



## Caracterização Microbiológica em amostras de pólen apícola desidratado comercial

*Silmara Azevedo Lopes<sup>1</sup>; Julio Otavio Portela Pereira<sup>2</sup>; Rinaldo Araújo Dos Santos<sup>2</sup>, Luanny Lima Gadelha<sup>3</sup>; Albert Einstein Mathias de Medeiros Teodosio<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Mestre em Tecnologia em Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará- IFCE- Campus Limoeiro do Norte. E-mail: silmarazevlopes@gmail.com; <sup>2</sup>Professores Dr do Mestrado em Tecnologia em Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará- IFCE- Campus Limoeiro do Norte. <sup>3</sup> Aluna do Curso de Processos Químicos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará- IFCE- Campus Fortaleza. <sup>4</sup> Mestrando em Horticultura Tropical UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: albertemmt@gmail.com

**RESUMO:** O pólen apícola desidratado comercial é um produto com potencial crescimento no mercado, entretanto ainda são poucas as legislações para a comercialização do mesmo. Do ponto de vista microbiológico todos os alimentos passam por análises a fim de garantir a qualidade do mesmo. O presente estudo objetivou-se analisar amostras de pólen apícola comercializados. As amostras foram submetidas análises microbiológico padrão para alimentos. Todas as amostras apresentaram resultados dentro dos padrões exigidos pela legislação inferindo-se assim que as amostras foram produzidas seguindo as boas práticas de fabricação no manejo de colheita e processamento do alimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Produtos apícolas; Qualidade; Legislação.

### INTRODUÇÃO

Segundo a Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001, define-se pólen apícola como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colmeia (BRASIL, 2001).

O pólen apícola é um produto relativamente novo que está ganhando mercado rapidamente. No Brasil a produção teve início no final da década de 80. Estudos recentes indicam que o mercado se mostra favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com propriedades terapêuticas, o que vem estimulando e promovendo essa modalidade da cadeia produtiva apícola (FERREIRA, 2012).

A forma comumente encontrada no comércio é o pólen apícola desidratado, adquirido pela população em farmácias, supermercados e lojas especializadas na venda de produtos naturais. Por ser um produto recente no mercado, demanda por melhorias técnicas de produção e processamento, e o aperfeiçoamento na legislação vigente, motivando diversos estudos referentes a propostas tecnológicas, bem como o conhecimento dos seus efeitos biológicos, elevando assim seu potencial de consumo e comercialização (NASCIMENTO, 2015).

O pólen desidratado apresenta alguns requisitos físico-químicos e microbiológicos para ser comercializado, porém as informações são ainda incompletas para montar um padrão de qualidade.

No Brasil, a qualidade final do pólen apícola é regulamentada pela Instrução Normativa N.º 03 de 19 de janeiro de 2001, do Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA), que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Apícolas (BRASIL, 2001).

Diante disso objetivou-se analisar 9 (nove) amostras de pólen apícola desidratado comercial.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foram adquiridas nove amostras de pólen apícola desidratado comercial oriundos dos estados de Ceará (Aracati e Trairi), Piauí (Teresina), São Paulo (Ribeirão Preto, São José do Rio Preto, São Bernardo do Campo) e Santa Catarina (Joinville). As amostras referentes ao estado de Ceará e Piauí foram adquiridas com produtores locais, as demais amostras foram adquiridas através de sites de produtos naturais.

As amostras foram codificadas a fim de se ter um controle e também preservar a identidade de marcas adquiridas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Codificação das amostras de pólen apícola comercial

Codificação da amostra	Localidade	Safra
PRSP1	São Paulo – SP	2015
AR2	Aracati – CE	2015
TR3	Trairi – CE	2015
P4	Teresina – PI	2015
SJ5	São José – SP	2015
SB6	São Bernardo do Campo – SP	2015
RP7	Ribeirão Preto – SP	2015
RP8	Ribeirão Preto – SP	2015
SC9	Joinville – SC	2015

As amostras apresentavam-se como pólen monofloral com predominância de pólen de coqueiro (*Cocos nucifera*) da família *Arecaceae* com exceção de duas amostras, corresponde aos materiais PRSP1 e RP7 que se enquadram como pólen heterofloral com a presença de pólen de *Mimosa caesalpinifolia*, conhecida popularmente como sabiá, e *Mimosa quadrivalvis* conhecida popularmente como “malícia” e de *Cecropia* conhecido por “embaúba”.

As amostras como recebidas encontravam-se acondicionadas em dois tipos de embalagens: As amostras PRSP1, AR2, TR3 e P4 apresentavam-se em embalagens plásticas com tampa hermeticamente fechadas e as amostras SJ5, SB6, RP7, RP8 e SC9 em sacos plásticos. Em todas foram verificadas a presença de rótulo, dados de origem, data de validade, número do lote e selo de inspeção federal (SIF).

