

Determinação rápida de umidade, nitrogênio total e carbono total em pólen de *Apis mellifera* da região nordeste do estado do Pará, Brasil, utilizando NIRS e regressão PLS**Rapid determination of humidity, total nitrogen and total carbon in pollen of the *Apis mellifera* from the northeast region of Pará state, Brazil, using NIRS and PLS regression**

DOI:10.34117/bjdv6n9-139

Recebimento dos originais: 05/08/2020

Aceitação para publicação: 08/09/2020

Mozaniel Santana de Oliveira

Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Instituição: Campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi, Av. Perimetral, 1901
bairro da Terra Firme. CEP: 66077-830 – Belém – Pará – Brasil

E-mail: mozaniel.oliveira@yahoo.com.br

Daniel Santiago Pereira

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Pesquisador

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -Embrapa Amazônia Oriental
Laboratório de Agroindústria

E-mail: daniel.pereira@embrapa.br

Jorddy Nevez Cruz

Graduando em Farmácia

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -Embrapa Amazônia Oriental
Laboratório de Agroindústria

E-mail: jorddynevescruz@gmail.com

João Paulo de Holanda-Neto

Engenheiro Agrônomo, Ph.D. Professor de Tecnologia de Produtos Apícolas

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano

E-mail: jpholanda-neto@gmail.com

Cláudio José Reis de Carvalho

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Pesquisador

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -Embrapa Amazônia Oriental
Laboratório de Sistemas Sustentáveis

E-mail: claudio.carvalho@embrapa.br

Antônio Pedro da Silva Sousa-Filho

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Pesquisador

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -Embrapa Amazônia Oriental
Laboratório de Agroindústria

E-mail: Antonio-pedro.filho@embrapa.br

Marcos Enê Chaves Oliveira

Engenheiro Químico, D.Sc. Pesquisador

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -Embrapa Amazônia Oriental

Laboratório de Agroindústria

E-mail: marcos-ene.oliveira@embrapa.br

RESUMO

A Amazônia é uma das regiões do Brasil em que se tem observado o maior crescimento da produção apícola nos últimos 20 anos. Nesta região destaca-se o estado do Pará com quase 50% da produção regional, e tendo na sua região nordeste o principal polo de produção apícola. Esta produção é feita predominante por agricultores familiares e que além do mel vem explorando a produção de pólen. Tem-se observado, entretanto, a necessidade de fortalecimento das boas práticas de produção nesta região visando maior qualidade dos produtos apícolas e atendimento da legislação brasileira para estes produtos. Neste intuito, desenvolveu-se o presente trabalho que teve como objetivo desenvolver metodologia de análise rápida, baseada em NIRs e PLSR, de percentuais de umidade, carbono total e nitrogênio total em amostras de pólen. Os modelos preditivos desenvolvidos com estas técnicas apresentaram valores de R² superiores a 95 e valores de RPD de 4.5, 5.4 e 46 para os percentuais de nitrogênio total, carbono total e umidade, respectivamente, juntamente com valores baixos para RMPSEP e RMSECV. Tais valores para os parâmetros de validação comprovaram a adequação dos modelos para utilização em programas de treinamento de agricultores em boas práticas de produção de pólen, bem como na previsão de perdas de umidade no processo de secagem de amostras. O erro percentual médio, baseado no RMSEP e no limite mínimo de 4% de umidade para amostras de pólen, estabelecido pela legislação brasileira, revelou a necessidade de desenvolvimento de um modelo para este parâmetro em torno do limite legal, de forma a diminuir o erro do modelo desenvolvido neste trabalho para valores inferiores aos 6%. Os resultados obtidos, entretanto, demonstraram a aplicabilidade da técnica NIRs, juntamente com a técnica PLSR, para predição das propriedades físico-química estudadas em amostras de pólen do nordeste do estado do Pará.

Palavras-chave: NIRs, PLSR, Pólen, Nitrogênio Total, Umidade, Carbono Total.

ABSTRACT

The Amazon is one of the regions in Brazil where the greatest growth in bee production has been observed in the last 20 years. In this region the state of Pará stands out with almost 50% of the regional production, and in its northeast region the main pole of bee production. This production is predominantly done by family farmers and who, in addition to honey, have been exploring pollen production. However, there has been a need to strengthen good production practices in this region with a view to improving the quality of bee products and complying with Brazilian legislation for these products. To this end, the present work was developed with the objective of developing a rapid analysis methodology, based on NIRs and PLSR, of percentages of humidity, total carbon and total nitrogen in pollen samples. The predictive models developed with these techniques showed R² values above 95 and RPD values of 4.5, 5.4 and 46 for the percentages of total nitrogen, total carbon and humidity, respectively, together with low values for RMPSEP and RMSECV. Such values for the validation parameters proved the adequacy of the models for use in training programs for farmers in good pollen production practices, as well as in predicting moisture losses in the sample drying process. The average percentage error, based on the RMSEP and the minimum limit of 4% humidity for pollen samples, established by Brazilian legislation, revealed the need to develop a model for this parameter around the legal limit, in order to reduce the error of the model developed in this work for values below 6%. The results obtained, however, demonstrated the applicability of the NIRs technique, together with the PLSR technique, to predict the physicochemical properties studied in pollen samples from the northeast of the state of Pará.

