equilíbrio, as abelhas podem não utilizar plenamente os nutrientes disponíveis em um determinado tipo de pólen (Huang, 2012).

Sendo assim, torna-se essencial o conhecimento da composição do pólen apícola produzido em uma determinada região, como estratégia de alimentação de enxames, seja nos períodos de produção como na época de escassez de alimentos.

Desta forma, a presente pesquisa teve por objetivo efetuar o levantamento dos tipos polínicos presentes no pólen apícola e realizar análises de seus teores proteicos e composição de aminoácidos ao longo do ano.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem das amostras

O experimento foi desenvolvido na área de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, localizada na Fazenda Experimental Lageado, UNESP, campus de Botucatu, com as seguintes coordenadas geográficas: 22° 82' de latitude Sul e 48° 39' de longitude Oeste com clima Cfa de acordo com a classificação de Köppen (Köppen e Geiger, 1928).

As matas da Fazenda enquadram-se na unidade fitogeográfica denominada Floresta Estacional Semidecidual ou no tipo Floresta Mesófila Semidecídua, ocorrendo na área de transição da Depressão Periférica para Cuesta Basáltica (Fonseca e Rodrigues, 2000). Na classificação de Dubois (1970), corresponde às Matas Latifoliadas Tropicais e Subtropicais do Brasil Meridional, Distrito Norte Paranaense e Estado de São Paulo e Minas Gerais.

2.2 Produção de pólen apícola

O pólen foi colhido de cinco colmeias de abelhas *Apis mellifera* L., semanalmente durante o período de setembro de 2012 a agosto de 2013, por meio de coletor de pólen frontal com capacidade para 800 gramas e eficiência de $68,0 \pm 23,7\%$. O pólen apícola *in natura* retirado dos coletores foi misturado, pesado em balança

analítica, desidratado em estufa com temperatura controlada (40 – 42°C), limpo para retirada de impurezas e classificado por meio de um conjunto de peneiras em bolotas com granulometria inferior a 2,0mm e superior a 2,0mm. Em seguida, as amostras foram armazenadas em frascos plásticos estéreis hermeticamente fechados, os quais foram mantidos sob-refrigeração (-12°C), para preservação de suas propriedades biológicas, para a realização das análises propostas, realizadas no Laboratório de Bromatologia e no Setor de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. As análises de aminoácidos foram terceirizadas pelo laboratório de análises químicas LABTEC.

2.3 Análise palinológica

A análise palinológica foi realizada através do método de acetólise de Erdtman (1960). O material foi colocado em tubos de centrífuga graduados com fundo cônico, acrescentando-se 10 mL de ácido acético glacial, em seguida o material foi centrifugado durante 5 minutos a 2.500 rpm. Foram colocados 5 ml da mistura de acetólise (1:9 de ácido sulfúrico e anidrido acético) em cada tubo. Após, foram colocados em banho-maria por 2 minutos a 100°C, sendo a mistura centrifugada ainda quente. Posteriormente, estes tubos foram preenchidos com 10 mL de água destilada com uma gota de álcool etílico, centrifugados e eliminado o sobrenadante. Após, foram acrescentados nos tubos 5 mL de uma mistura de água destilada e glicerina (1:1) e o material foi mantido nesta mistura por 30 minutos. Posteriormente, foi realizada a montagem das lâminas com gelatina-glicerinada, em triplicata, contendo o material para observação em microscopia óptica.

Por meio da análise qualitativa foram determinadas as famílias botânicas, levando-se em consideração aspectos morfológicos dos grãos quando comparados com o laminário do banco de dados do Banco de Imagens de Pólen de Plantas Apícolas do laboratório de Entomologia da ESALQ (Esalq, 2007) (Moreti et al., 2007). A listagem florística segue as linhas gerais do sistema de Cronquist (1988).

2.4 Análise de proteína total

Para a determinação do teor de proteínas, 0,7 gramas de pólen apícola moído foi digerido em balão macro de Kjeldahl contendo 4 gramas da mistura catalítica (1:3 de CuSO_4 e K_2SO_4) e 20 mL de H_2SO_4 concentrado. Após a digestão, foi adicionado 80 mL de NaOH a 40% para liberação da amônia, a qual foi recolhida dentro de uma solução de H_2SO_4 e, então, titulada com solução padronizada de NaOH 0,1M. Para a determinação dos valores de proteína total, os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator de conversão 6,25 (Roulston et al., 2000).

2.5 Análise de aminoácidos

A composição de aminoácidos no pólen apícola foi determinada por meio de hidrólise ácida, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC).

