



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARIA MICHELINE TEIXEIRA LOPES

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE PÓLEN APÍCOLA:
PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES E AVALIAÇÃO
SENSORIAL

FORTALEZA

2023

MARIA MICHELINE TEIXEIRA LOPES

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE PÓLEN APÍCOLA:
PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES E AVALIAÇÃO
SENSORIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^ª. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues.

FORTALEZA

2023

MARIA MICHELINE TEIXEIRA LOPES

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE PÓLEN APÍCOLA:
PROPRIEDADES NUTRICIONAIS, ANTIOXIDANTES E AVALIAÇÃO
SENSORIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 26/09/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Passos Rodrigues (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Sílvia Maria de Freitas
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Jeniffer Johana Duarte Sanchez
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Afra Maria do Carmo Bandeira Nascimento
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof^ª. Dr^ª. Maria Jacqueline do Nascimento Mendonça
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Aos meus pais Dulcinéa e Francisco,
aos meus irmãos Michelle e Michel;
À minha filha Lara e ao meu esposo
Álvaro.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado saúde, paciência, sabedoria e força para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Ceará, principalmente ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudos no primeiro ano de doutorado.

À minha orientadora Prof.^a Maria do Carmo Passos Rodrigues, pelos ensinamentos, pelo desafio lançado, por acreditar na minha capacidade, pela amizade e pertinentes sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos professores da banca examinadora, Profa. Silvia Maria de Freitas, Profa. Jeniffer Johana Duarte Sanchez, Profa. Afra Maria do Carmo Bandeira Nascimento e Profa. Maria Jacqueline do Nascimento Mendonça por terem aceitado a participação na defesa e colaborado com importantes correções e sugestões.

Aos meus pais, Dulcinéa e Francisco, por todo o incentivo ao estudo e apoio nos momentos que mais precisei e por toda a confiança depositada, pelos ensinamentos de respeito e honestidade.

Aos meus irmãos, Michelle e Michel, pela força dada em momentos preciosos.

À minha filha, Lara, minha razão de viver.

Ao meu amigo e amor, Álvaro Silveira, pela cobrança e pela motivação para a conclusão deste trabalho.

Aos meus avós queridos Maria de Lourdes e Francisco das Chagas e a minha tia Penha, de quem sinto muita falta e que estão abençoando de um lugar melhor.

À Profa. Luciana pela ajuda na realização das análises no Laboratório de Frutos e Hortaliças, seu apoio foi de extrema importância, assim como aos técnicos Fernando e Liana.

Às minhas amigas Juliana e Jacqueline, que me dão e deram força para finalizar o trabalho e contribuições para melhoria, em especial à Jacqueline que indicou que me indicou o produtor de pólen apícola para ser utilizado neste estudo.

À minha amiga Rosana Saboya, que ajudou no preparo de reagentes, além de todo apoio emocional.

Ao Prof. Bartolomeu e a técnica Cinthia que me auxiliaram nas análises físico-químicas no Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) da UFC, principalmente pelo acolhimento e atenção.

À Luana, por ter me ajudado em muitas análises, disponibilizando seu tempo e mão-de-obra mesmo finalizando sua dissertação, e foi de extrema importância.

Ao pesquisador Kirley Marques, da Embrapa Agroindústria Tropical, que com todas as dificuldades de tempo, conseguiu me ajudar nas análises de identificação de compostos fenólicos, juntamente com o analista Paulo Riceli.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis da Universidade Estadual de Feira de Santana, pela realização da análise polínica.

À Profa. Juliane Doering e as técnicas do Laboratório de Laticínios da UFC, por me ajudarem com análises de gordura em amostras-testes.

Às Profas. Ana Lúcia e Tatiana Lemos da Universidade Federal do Maranhão pelas análises de bioativos, além da disponibilidade e carinho.

À minha amiga Tatiana Vidal, que me ajudou com as análises sensoriais.

Aos alunos e docentes do IFCE *Campus* Sobral do Eixo Produção Alimentícia que me auxiliaram em várias análises, Angélica, Manuel, Rafael, Judson, Profa. Daniele, Profa Geórgia e Prof. Eliardo.