Keywords: NIRs, PLSR, Pollen, Total Nitrogen, Moisture, Total Carbon.

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia tem sido a região brasileira onde a atividade apícola mais cresceu nos últimos 20 anos, com 1260% de aumento, com o estado do Pará respondendo por cerca de 44% desta produção. A participação da região no contexto nacional, entretanto, é de apenas 1,6% da produção de mel e quase insignificante no que se refere aos produtos pólen, própolis, geléia real e apitoxinas (Pereira *et al.*, 2017). As condições de clima quente e a grande biodiversidade da região elegem-na como uma das regiões de maior potencial para a apicultura no Brasil.

No estado do Pará, destacam-se três polos de produção localizados nas regiões nordeste, sudeste e oeste do estado. Estes polos apresentam níveis de desenvolvimento e organização diferenciados, sendo o polo do nordeste aquele que se caracteriza com maior evolução, possuindo entrepostos licenciados, ou em vias de licenciamento, com selos artesanais e com SIF, geralmente ligados à associações de produtores. Além disso, a região nordeste é a única região do estado onde há produção de pólen apícola.

A produção de pólen no nordeste paraense gera mais uma alternativa de renda aos produtores locais, em sua grande maioria agricultores familiares, e leva ao mercado um produto de elevado valor nutricional rico em proteínas e aminoácidos essenciais, bem como em vitaminas e outros compostos de valor nutricional (Modro *et al.*, 2007). Além disso, as propriedades funcionais do pólen apícola enriquecem este alimento tornando-o um promotor natural de saúde e conferindo ao mesmo características antifúngicas, anti-inflamatória, entre outras (Carlos Fuenmayor *et al.*, 2014; Sattler *et al.*, 2015).

Para que o pólen ofereça todo o seu potencial como alimento funcional faz-se necessário que o mesmo seja produzido de acordo com padrões rígidos de qualidade que minimizem perdas no seu valor nutricional e não gere riscos ao consumidor. Neste sentido, a legislação brasileira rege a produção de pólen por meio do regulamento Instrução Normativa MAPA nº 11, de 20 de outubro de 2000, que definem o padrão nacional para a produção de pólen. Segundo estes regulamentos, o produtor de pólen deve atender um conjunto mínimo de padrões físico-químicos por meio de análises em laboratórios certificados.

Buscando fortalecer a produção apícola no estado do Pará, políticas públicas e ações de pesquisa e assistência técnica vem buscando elevar o patamar de qualidade na produção apícola dos agricultores familiares da região. Neste sentido, avaliações rápidas de propriedades físico-química de pólen tem se tornado necessárias para os agentes de pesquisa e extensão rural, de forma a darem suporte a produtores em programas de treinamento voltadas a boas práticas de produção apícola.

Neste sentido, a utilização da tecnologia de análise com espectroscopia no infravermelho próximo (NIRs) vem sendo utilizada, associada à técnica de Regressão de Mínimos Quadrados Parciais (PLSR), como ferramenta de desenvolvimento de modelos de análise rápida de propriedades físico-química em pólen (Costa *et al.*, 2017; González-Martín *et al.*, 2007). Esta ferramenta permite respostas de múltiplos parâmetros em uma única análise, diminuem o tempo de análise bem com a geração de resíduos químicos de análise.

Considerando-se o valor funcional do pólen apícola e seu potencial de diversificação e agregação de valor à produção de agricultores familiares no estado do Pará, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de uso da tecnologia NIRs, associada a técnica PLRS, para o desenvolvimento de modelos de análise rápida de umidade, nitrogênio total e carbono total em amostras de pólen da principal região produtora do estado do Pará.

2 METODOLOGIA

Este trabalho foi efetuado com amostras de pólen obtidas de produtores da região nordeste do estado do Pará e duas amostras de pólen comercial de referência. Os procedimentos seguidos para o desenvolvimento do mesmo são apresentados a seguir.

2.1 OBTENÇÃO, PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Foram utilizadas no trabalho 18 amostras de pólen coletadas na região nordeste do estado do Pará, 1 amostra de pólen comercial da região nordeste do Brasil (Canavieiras-Bahia) e 1 amostra de pólen comercial da região da Flórida nos Estados Unidos da América.

As amostras coletadas na região nordeste paraense foram inicialmente congeladas por 3 dias e após foram separadas em um lote de 5 amostras e em um lote de 13 amostras. O processamento seguinte no lote de 5 amostras consistiu somente na retirada de contaminantes macroscópicos tais como pedaços de insetos, folhas e talos, entre outros. O processamento no lote de 13 amostras, por outro lado, consistiu em uma pré-secagem a 40 °C por cerca de 8 horas seguida pela retirada de contaminantes macroscópicos, procedimentos efetuados normalmente para a comercialização do pólen. As amostras comerciais foram utilizadas diretamente nas análises, sem qualquer tratamento prévio. Estes procedimentos permitiram avaliar as amostras em toda a faixa de umidade encontrada ao longo do processamento normalmente adotado para comercialização do pólen.