Para a hidrólise ácida, um grama da amostra de pólen apícola foi hidrolisada em 1,0 mL de HCl 6M, na presença de 0,08 mL de fenol a 5% em água (v/v), a 110°C, por 72 horas, em atmosfera de nitrogênio. Após a hidrólise, o material foi concentrado a vácuo, ressuspendido em citrato de sódio 0,2M, pH 2,2, e filtrado em membrana milipore.

Em seguida, a amostra foi injetada no aparelho para a realização da leitura. O sistema foi periodicamente calibrado com uma solução padrão de aminoácidos, obtendo-se um valor para o tempo de eluição de cada aminoácido e um fator de correção entre a área de cada pico e a concentração de aminoácidos nas amostras (Araújo et al., 2007).

2.6 Análise dos resultados

Os resultados foram avaliados por ANOVA, seguida do teste de Tukey para verificar diferenças entre as médias ($P < 0,05$). Foi realizada também correlação de Pearson para as variáveis analisadas (Zar, 2010).

3. RESULTADOS

Os dados para proteína bruta do pólen apícola produzido nas diferentes estações do ano encontram-se na tabela 1.

Com relação ao teor total de proteína bruta o período do inverno apresentou o maior valor ($22,78 \pm 3,1\%$) quando comparado aos demais. Ainda para esta mesma estação foram observadas diferenças para a granulometria menor que 2,0mm, sendo que a mesma apresentou o maior teor ($23,58 \pm 2,9\%$), e se mostrou diferente das demais.

TABELA 1: Médias e desvios-padrão dos teores proteicos (%) para granulometrias maior que 2,0mm e menor que 2,0 e o teor de proteína total, de amostras de pólen apícola colhido por *Apis mellifera* em diferentes estações do ano.

Estação	Granulometria	Proteína Bruta (%)	Total (%)*
PRIMAVERA (Set. Out. Nov.)	<i>Maior 2,0mm</i>	20,34 $\pm$ 2,3aA	21,00 $\pm$ 2,1 α
	<i>Menor 2,0mm</i>	21,21 $\pm$ 2,1aA	
VERÃO (Dez. Jan. Fev.)	<i>Maior 2,0mm</i>	20,36 $\pm$ 1,4aA	20,93 $\pm$ 1,5 α
	<i>Menor 2,0mm</i>	21,11 $\pm$ 1,5aA	
OUTONO (Mar. Abr. Mai.)	<i>Maior 2,0mm</i>	18,66 $\pm$ 0,9aA	19,60 $\pm$ 1,4 α
	<i>Menor 2,0mm</i>	19,91 $\pm$ 1,4aA	
INVERNO (Jun. Jul. Ago.)	<i>Maior 2,0mm</i>	20,38 $\pm$ 2,6aA	22,78 $\pm$ 3,1 β
	<i>Menor 2,0mm</i>	23,58 $\pm$ 2,9bB	

Letras minúsculas diferentes, para uma mesma granulometria, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes, para a mesma estação, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

*Letras gregas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

Os dados referentes à sazonalidade para a composição de aminoácidos do pólen apícola se encontram na tabela 2.

TABELA 2: Médias (g/100g) e desvios-padrão da composição de aminoácidos, de amostras de pólen apícola colhido por *Apis mellifera* em diferentes estações do ano.

Aminoácidos (g/100g)	ESTAÇÕES			
	PRIMAVERA (Set. Out. Nov.)	VERÃO (Dez. Jan. Fev.)	OUTONO (Mar. Abr. Mai.)	INVERNO (Jun. Jul. Ago.)
Alanina	0,949±0,3	1,154±0,1	0,970±0,0	0,922±0,1
Arginina	0,716±0,1	0,875±0,2	0,715±0,0	0,884±0,2
Ácido Aspártico	1,554±0,2	1,607±0,1	1,401±0,0	1,660±0,2
Ácido Glutâmico	1,766±0,3	1,815±0,2	1,563±0,1	1,885±0,3
Cisteína	0,192±0,0	0,284±0,1	0,276±0,0	0,219±0,1
Fenilalanina	0,650±0,1	0,715±0,1	0,600±0,0	0,696±0,1
Glicina	0,772±0,1	0,833±0,1	0,712±0,0	0,799±0,1
Histidina	0,421±0,1	0,458±0,0	0,402±0,0	0,387±0,1
Isoleucina	0,627±0,2	0,717±0,1	0,567±0,0	0,671±0,0
Leucina	1,115±0,1	1,259±0,1	1,067±0,0	1,217±0,1
Lisina	1,112±0,4	1,169±0,0	0,978±0,0	1,065±0,2
Metionina	0,432±0,1	0,518±0,0	0,512±0,0	0,555±0,1
Prolina	1,654±0,5	2,124±0,3	2,152±0,1	2,364±0,6
Serina	0,857±0,2	0,989±0,0	0,897±0,0	0,876±0,1
Tirosina	0,386±0,0	0,463±0,1	0,400±0,1	0,428±0,1
Treonina	0,616±0,1	0,673±0,0	0,600±0,0	0,662±0,1
Triptofano	0,198±0,0	0,213±0,0	0,178±0,0	0,212±0,0
Valina	0,670±0,1	0,842±0,1	0,676±0,0	0,752±0,1