Aos meus colegas do IFCE *Campus* Sobral, Profa. Ana Lúcia, Prof. Paulo Ricardo, Prof. Elenilton, Prof. Ronald, Prof. Marcus Vinícius, Prof. Thomas Coelho e Profa. Maria Clara, que dispuseram de tempo para me auxiliar em atividades deste trabalho, meu muito obrigada.

Ao Diretor Geral do IFCE *Campus* Sobral, Wilton Bezerra e ao Diretor de Ensino, Rafael Vitor, pela oportunidade de poder me afastar temporariamente das atividades de docência para a conclusão deste trabalho.

Enfim, a todos que contribuíram para que este trabalho fosse possível, minha eterna gratidão.

“A persistência é o caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

O pólen é considerado o “ouro apícola” por diversos estudiosos, por conter alto teor de nutrientes e compostos bioativos, já comprovado através de vários estudos. Para que o pólen seja disponibilizado e consumido pela população, se faz necessário oferecer uma forma viável e facilitada. Por sua vez, a indústria de alimentos lança produtos no mercado para atender à demanda por alimentos nutritivos e saudáveis. A presença de compostos fenólicos com ação antioxidante e antimicrobiana, tornam o pólen um alimento muito atrativo e promissor. Dessa forma, o pólen tem potencial de ser um complemento natural de diversos produtos alimentícios, enriquecendo-os, como por exemplo, bebidas. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi elaborar uma bebida à base de pólen com propriedade antioxidante e avaliá-la sensorialmente. Foi adquirido pólen desidratado da região do Trairi, no Ceará (coordenadas geográficas: latitude -3.2752406266834235; longitude -39.26842937913679), que foi caracterizado quanto às propriedades físico-químicas, microbiológicas, análise polínica, compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante (vias ABTS e DPPH). Para que o conceito do produto fosse desenhado, aplicaram-se grupos focais e questionário on-line. Testes preliminares foram realizados para que os ingredientes fossem definidos. Utilizou-se um planejamento experimental em que doze formulações foram elaboradas, considerando como variáveis independentes, o pólen e o cacau e como variáveis dependentes, os resultados de sólidos solúveis (°Brix), viscosidade e compostos fenólicos. Das doze formulações, quatro foram selecionadas para a fase de análise sensorial, considerando os três fatores citados (sólidos solúveis, viscosidade e compostos fenólicos). Os produtos selecionados foram avaliados sensorialmente com relação à aceitação e idealidade de atributos, além da preferência global. Avaliou-se a aceitação da impressão global, aparência, aroma, sabor, doçura e textura (corpo), além da intenção de compra e a idealidade dos atributos doçura, amargor e textura (corpo). As amostras não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$) para todos os atributos em relação à aceitação e intenção de compra. Para o aspecto de idealidade, os resultados demonstraram que as bebidas precisariam ser otimizadas em relação à doçura, pois apresentaram maior percentual “de menor intensidade” de idealidade, ou seja, estavam menos doces que o ideal. Nesta etapa, escolheu-se uma formulação, a B8, para ser comparada com três amostras otimizadas com outro adoçante, em substituição ao mel. Para a otimização das bebidas, as formulações BMA, BMA50 e BA foram elaboradas

com outro adoçante (substituição parcial ou total ao mel), enquanto a formulação B8 continuou original (somente com mel). Na análise sensorial das formulações B8, BMA, BMA50 e BA, incluiu-se a cor e o amargor na aceitação sensorial. Para a caracterização das bebidas, baseando-se nas percepções dos consumidores, utilizou-se a técnica descritiva CATA com escala de intensidade e a técnica CATA qualitativa. Empregou-se a técnica grupo focal para levantamento de termos descritivos, selecionando-se 20 termos para o CATA quantitativo e 15 termos de descrição de emoções para o CATA qualitativo. As bebidas otimizadas de pólen apícola alcançaram melhores médias de aceitabilidade, com destaque para a amostra BA (substituição total por açúcar demerara), com médias entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, demonstrando que tem potencial de consumo, com a disponibilização de produto do tipo “pronto para beber”, facilitando o consumo de pólen apícola e confirmando novas alternativas de produtos naturais com propriedades antioxidantes.

Palavras-chave: aceitabilidade; bioativos; características sensoriais.