Após o preparo descrito anteriormente, cerca de 2 gramas das amostras de todos os lotes, incluindo as comerciais, foram colocadas em tubos de vidro de 5mL e foram coletados os espectros NIRs das mesmas. Após esta coleta de espectros, todas as amostras foram secas em estufa a vácuo a 80 °C por 24 horas para coleta dos espectros das amostras secas nestas condições. A secagem final

foi efetuada nos tubos de vidro utilizados para obtenção dos espectros NIRs iniciais, sendo que estes foram fechados imediatamente após a retirada do vácuo visando minimizar a reabsorção de água pelas mesmas.

A umidade das amostras foi determinada por gravimetria avaliando-se a perda de peso das amostras durante o processo de secagem em estufa a vácuo. As avaliações de nitrogênio total e carbono total foram feitas com as amostras secas após a obtenção dos espectros. Estas avaliações foram realizadas em aparelho Leco 528 LC utilizando o método de Dumas (Etheridge, Pesti e Foster, 1998).

2.2 AQUISIÇÕES ESPECTRAIS

Os espectros NIRs das amostras úmidas, pré-secas e secas de pólen foram obtidos utilizando espectrômetro MPA FT-NIR da BRUKER. Os dados espectrais foram adquiridos no modo de absorvância na faixa espectral de 3.500 cm^{-1} a 12.500 cm^{-1} , com 16 cm^{-1} de resolução e média de 32 varreduras por espectro. Para a leitura das amostras utilizou-se o acessório para amostras sólidas no qual foram lidas as amostras em tubos de vidro conforme procedimento descrito anteriormente. Todas as leituras espectrais foram efetuadas com as amostras em temperatura de 25 °C.

2.3 DESENVOLVIMENTO DOS MODELOS DE PREDIÇÃO

O software de espectrografia utilizado para a construção dos modelos de predição das propriedades físico-químicas foi o OPUS 6.5 (Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha). Os dados espectrais foram pré-processados no OPUS 6.5 concomitantemente ao processo de otimização da região espectral que melhor correlacionava os dados físico-químicos.

Em todos os modelos utilizaram-se tanto os 20 espectros das amostras úmidas quanto os 20 espectros das amostras secas. No caso do modelo de umidade optou-se preferencialmente por excluir espectros das amostras secas, visando minimizar o peso destas amostras no modelo desenvolvido. Neste modelo foi ainda adotado o procedimento de atribuir às amostras secas em estufa o valor zero de umidade. Para os modelos relacionados ao percentual de nitrogênio e carbono total foram feitas correções nos valores das amostras úmidas para estes parâmetros, visto que os mesmos são determinados em amostras secas.

O desenvolvimento dos modelos foi efetuado utilizando o método do Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (PLSR) e a validação de tais modelos para predição de umidade, nitrogênio e lipídios foi feita através dos valores dos coeficientes de determinação de calibração (R^2), erro padrão médio de validação cruzada (RMSECV) e de predição (RMSEP) e a relação de desempenho do desvio (RPD). Os parâmetros foram calculados de acordo com as equações 1, 2 e 3:

$$y_i^{meas} - y_i^{pred2} \quad (1)$$

$$\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M$$

$$RMSECV, RMSEP = \sqrt{\quad}$$

$$R^2 = \left(1 - \frac{1}{RDP^2}\right) \times 100 \quad (2)$$

$$y_i^{meas} - y_i^{pred} - bias \quad (3)$$

$$\frac{1}{M-1} \cdot \sum_{i=1}^M$$

$$\sqrt{\quad}$$

$$\frac{1}{M-1} \cdot \sum_{i=1}^M$$

$$\sqrt{\quad}$$

$$RDP = \frac{SD}{SEP_{bias}} =$$

Onde:

M = número de amostras,

y_i^{meas} =

y_i^{pred} =

y_m =

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os procedimentos de preparo de amostras e análises físico-químicas utilizados neste trabalho permitiram determinar valores de umidade que variaram entre 0% e 33%. Para o percentual de nitrogênio total a faixa obtida ficou entre 2,6% e 4,5%, enquanto que para o percentual de carbono total a faixa de valores obtidos ficou entre 30% e 50%. As informações espectrais e os dados dos modelos desenvolvidos com estes valores são descritos a seguir.