Não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) para os aminoácidos avaliados, quando comparados entre diferentes estações do ano.

Com relação aos dados palinológicos, foram identificados no presente trabalho, um total de 14 famílias botânicas e 3 tipos polínicos. Verificou-se que as famílias Poaceae sp.1, Myrtaceae sp.1 e Asteraceae sp.1 foram encontradas em todas as estações do ano estudadas.

Na primavera foram encontradas as maiores variedades botânicas totalizando 9 famílias e 1 tipo polínico: Asteraceae sp.1; Asteraceae sp.2; Brassicaceae; Combretaceae; Fabaceae sp.1; Mimosaceae; Myrtaceae sp.1; Poaceae sp.1; Poaceae sp.2 e tipo polínico 3. No período do verão foram encontradas 7 famílias botânicas e 1 tipo polínico: Asteraceae sp.1; Euphorbiaceae; Fabaceae sp.2; Mimosaceae; Myrtaceae sp.1; Poaceae sp.1; Urticaceae e tipo polínico 2. Já para o outono foram constatados somente 6 tipos polínicos, como Asteraceae sp.1; Fabaceae sp.2; Myrtaceae sp.1; Poaceae sp.1; Salicaceae e tipo polínico 1. No inverno foram encontradas 6 famílias botânicas e 2 tipos polínicos: Asteraceae sp.1; Asteraceae sp.2; Combretaceae; Myrtaceae sp.1; Myrtaceae sp.2; Poaceae sp.1 e os tipos polínicos 1 e 3.

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram observadas diferenças no teor proteico para o pólen colhido somente na estação do inverno. Sabe-se que as abelhas *Apis mellifera* L. são consideradas insetos poliléticos, pois coletam pólen de diversas variedades botânicas e podem selecionar espécies de interesse apícola de acordo com a qualidade do alimento ou recurso oferecido, sugerindo que o comportamento forrageiro poderia variar entre os enxames de um mesmo apiário.

Segundo Roman e Kulik (2006), o tamanho e peso individual das cargas de pólen coletadas pelas abelhas do gênero *Apis* podem variar de 5,5 a 15 mg, dependendo da planta que fornece o alimento, das condições ou necessidades da colônia e espécie da abelha que efetua a coleta. Sabe-se que o tamanho das bolotas de pólen podem variar no mesmo enxame, conforme evidenciado por Moreti et al. (2011). Nesta pesquisa foi constatado que as abelhas coletam bolotas de pólen com granulometria superior a 2,0mm, sendo que a porcentagem colhida variou entre 89,37%, 92,78%, 93,14% e 94,28%, para as estações do inverno, outono, primavera e verão, respectivamente.

Observou-se ao longo do período de coleta que as bolotas de pólen com diâmetro inferior a 2,0mm apresentaram maior teor de proteína. Pode-se inferir, que caso exista deficiência deste nutriente na colmeia, as abelhas podem trazer bolotas de granulometria inferior que contenham maior teor de proteínas até que todas as necessidades do enxame sejam supridas.

Entretanto, ainda não é completamente compreendido como as abelhas detectam a necessidade de pólen na colmeia e que sinais são usados pelas campeiras na sua avaliação. Camazine (1993) sugeriu que as abelhas coletoras recebem um sinal das abelhas nutrízes, na forma de alimento proteico, que irá transmitir informações sobre a necessidade de pólen na colônia. Se a fonte proteica na colmeia é alta, as abelhas nutrízes podem fornecer este alimento durante a trofalaxia (transferência direta de alimentos via oral) para as forrageiras, e estas irão responder ao estímulo.