Na Resolução - RDC N°. 12 do Ministério da Saúde sobre o Regulamento Técnico para Padrões Microbiológicos em Alimentos (BRASIL, 2001) não existem limites microbiológicos específicos para o pólen apícola. Desta forma, seguiram-se as recomendações microbiológicas para os produtos similares ao pólen, para seu enquadramento, conforme a própria RDC recomenda. O enquadramento, portanto, deu-se ao grupo das farinhas, que apresentam a classificação no seguinte padrão: para coliformes fecal padrão é aceitável até  $5,0 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup> e para *Salmonella sp.* recomenda-se a ausência em 25g de amostra.

Em laboratório foram realizadas as análises microbiológicas de coliformes a 35 e 45°C, *Salmonella sp.*, *Stapilococcus* e bolores e leveduras de acordo com a RDC 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA.

Para as análises das bactérias do grupo coliformes fecais foi utilizado o caldo E.C (*Escherishia coli*) Mug (4- metil umbeliferil-beta-dGlucoronideo), incubado por 24 horas a temperatura de 44,5°C. As análises para *Salmonella sp.* foram realizadas em caldo seletivo, caldo tetratoato e caldo selenito cistina. Quando o resultado era positivo nesses caldos, o material seguia para plaqueamento em três meios de cultura: agarxilose, lisinadesoxilato e agar entérico Hectoen. O resultado foi expresso como ausente ou presente em 25g, conforme recomendado pela APHA- American Public Health Association (APHA, 1992).

Para análise de bolor e levedura utilizou-se o meio de cultura BDA, a base de agar-batata-dextrose sendo os resultados expressos em UFC g<sup>-1</sup>.

Para análise de *Staphylococcus sp.* pesou-se 25g da amostra, adicionou-se 225 mL de água peptonada e realizou-se as diluições. Em seguida inoculou-se sobre a superfície do ágar Baird-Parker 0,1 mL de cada diluição selecionada (10-1, 10-2 e 10-3). Após a incubação a 35°C por 24 a 48 horas, contou-se em placas as colônias, e aquelas consideradas como “típicas” (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente) foram semeadas em tubos contendo caldo BHI. Nesta etapa a incubação a foi realizada a 35°C por 24 horas.

Posteriormente foi realizada a coloração de Gram, teste de catalase e prova de coagulase para identificação de *Staphylococcus coagulase* positiva. A identificação bioquímica de *Staphylococcus aureus* foi realizada através do teste de DNase, Prova de Voges-Proskauer, manitol em aerobiose e anaerobiose e utilização ou não de açúcares (maltose e trealose) de acordo com Baird-Parker (1990).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade microbiana é uma grande exigência relacionada com os critérios de segurança alimentar, pois além de alterar as propriedades do produto pode afetar a saúde do consumidor, principalmente quando se trata de organismos patogênicos.

Na Tabela 2 observa-se os resultados dos parâmetros microbiológicos para as amostras de pólen apícola desidratado.

**Tabela 2.** Caracterização microbiológica das amostras de pólen apícola desidratado.

Amostras	Parâmetros microbiológicos			
	Coliformes Termotolerantes (NNP/g)	<i>Salmonella</i> sp.	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	Bolor e Levedura (UFC/g)
PRSP1	< 3	Ausente	Ausente	2 x 10
AR2	< 3	Ausente	Ausente	3 x 10
TR3	< 3	Ausente	Ausente	4 x 10
P4	< 3	Ausente	Ausente	2 x 10
SJ5	5x10	Ausente	Ausente	5 x10
SB6	4x10	Ausente	Ausente	4 x10
RP7	6x10	Ausente	Ausente	4 x10
RP8	6x10	Ausente	Ausente	3 x10
SC9	2x10	Ausente	Ausente	2 x10

Nas determinações microbiológicas para o pólen desidratado não foram observados crescimento de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* em nenhuma amostra. Para os demais parâmetros pode-se observar que todas as amostras apresentaram um crescimento microbiano, entretanto com valores dentro dos limites permitidos pela Normativa N° 03 de 2001 (MAPA, 2001).

Para as determinações de Coliformes termotolerantes e “bolores e leveduras” os valores encontrados foram insignificantes para as amostras PRSP1, AR2, TR3 e P4. Embora para bolores e leveduras não se tenham um padrão de comparação, é importante avaliar suas concentrações em função da possibilidade de produção de micotoxinas. Almeida et al.(2012) encontraram valores de “bolores e leveduras” entre  $1,5 \times 10^2$  e  $1,48 \times 10^4$  UFC/g, enquanto Santos et al. (2010) observaram valores de  $1,0 \times 10^2$  a  $9,7 \times 10^3$  UFC/g. Hervatin (2009) analisaram pólenes em dois períodos do ano de 2007. Entre março e abril, os autores observaram crescimento de  $1,5 \times 10^4$  a  $7,8 \times 10^4$  UFC/g e no período de outubro a novembro valores de  $9 \times 10^4$  a  $1,2 \times 10^6$  UFC/g.