3.1 ANÁLISE ESPECTRAL

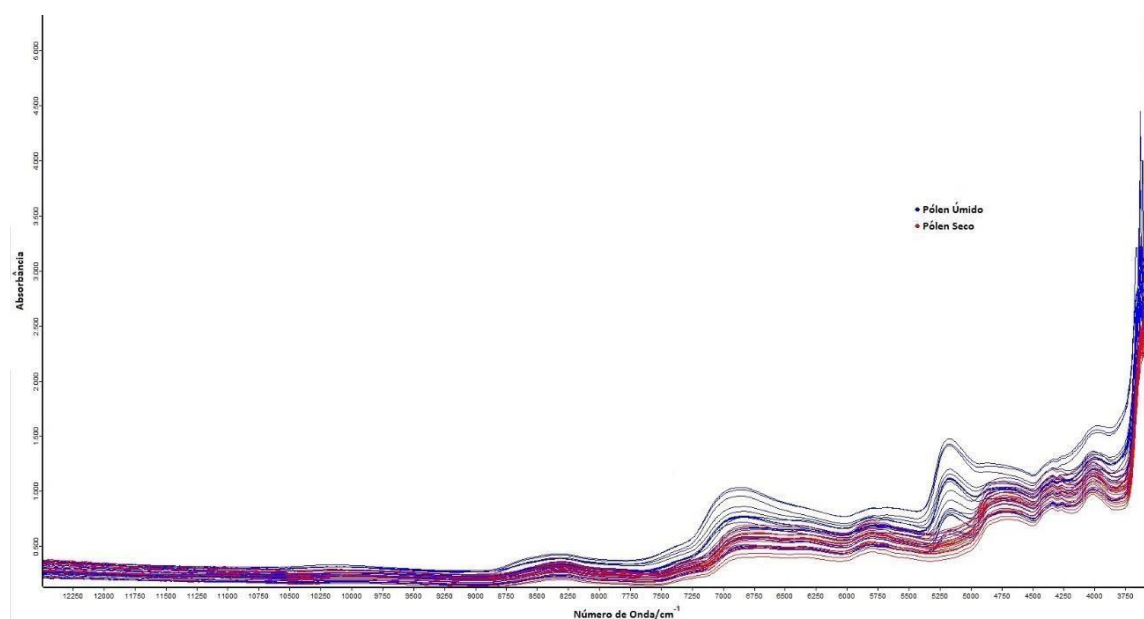
Na fig. 1 são apresentados os 40 espectros sem tratamento das amostras de pólen utilizadas neste trabalho. As amostras rotuladas de pólen úmido consistem no lote de 5 amostras com umidade original, no lote com 13 amostras pré-secas e no lote com as duas amostras comerciais sem processamento. As amostras rotuladas como pólen seco consistem em todas as 20 amostras secas a peso constante em estufa a vácuo.

A diminuição na intensidade dos picos da fig. 1 comparando-se as amostras secas com amostras úmidas deve-se à perda de água das amostras. Isto fica mais evidente com o desaparecimento dos picos

na região espectral entre 5250 cm^{-1} e 5000 cm^{-1} , onde se pode separar claramente as amostras secas daquelas que apresentaram alguma umidade.

A amostra de pólen proveniente da região da Flórida nos Estados Unidos da América apresentou espectro com comportamento geral muito similar às demais amostras do trabalho, não sendo possível por uma simples inspeção visual da fig. 1 distinguir seu espectro das demais amostras do trabalho. Semelhantemente comportou-se a amostra de pólen comercial da região nordeste do Brasil.

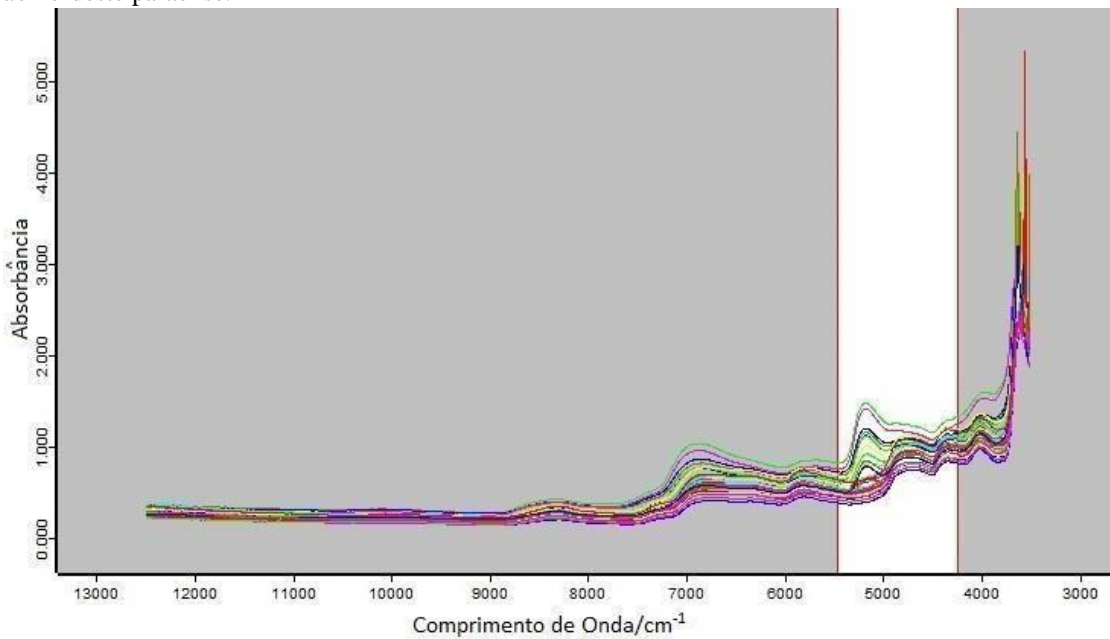
Fig. 1 – Espectros NIRs de amostras de pólen de *Apis mellifera*.