O crescimento e desenvolvimento das abelhas são mais influenciados pela ingestão total de proteínas, e não apenas pela quantidade de alimento a ser consumida. Além disso, a falta de proteínas na dieta pode reduzir a imunidade das abelhas, tornando-as mais susceptíveis a doenças e resultando em uma significativa queda da taxa de sobrevivência (Szymaś e Jędruszek, 2003). Isto reforça a hipótese da necessidade das abelhas de coletar pólen de diferentes espécies botânicas ao longo do ano para suprir a demanda.

Observa-se que o período do inverno obteve maior teor proteico total no pólen (tabela 1), estação em que os enxames encontram maiores dificuldades de manutenção da área de cria devido a condições climáticas pouco favoráveis, sendo necessária a procura e seleção de recursos florais mais vantajosos para manutenção do enxame de forma satisfatória, uma vez que o cuidado com as crias pode ser suspenso por completo quando as reservas de pólen estão esgotadas.

Os teores proteicos encontrados neste trabalho variaram de $19,60 \pm 1,4\%$ a $22,78 \pm 3,1\%$. Valores semelhantes foram encontrados por Arruda et al. (2013) que obtiveram média de $23,38 \pm 1,24\%$ para proteína bruta de sete amostras de pólen apícola coletados na região de Pariquera-Açu, (SP). Entretanto Barreto et al. (2012) ao avaliar a qualidade físico-química do pólen apícola proveniente de sete diferentes municípios da região do Vale do Paraíba, estado de São Paulo, encontraram média de 15% para proteína bruta, mostrando-se inferior ao encontrado neste trabalho.

Estas diferenças no teor proteico estão relacionadas com a variedade de bolotas presentes no coletor, que são provenientes de diferentes espécies vegetais disponíveis nas proximidades do apiário, o que mostra a importância do conhecimento do valor nutritivo do pólen produzido em determinada região (Couto e Couto, 2006).

A composição de aminoácidos pode definir o valor nutricional do pólen de forma mais precisa do que o teor de proteínas, uma vez que este valor nutritivo é reduzido quando existem quantidades insuficientes dos aminoácidos essenciais (Cook et al., 2003).

Segundo Campos et al. (2008), dezessete diferentes aminoácidos podem estar presentes nas cargas de pólen sendo que a prolina, ácido glutâmico, ácido aspártico, lisina e leucina são predominantes, constituindo aproximadamente 55% dos aminoácidos totais. Apesar de se expressarem em valores inferiores a 55%, também houve predominância destes aminoácidos no presente trabalho, apresentando variações de 49% para a primavera, 47,7% para o verão, 48,8% para o outono e 50,4% para o inverno.

No pólen apícola coletado durante este experimento foi encontrado um total de 18 aminoácidos em sua composição (tabela 2), e este produto apresentou todos os aminoácidos essenciais para o desenvolvimento das abelhas. Entretanto, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) nos teores de aminoácidos entre as estações do ano, sugerindo que mesmo que variem os teores de proteína totais, os teores de aminoácidos permanecem constantes ao longo do ano. Esse fato é de extrema importância, pois mesmo com redução de colheita no campo, as abelhas garantem nutrição adequada para o bom desenvolvimento de sua cria, evitando sintomas de deficiência e problemas com a síntese de proteínas (Brodschneider e Crailsheim, 2010).

Dentre os aminoácidos encontrados no pólen coletado, dez são considerados essenciais para o completo desenvolvimento das abelhas, sendo estes a isoleucina, leucina, valina (necessários às abelhas em maiores quantidades), triptofano, metionina, histidina (em quantidades menores), treonina, fenilalanina, arginina e lisina (quantidade intermediária) (Keller et al., 2005).

Os valores encontrados neste trabalho para os aminoácidos essenciais foram inferiores aos de Hassan (2011) para todos os aminoácidos essenciais em pólen de palma exceto para metionina (0,11g/100g), e triptofano, que não foi identificado. E foram similares aos polens heteroflorais observado por Szczesna (2006), exceto novamente para triptofano que não foi avaliado.

Com relação aos tipos polínicos, para a estação do inverno observou-se predominância da família Myrtaceae, sendo que no Brasil, esta variedade botânica

figura entre as dez famílias com maior riqueza de espécies, com 23 gêneros e 976 espécies formando árvores, arbustos ou subarbustos (Sobral et al., 2012).

A presença de grandes quantidades de grãos de pólen da família Myrtaceae encontrada durante o período do inverno pode estar associado à disposição deste recurso na área de forrageamento pelas abelhas e também pela grande produção de pólen desta família que torna este tipo de recurso ser mais facilmente adquirido (Silveira, 2012). O superior valor proteico encontrado neste trabalho para este mesmo período pode estar relacionado com o fato de este tipo polínico ser mais vantajoso nutricionalmente para as abelhas neste período de condições climáticas adversas.