As amostras correspondentes a SJ5, SB6, RP7, RP8 E SC9 apresentaram valores superiores quando comparadas as demais amostras para as análises de coliformes termotolerantes, porém todas as amostras estão dentro da faixa de aceitação apresentada na legislação específica. Valem ressaltar que tais amostras apresentaram embalagens diferentes, as amostras que apresentaram melhores resultados microbiológicos estavam em melhor condição de acondicionamento, sugerindo assim que a embalagem e formas de armazenamento influenciaram significativamente na qualidade do produto. González et al. (2005) afirmam que as fases críticas para a contaminação do pólen por fungos, são a permanência por longos períodos nos caça-pólenes, o tempo e as condições de secagem. Na primeira fase a umidade relativa do pólen pode aumentar, na segunda fase, deve evitar-se a secagem ao ar livre, porque a temperatura é baixa. Estes fatores favorecem tanto o crescimento dos fungos quanto a produção de micotoxinas. Em geral, os resultados encontrados na presente pesquisa foram satisfatórios, pois todos apresentaram valores abaixo do padrão de referência recomendado pelo MAPA (2001).

Hervatin (2009) avaliou a presença de estafilococos coagulase positivo e *Salmonella* sp. em pólenes apícolas e não observou crescimento dos referidos microrganismos. A ausência de *Salmonella* sp. e o reduzido crescimento de estafilococos nesta pesquisa representam segurança de consumo deste produto, pois mesmo sendo o pólen obtido pelas abelhas em ambiente externo e com manipulação direta não se observou contaminação significativa. Os resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos dos pólenes em estudo, também se encontram dentro da faixa aceita para ambos os grupos escolhidos da legislação, apontando para um controle adequado das condições de processamento deste produto. Cabe ressaltar que para a obtenção do pólen apícola desidratado não é permitido o uso de temperaturas excessivas, embora o tempo de exposição seja longo a temperatura não pode ultrapassar os 42 °C para não prejudicar a qualidade nutricional e funcional dos nutrientes presentes neste tipo de produto.

Embora eficiente para controlar o desenvolvimento microbiano através da redução da atividade de Água (aw) no produto final, a desidratação deste produto é realizada sob temperatura máxima de 42°C e tempo variando entre 10 a 30 horas, de modo que o processo não é drástico o suficiente para eliminar a população de microrganismos, principalmente, esporos de bactérias mesófilas e fungos (HERVATIN, 2009). Portanto, mesmo após a desidratação, quantidades variáveis de micro-organismos podem ser encontradas. Além disso, a contaminação pode ocorrer após o processamento (ESTEVINHO et al., 2012).

Outro fato que deve ser considerado, é o tipo de embalagem utilizada para o armazenamento do pólen desidratado, observou-se que as amostras que apresentaram uma embalagem de plástico

hermeticamente fechado (PRSP1, AR2, TR3 e P4) apresentaram valores inferiores para as análises realizadas quando comparadas as demais amostras que estavam acondicionadas em embalagens de plásticos (sem fechamento hermético) diferentes. A embalagem pode ter permitido uma troca de umidade com o meio ambiente, propiciando o desenvolvimento microbiano.

## CONCLUSÕES

Todas as amostras foram aprovadas quanto às exigências e padrões de segurança microbiológicos exigidos pela legislação brasileira, afirmando assim que todas as amostras foram produzidas seguindo as boas práticas de fabricação no manejo de colheita e processamento do alimento.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. M.; SOUZA, L. S.; VALETIM, I. B.; COSTA, J. G.; GOULART, M. O. F. Características físico-químicas e microbiológicas do pólen da microrregião de Ribeira do Pombal, Bahia, Brasil. **Anais do Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos**. SBCTA, Aracaju, 2012.

BRASIL. Ministério da agricultura e do abastecimento. **Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário oficial da União da república federativa do Brasil, Brasília, de 23 de janeiro de 2001, seção 16-I, p.18-23, 2001

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**, v.47, n.1, p.429-435. 2012.

FERREIRA, A. F. AGUIAR, B.C.; MESQUITA, C.A.P.; LIMA, A.A. Propriedades físico-químicas de amostras de pólen da *Meliponascutellaris* Latreille (Hymenoptera: apidae). In. CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 5. 2012. **Anais...** Gramado-RS, p. 52, 2012.

GONZÁLEZ, G., HINOJO, M.J., MATEO, R., MEDINA, A. JIMÉNEZ, M. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. **International Journal of Food Microbiology**. v. 105, p.1-9, 2005.

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

NASCIMENTO, A. M. C. B. **Desenvolvimento de barra proteica de pólen apícola e gergelim com potencial antioxidante**. 2015. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

SANTOS, P.; PINEDO, A. S.; TORRES, P. A.; AZEREDO, P. G. Effects of the addition of hemp powder on the physicochemical properties and energy bar qualities of extruded rice. **Food chemistry**, v.129, n.3, p.1919-1925, 2010.