3.2 MODELOS DE PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

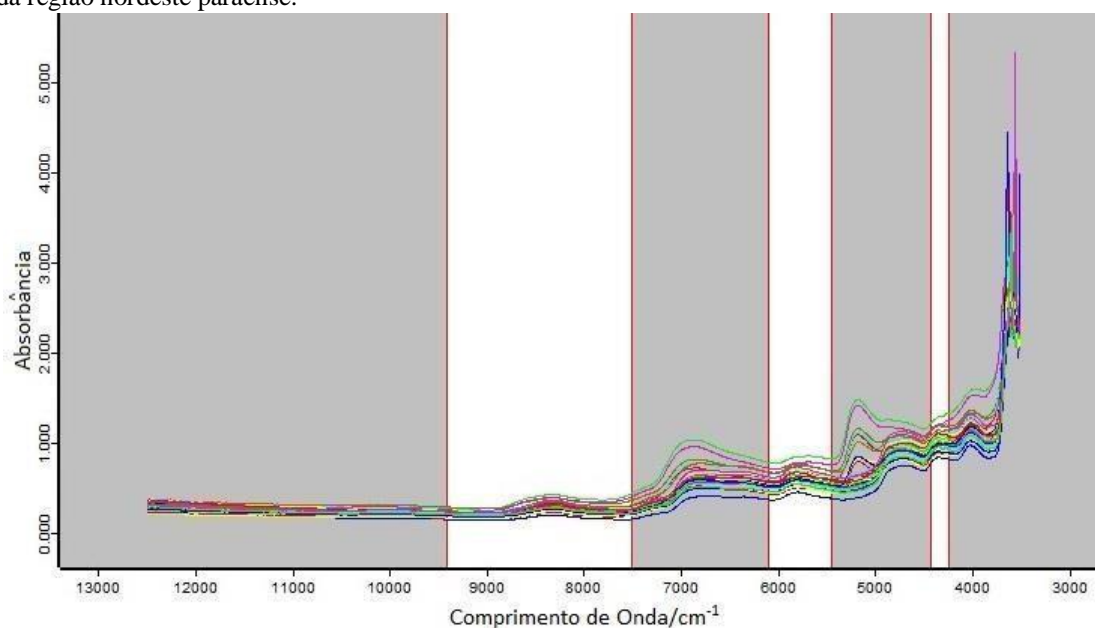
Na fig. 2 apresenta-se a região espectral que melhor correlacionou os dados espectrais ao percentual de carbono total. Esta região, compreendida entre 5500 cm^{-1} e 4200 cm^{-1} , apresenta efeitos espectrométricos de estiramentos de diferentes ligações químicas envolvendo desde ligações C-H, N-H e OH de água e ácidos orgânicos, coerentes com a complexidade da matriz pólen avaliada que possui água, proteínas, ácidos e outros compostos orgânicos.

Fig. 2 – Região espectral utilizada para o desenvolvimento do modelo de predição de carbono total em amostras de pólen da região nordeste paraense.



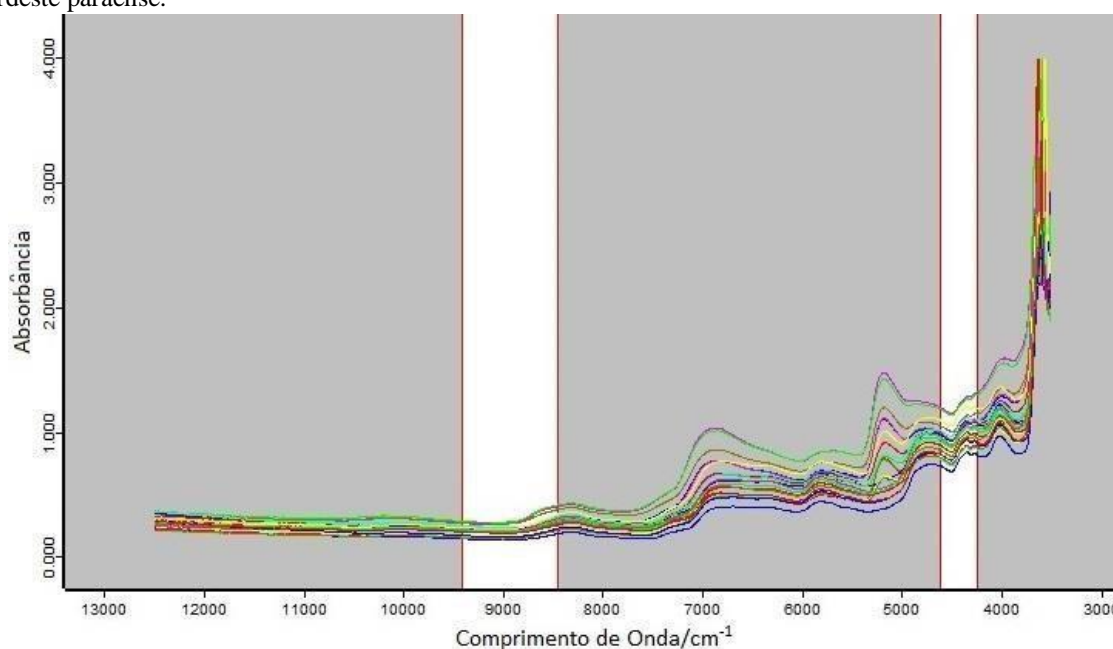
Na fig. 3 apresentam-se as regiões espectrais que melhor correlacionaram os dados espectrais ao percentual de nitrogênio total das amostras de pólen utilizadas. A região com os maiores comprimentos de onda está relacionada a efeitos das ligações C-H e OH, enquanto as outras duas regiões são características para efeitos de ligação NH, CH e OH. Novamente observa-se que as regiões otimizadas refletem a complexidade da matriz pólen e claramente apresentam efeitos das ligações NH de proteínas, abundantes no pólen de *apís mellifera*.