Além da família Myrtaceae, as famílias Asteraceae – constituída principalmente por ervas perenes, subarbustos e arbustos, podendo ocorrer também ervas anuais, lianas e árvores (Mondin, 2006) – e Poaceae - constituída na sua maioria por plantas herbáceas, anuais ou perenes, tanto silvestres como cultivadas (Grass Phylogeny Working Group et al., 2001) – foram colhidas pelas abelhas, servindo como fonte nutricional, em todas as estações estudadas.

A coleta destas variedades botânicas ao longo do ano pode estar relacionada com a atratividade destas plantas que pode ser influenciada pela quantidade de pólen produzido, pela concentração e abundância das flores, pelo número de insetos competidores, pela distância entre flor e o ninho e a preferência inata da espécie (Willmer, 2011).

No período do outono foram encontradas poucas variedades botânicas em torno do apiário, sendo que este período apresentou o menor teor proteico total encontrado no pólen (tabela 1), isso pode ser explicado pelo fato de que tipos polínicos com baixa concentração de coleta servem como recurso secundário com pouca atratividade. Esses tipos polínicos podem, eventualmente, servir como complemento para as necessidades alimentares da colônia e se tornar importante para a manutenção de seu equilíbrio, por períodos limitados, quando o fornecimento de recursos está sujeito a variações sazonais (Modro et al., 2011).

5. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o teor proteico do pólen apresentou-se maior no período de inverno, não apresentando diferenças em sua composição de aminoácidos. Na primavera foram encontradas maiores variedades botânicas em relação às demais estações, sugerindo que as abelhas concentram a colheita de pólen de acordo com a disponibilidade de recursos florísticos.

6. REFERÊNCIAS

- Araújo W.A.G., Assis F.I., Sobreira G.F. (2007) - Fundamentos e métodos para análise de aminoácidos. *Rev. Eletrônica Nutritim*, 4: 395-404.
- Arruda V.A.S., Pereira A.A.S., Freitas A.S., Barth O.M., Almeida-Muradian L.B. (2013) - Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. *J. Food Comp. Anal.*, 29: 100-105.
- Barreto L.M.R.C., Nordi J.C., Dib A.P.S., César V.S., Alvareli L.G., Nordi N.T., Canella J.B. (2012) - Qualidade físico-química do pólen apícola produzido no Vale do Paraíba-SP. *Rev. Biocienc.* 18: 64-70.
- Basim E., Basim H., Özcan M. (2006) - Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *J. Food Engi. Oxon*, 77, 4: 992-996.
- Brodtschneider R., Crailsheim K. (2010) - Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41: 278-294.
- Camazine S. (1993) - The regulation of pollen foraging by honey bee: how foragers assess the colony's need for pollen. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 32: 265-272.
- Campos M.G.R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L.B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C., Ferreira F. (2008) - Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J. Apic. Res.*, 47 (2): 156-163.

- Cook S.M., Awmack C.S., Murray D.A., Williams I.H. (2003) - Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition?. *Ecol. Entom.*, 28 (5): 622-627.
- Couto R.H.N., Couto L.A. (2006) - Apicultura: manejo e produtos. Jaboticabal: UNEP, 193.
- Cronquist A. (1988) - The evolution and classification of flowering plants. New York: The New York Botanical Garden.
- De Groot, A. P. (1953) - Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Physio. Comp. Oecol.* 3:197-285.
- Dubois J. (1970) - Características e distribuição geográfica das florestas naturais de folhosas no Brasil; reflorestamento para produção de madeira de serra ria: tendências e possibilidades. *Silvicultura em São Paulo*, 7, 11-26.
- Erdtman G. (1960) - The acetolysis method - a revised description. *Sven. Botan. Tids.*, 54: 50-541
- ESALQ (2007) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Banco de Imagens de pólen apícola. Laboratório de Insetos úteis – Entomologia. Disponível em: <http://www.lef.esalq.usp.br/polen/>. Acesso em: 21 de novembro de 2013.
- Fonseca R.C.B., Rodrigues R.R. (2000) - Análise estrutural e aspectos do mosaico sucessional de uma floresta semidecídua em Botucatu, SP. *Análise*, 57: 27-43.
- Grass Phylogeny Working Group, Barker N.P., Clark L.G., Davis J.I., Duvall M.R., Guala G.F., Hsiao C., Kellogg E.A., Linder, H.P. (2001) - Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 373-457.
- Hassan M.M.H. (2011) - Chemical composition and nutritional value of palm pollen grains. *Global J Biotechnol Biochem*, 6 (1): 1-7.
- Huang Z. (2012) – Pollen nutrition affects honey bee stress resistance., *Terr. Arthropod Rev.*, 5: 175–189.

- Keller I., Fluri P., Imdorf A. (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. *Bee World*, 86 (1): 3-10.
- Köppen W., Geiger R. (1928) - **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes.
- Modro A.F.H., Marchini L.C., Moreti A.C.D.C.C. (2011) - Origem botânica de cargas de pólen de colmeias de abelhas africanizadas em Piracicaba, SP. *Ciênc. rural*, 41 (11): 1944-1951.
- Mondin C.A. (2006) – Riqueza genérica e dados biogeográficos das asteraceas brasileiras. In: Os avanços da botânica no início do século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. Simpósio do 57º Congresso Nacional de Botânica. Porto Alegre, Sociedade Botânica do Brasil, 1: 209-211.
- Moreti A.C.D.C.C., Fonseca T.C., Rodriguez A.P.M., Monteiro-Hara A.C.B.A., Barth O.M. (2007) - Fabaceae forrageiras de interesse apícola. Aspectos botânicos e polínicos. *Bol. Cient.* 13: 98.
- Moreti A.C.D.C.C., Teixeira E.W., Alves M.L.T. M. F., Oliveira K.C.S., Otsuk, I.P., Almeida-Muradian L.B. (2011) - Tamanho das cargas de pólen interceptadas em coletores mantidos em colméias de *Apis mellifera* africanizadas. *Mensagem Doce*, 112.
- Pchelovodstvo A. N. (1999) - Influência del nível de proteína bruta em la produccion de La colônia de abejas. *Apiacta*, 12 (14): 23-54.
- Pirk C.W.W., Boodhoo C., Human H., Nicolson S.W. (2009) - The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie*, 41: 62-72.
- Roman A., Kulik A. (2006). Studies on the relationship between floral fidelity and quantity of pollen hoarded by honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Elect. J. Polish Agric. Univ. Anim. Husb.*, 9 (2).
- Roulston T.H., Cane J.H., Buchmann S.L. (2000) - What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen pistil interactions or phylogeny? *Ecol. Monogr.*, 70: 617-43.

- Silveira T.A. (2012) - Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental. *Dissertação de Mestrado*, ESALQ, USP, Piracicaba, 67.
- Sobral M., Proença C., Souza M., Mazine F., Lucas E. (2012) - *Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000171>>. Acesso em 21-01-2014.
- Szczesna T., Rybak-Chielewska H., Chmielewski W. (2002) - Sugar composition of pollen loads harvested at different periods of the beekeeping season. *J. Apic. Sci.*, 46 (2): 107–115.
- Szczesna T. (2006) - Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen from selected botanical origins. *J. Apic. Sci.*, 50 (2): 81-90.
- Szymaś B., Jędruszek A. (2003) - The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 34: 97–102.
- Willmer P. (2011) - *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- Zar J.H. (2010) - *Bioestatistical analysis*. Pretince Hall, New Jersey.
- Zerbo A.C, Moraes R.L.M.S., Brochetto-Braga M.R. (2001) - Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidia, Meliponinae) midgut proteolytic activity and pollen digestion. *Comp. Biochem. Physiol.*, 129: 139-147.

CAPÍTULO III

IMPLICAÇÕES

O pólen representa para as abelhas a única fonte natural disponível de proteínas, além de conter diversos nutrientes indispensáveis às abelhas, para que possam desenvolver todo seu potencial produtivo e reprodutivo.

A composição do pólen é variável de acordo com diversas características, mas é principalmente influenciada pela diversidade botânica presente nas regiões em que é coletado.

A produção de pólen apícola no Brasil se iniciou no final da década de 80, e atualmente o mercado está bastante favorável ao consumo de produtos naturais ou com algum tipo de efeito terapêutico, o que fez com que essa modalidade de cadeia apícola crescesse cada vez mais. Este fato mostra a necessidade do conhecimento da qualidade nutricional deste produto, para que o mesmo seja efetivamente utilizado nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, visando levar um produto de máxima qualidade a mesa do consumidor.

Espera-se também que este trabalho atente para a importância do conhecimento da composição físico-química e origem botânica do pólen apícola em determinada região onde os enxames de *Apis mellifera* estão inseridos, de forma que seja reduzida a perda de colônias por stress nutricional resultante do baixo valor nutricional deste alimento ou pela baixa abundância de recursos florais. Com isso, espera-se que novas pesquisas na área de nutrição apícola sejam realizadas, através da formulação de dietas adequadas, que otimizem a seleção de nutrientes pelas abelhas.