Fig. 3 – Região espectral utilizada para o desenvolvimento do modelo de predição de nitrogênio total em amostras de pólen da região nordeste paraense.



Na fig. 4 apresentam-se as regiões espectrais que melhor correlacionaram os dados espectrais à umidade das amostras de pólen utilizadas. A região compreendida entre 4600 cm⁻¹ e 4200 cm⁻¹ está relacionada principalmente a efeitos das ligações CH e NH, enquanto a região de maior comprimento de onda, 9400 cm⁻¹ a 8500 cm⁻¹, está tanto relacionada à absorvância da água quanto de ligações CH de compostos orgânicos. Verifica-se assim que a escolha destas regiões claramente se correlaciona à química das amostras de pólen no que se refere à sua umidade e suas interações com outros compostos orgânicos, embora a região característica de água em baixos comprimentos de onda, 5300 cm⁻¹ a 4950 cm⁻¹, discutida anteriormente na figura 1, não apareceu como faixa de predição no modelo desenvolvido.

Fig. 4 – Região espectral utilizada para o desenvolvimento do modelo de predição de umidade em amostras de pólen da região nordeste paraense.



Os parâmetros de validação dos modelos desenvolvidos com as regiões espectrais apresentadas nas figuras 2 a 4 são apresentados na tabela 1 para os percentuais de umidade, nitrogênio total e carbono total.

Tabela 1 – Parâmetros de validação de modelos preditivos para percentuais de umidade, nitrogênio total e carbono total utilizando PLRS.

	Calibração				
	Rank	R ²	RMSECV	RPD	RMSEP
Umidade	9	99.9	0.209	46.0	0.264
Nitrogênio	9	95.2	0.115	4.5	0.124

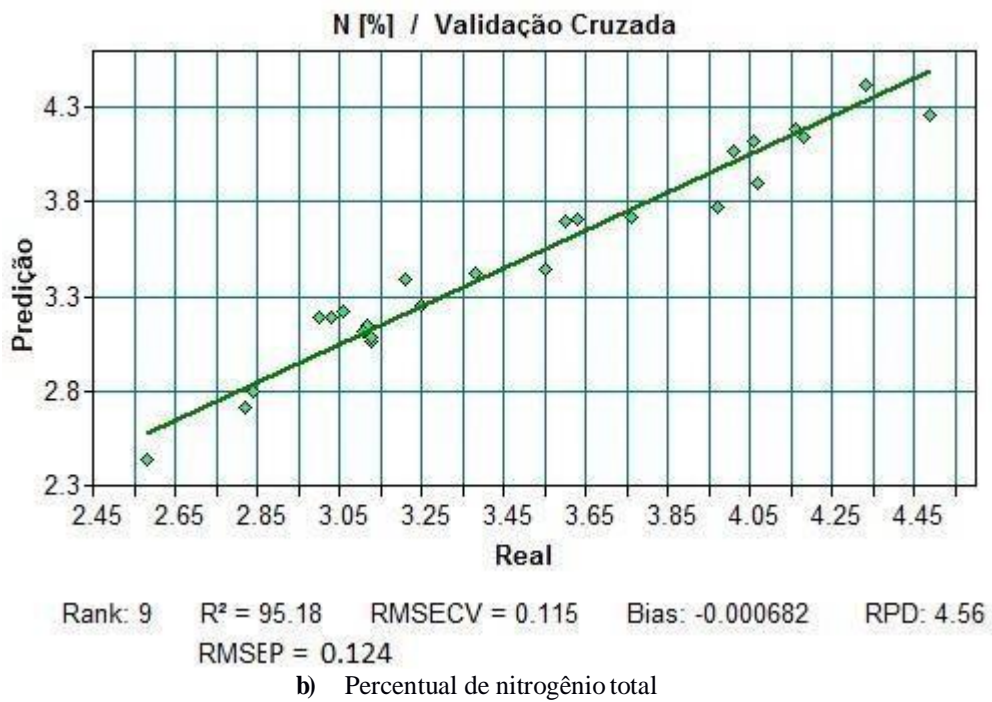
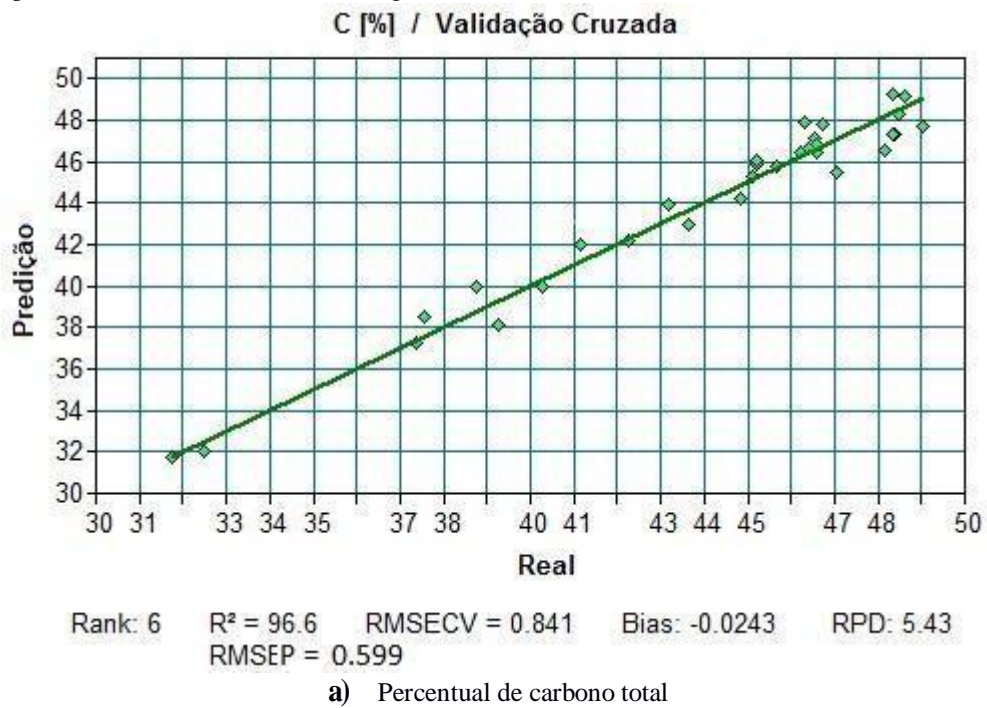
Carbono	6	96.6	0.841	5.4	0.599
----------------	---	------	-------	-----	-------