ANEXOS

Anexo 1: Médias (%) e desvios-padrão dos teores de proteína bruta e do teor proteico total, de amostras de pólen apícola colhido por *Apis mellifera* durante os meses de setembro de 2012 a agosto de 2013.

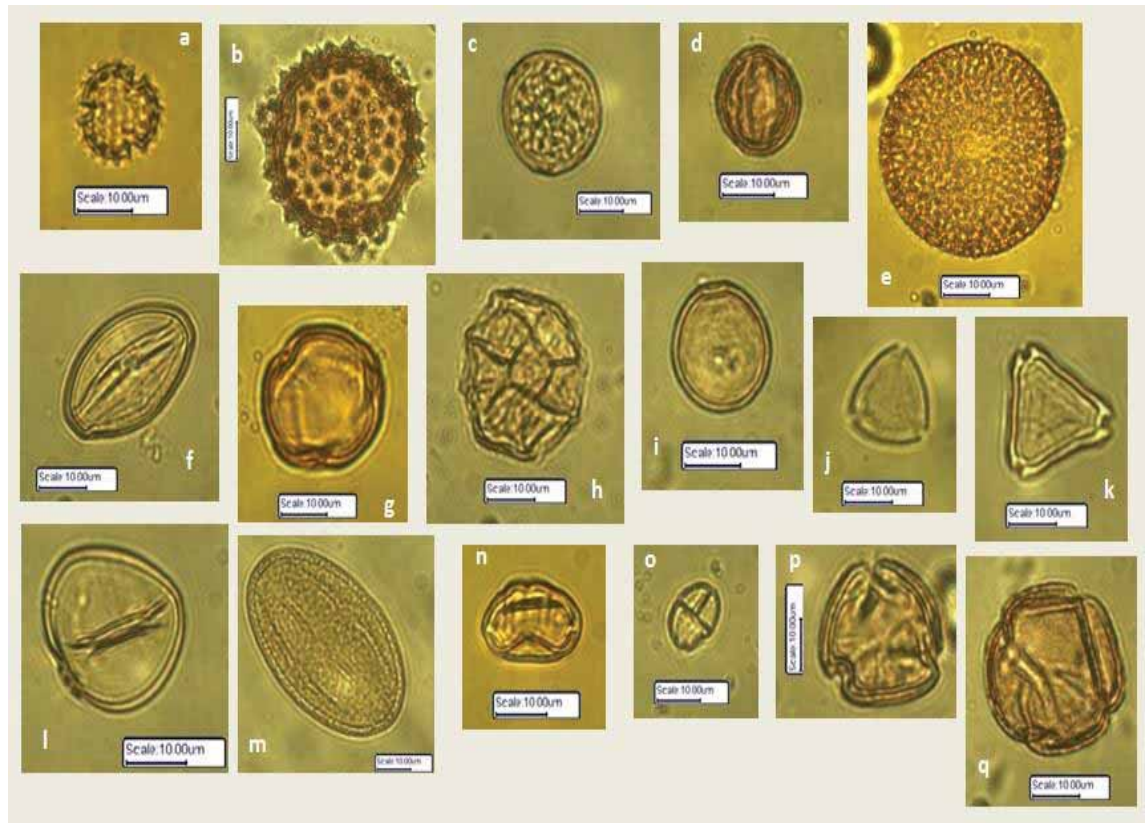
Meses	Granulometria	Proteína Bruta (%)	Total (%)*
SETEMBRO	<i>Maior 2,0mm</i>	21,05±1,9abA	21,22±1,1 α
	<i>Menor 2,0mm</i>	21,27±0,9acbA	
OUTUBRO	<i>Maior 2,0mm</i>	17,64±0,3aA	18,74±1,5 $\beta\gamma$
	<i>Menor 2,0mm</i>	19,10±1,6abA	
NOVEMBRO	<i>Maior 2,0mm</i>	22,32±0,2abA	23,03±1,0 $\alpha\delta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	23,26±1,1ceA	
DEZEMBRO	<i>Maior 2,0mm</i>	20,71±2,2abA	20,45±1,9 $\beta\gamma\delta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	20,36±1,9abA	
JANEIRO	<i>Maior 2,0mm</i>	21,40±0,1abA	22,15±0,6 $\alpha\beta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	22,41±0,5aceB	
FEVEREIRO	<i>Maior 2,0mm</i>	19,00±0,2abA	20,17±0,9 β
	<i>Menor 2,0mm</i>	20,56±0,6abB	
MARÇO	<i>Maior 2,0mm</i>	18,17±1,2aA	18,47±1,1 γ
	<i>Menor 2,0mm</i>	18,60±1,2bA	
ABRIL	<i>Maior 2,0mm</i>	18,20±0,5aA	19,50±0,9 β
	<i>Menor 2,0mm</i>	19,94±0,5abB	
MAIO	<i>Maior 2,0mm</i>	19,61±0,4abA	20,81±1,2 $\beta\delta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	21,22±1,0abcA	
JUNHO	<i>Maior 2,0mm</i>	23,24±2,5bA	24,33±2,3 α
	<i>Menor 2,0mm</i>	24,69±2,4cdA	
JULHO	<i>Maior 2,0mm</i>	18,01±0,2aA	22,33±4,1 $\alpha\beta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	23,77±3,7deA	
AGOSTO	<i>Maior 2,0mm</i>	19,90±0,5abA	21,70±2,1 $\alpha\beta$
	<i>Menor 2,0mm</i>	22,29±2,1acA	

Letras minúsculas diferentes, para uma mesma granulometria, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes, para o mesmo mês, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

*Letras gregas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa entre as médias ($P \leq 0,05$).

ANEXO 2: Fotos dos tipos polínicos encontrados em diferentes estações.



Tipos polínicos encontrados: a) Asteraceae sp.1; b) Asteraceae sp.2; c) Brassicaceae; d) Combretaceae; e) Euphorbiaceae; f) Fabaceae sp.1; g) Fabaceae sp.2; h) Mimosaceae; i) Poaceae sp.2; j) Myrtaceae sp.2; k) Myrtaceae sp.1; l) Poaceae sp.1; m) Salicaceae; n) Urticaceae; o) Tipo polínico 1; p) Tipo polínico 2; q) Tipo polínico 3.

ANEXO 3: Composição de aminoácidos de amostras de pólen apícola colhido por *Apis mellifera* durante os meses de setembro de 2012 a agosto de 2013.

AA (g/100g)	MESES											
	SET.	OUT.	NOV.	DEZ.	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAL.	JUN.	JUL.	AGO.
ALA	0,847	0,715	1,286	1,134	1,214	1,114	1,007	0,941	0,988	1,091	0,853	0,823
ARG	0,790	0,679	0,680	0,707	1,052	0,867	0,678	0,711	0,757	1,158	0,783	0,711
ASP	1,654	1,291	1,717	1,542	1,723	1,556	1,405	1,393	1,406	1,874	1,436	1,671
GLU	1,753	1,478	2,066	1,713	1,988	1,743	1,512	1,513	1,665	2,225	1,665	1,764
CIS	0,198	0,140	0,237	0,217	0,350	0,285	0,314	0,258	0,257	0,308	0,194	0,156
FEN	0,627	0,548	0,775	0,638	0,772	0,735	0,601	0,588	0,611	0,797	0,628	0,662
GLI	0,755	0,629	0,932	0,784	0,885	0,829	0,713	0,704	0,718	0,946	0,738	0,712
HIS	0,366	0,321	0,575	0,497	0,473	0,404	0,384	0,376	0,447	0,450	0,335	0,376
ILE	0,521	0,519	0,841	0,625	0,757	0,768	0,569	0,546	0,586	0,725	0,632	0,656
LEU	1,112	0,980	1,254	1,164	1,354	1,259	1,085	1,043	1,072	1,369	1,171	1,112
LIS	0,982	0,831	1,524	1,168	1,184	1,157	1,011	0,952	0,971	1,306	0,930	0,960
MET	0,528	0,352	0,415	0,475	0,537	0,541	0,527	0,496	0,513	0,627	0,509	0,528
PRO	2,252	1,517	1,195	1,889	2,451	2,033	2,204	1,991	2,261	2,975	2,391	1,725
SER	0,832	0,717	1,022	0,983	1,035	0,948	0,935	0,871	0,884	1,031	0,782	0,815
TIR	0,393	0,334	0,432	0,401	0,512	0,477	0,400	0,396	0,404	0,495	0,387	0,402
THR	0,606	0,516	0,727	0,641	0,707	0,670	0,619	0,583	0,598	0,780	0,606	0,600
TRI	0,215	0,173	0,205	0,204	0,223	0,212	0,176	0,174	0,185	0,234	0,204	0,198
VAL	0,604	0,581	0,825	0,699	0,910	0,918	0,690	0,645	0,692	0,857	0,685	0,713