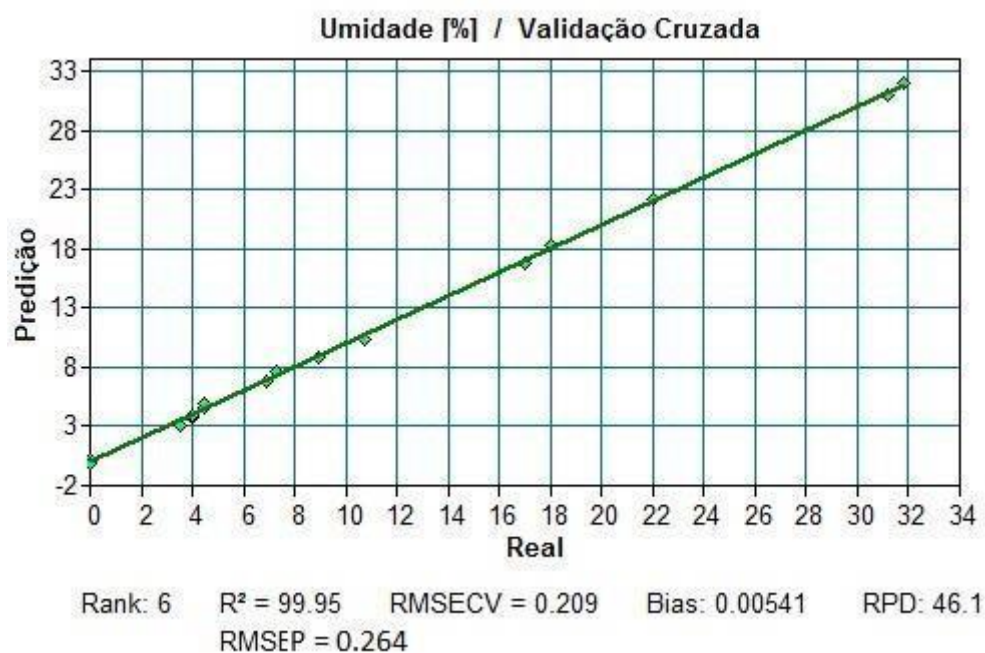
Pela tabela 1 observa-se que todos os modelos desenvolvidos apresentaram um elevado valor de R² bem como valores de RPD significativamente superiores a 2.5, limite mínimo geralmente adotado para valores de RPD para um modelo robusto (González-Martín *et al.*, 2007), considerando-se que o RPD é uma medida da relação entre o desvio padrão do método analítico e o desvio padrão usando NIRs (RMSEP). Neste último caso ressalta-se que os valores elevados de RPD indicam uma boa correlação entre o método químico utilizado (DUMAS) e a resposta espectral lida na região do NIRs, mesmo para o nitrogênio que geralmente leva a modelos NIRs com RPD baixo (Costa *et al.*, 2017; González-Martín *et al.*, 2007) quando se utiliza o método de referência Kjeldhal.

Na tabela 1 observa-se também que os erros médios de validação cruzada (RMSECV) e os erros médios de Predição (RMSEP) apresentaram valores inferiores a 5% do valor inferior da faixa de análise para nitrogênio total e 4% para carbono total. Para a umidade, os valores ficaram inferiores a 6% da umidade limite de 4% regulamentada para amostras de pólen comercial no Brasil, indicando também a capacidade do modelo de avaliar este parâmetro com este erro. Entretanto, neste caso, torna-se conveniente desenvolver um modelo com amostras que apresentem umidade mais próximo do valor normativo de forma a minimizar o erro de predição nesta região.

Os valores de erro descritos anteriormente, juntamente com os elevados valores de RPD, indicam que os modelos desenvolvidos para predição dos percentuais de umidade, nitrogênio total e carbono total em amostras de pólen da região nordeste paraense são robustos e podem ser utilizados para predição destes parâmetros em programas de treinamento de agricultores em boas práticas de produção. Podem também ser utilizados para predição de perdas de massa no processo de secagem. Os gráficos correlacionando os valores preditos e os valores utilizados para calibração dos modelos, apresentados na figura 5, reforçam a análise anterior quanto à adequação dos modelos desenvolvidos.

Fig. 5 – Comparação entre valores de referência e valores preditos pelo modelo NIRs-PLSR para os percentuais em amostras de pólen de: a) Carbono total; b) Nitrogênio total; c) Umidade.





c) Umidade percentual

4 CONCLUSÕES

Neste trabalho utilizou-se a tecnologia NIRs associada à regressão de mínimos quadrados parciais para o desenvolvimento de modelos de predição de percentuais de umidade, carbono total e nitrogênio total em amostras de pólen da região nordeste do estado do Pará, Brasil. Valores de R^2 superiores a 95 e Valores de RPD de 4.5, 5.4 e 46 para os percentuais de nitrogênio total, carbono total e umidade, respectivamente, juntamente com valores baixos para RMPSEP e RMSECV comprovaram a adequação dos modelos para utilização em programas de treinamento de agricultores em boas práticas de produção de pólen, bem como na previsão de perdas de umidade no processo de secagem de amostras. O erro percentual médio baseado no RMSEP e no limite mínimo de 4% de umidade para amostras de pólen, estabelecido pela legislação brasileira, revelou a necessidade de desenvolvimento de um modelo para este parâmetro em torno do limite legal, de forma a diminuir o erro para valores inferiores aos 6% do modelo desenvolvido neste trabalho para percentuais de umidades de até 33%. Os resultados obtidos, entretanto, demonstraram a aplicabilidade da técnica NIRs, juntamente com a técnica PLSR, para predição das propriedades físico-químicas estudadas em amostras de pólen do nordeste do estado do Pará.

CONFLITO DE INTERESSES

Não existem conflitos de interesses.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Amazônia oriental e Projetos integrados da Amazônia- Fundo-Amazônia BNDS 16.17.01.004.00.00. O autor Dr. Mozaniel Santana de Oliveira, agradece ao PCI-MCTI/ MPEG, bem como ao CNPq pelo processo de bolsa número: 302203 / 2020-6.

REFERÊNCIAS

CARLOS FUENMAYOR, B.; CARLOS ZULUAGA, D.; CONSUELO DÍAZ, M.; MARTA QUICAZÁN, C. DE; COSIO, M.; MANNINO, S. **Evaluation of the physicochemical and functional properties of Colombian bee pollen.**

COSTA, M. C. A.; MORGANO, M. A.; FERREIRA, M. M. C.; MILANI, R. F. Analysis of bee pollen constituents from different Brazilian regions: Quantification by NIR spectroscopy and PLS regression. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 76–83, jul. 2017.

ETHERIDGE, R. D.; PESTI, G. M.; FOSTER, E. H. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. **Animal Feed Science and Technology**, v. 73, n. 1–2, p. 21–28, jul. 1998.

GONZÁLEZ-MARTÍN, I.; HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M.; BARROS-FERREIRO, N.; CORDÓN MARCOS, C.; GARCÍA-VILLANOVA, R. J. Use of NIRS technology with a remote reflectance fibre-optic probe for predicting major components in bee pollen. **Talanta**, v. 72, n. 3, p. 998–1003, maio 2007.

MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; LUZ, C. F. P. DA; NETO, J. A. A. M. Nutritional composition and quality of bee pollen collected in Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1057–1065, 2007.

PEREIRA, D. S.; ANDRADE DE ANDRADE, A.; PETER, ; PESSOA, H.; MULLER, M.; GIORGIO, ;; VENTURIERI, C. **Produção de abelhas rainha (*Apis mellifera* L.) em colmeias não orfanadas na Embrapa Amazônia Oriental**, 2017.

SATTLER, J. A. G.; MELO, I. L. P. DE; GRANATO, D.; ARAÚJO, E.; SILVA DE FREITAS, A. DA; BARTH, O. M.; SATTLER, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. DE. Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study. **Food Research International**, v. 77, p. 82–91, nov. 2015.