ABSTRACT

Pollen is considered “bee gold” by many scholars, as it contains a high level of nutrients and bioactive compounds, as proven by several studies. In order for pollen to be available and consumed by the population, it is necessary to offer a viable and easy way to obtain it. In turn, the food industry launches products on the market to meet the demand for nutritious and healthy foods. The presence of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial action makes pollen a very attractive and promising food. Thus, pollen has the potential to be a natural complement to various food products, enriching them, such as beverages. Given the above, the objective of this study was to develop a pollen-based beverage with antioxidant properties and evaluate it sensorially. Dehydrated pollen was acquired from the Trairí region, in Ceará (geographic coordinates: latitude -3.2752406266834235; longitude -39.26842937913679), which was characterized according to its physicochemical and microbiological properties, pollen analysis, phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity (ABTS and DPPH pathways). In order to design the product concept, focus groups and an online questionnaire were conducted. Preliminary tests were performed to define the formulation, as well as the other ingredients. An experimental design was used in which twelve formulations were developed, considering pollen and cocoa as independent variables and the results of soluble solids (°Brix), viscosity and phenolic compounds as dependent variables. Of the twelve formulations, four were selected for the sensory analysis phase, considering the three factors mentioned (soluble solids, viscosity and phenolic compounds). The selected products were sensorially evaluated in relation to the acceptance and ideality of attributes, in addition to the overall preference. The acceptance of the overall impression, appearance, aroma, flavor, sweetness and texture (body) was evaluated, in addition to the purchase intention and the ideality of the attributes sweetness, bitterness and texture (body). The samples did not present statistical difference between each other ($p>0.05$) for all attributes in relation to acceptance and purchase intention. For the ideality aspect, the results demonstrated that the beverages would need to be optimized in relation to sweetness, as they presented a higher percentage of “lower intensity” of ideality, that is, they were less sweet than ideal. At this stage, a formulation, B8, was chosen to be compared with three samples optimized with another sweetener. To optimize the beverages, the BMA, BMA50 and BA formulations were prepared with another sweetener (partial or total replacement of

honey), while the B8 formulation remained original (with honey only). In the sensory analysis of the B8, BMA, BMA50 and BA formulations, color and bitterness were included for sensory acceptance analysis. To characterize the beverages, based on consumer perceptions, the descriptive CATA technique with intensity scale and the qualitative CATA technique were used. The focus group technique was used to collect descriptive terms, selecting 20 terms for the quantitative CATA and 15 terms describing emotions for the qualitative CATA. The optimized bee pollen beverages achieved better acceptability averages, with emphasis on the BA sample (made only with demerara sugar), with averages between “I liked it slightly” and “I liked it moderately”, demonstrating that it has consumption potential, with the availability of a “ready-to-drink” product, facilitating the consumption of bee pollen and confirming new alternatives of natural products with antioxidant properties.

Keywords: acceptability; bioactives; sensory characteristics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aparelho reprodutor das flores	22
Figura 2 – Estrutura de um grão de pólen apícola	22
Figura 3 – Alguns flavonoides geralmente encontrados em produtos apícolas	32
Figura 4 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários	33
Figura 5 – Localização do apiário	50
Figura 6 – Pólen desidratado do Trairí	51
Figura 7 – “Caldo de pólen” (a) e o retido no filtro (b)	60
Figura 8 – Fluxograma de produção da bebida	61
Figura 9 – Identificação botânica do Pólen do Trairí em escala de 20µm	73
Figura 10 – Cromatograma em Uv-Vis, a 350 nm, do extrato de pólen	83
Figura 11 – Imagem do Pólen apícola apresentado no Formulário <i>on-line</i>	84
Figura 12 – Você consome quais itens abaixo?	85
Figura 13 – Quais dos itens abaixo você gostaria que tivesse na bebida?	86
Figura 14 – Nuvem de palavras	86
Figura 15 – Grau de gostar dos ingredientes	100
Figura 16 – Frequência de consumo dos ingredientes	101
Figura 17 – Histogramas de Frequência dos resultados do Teste de Aceitação da bebida nos atributos: impressão global; aparência; aroma; sabor; doçura, textura e atitude de compra.....	105
Figura 18 – Histogramas de Frequência da Escala do Ideal para Doçura, Amargor e Textura (Corpo)	107
Figura 19 – Histogramas de Frequência dos resultados do Teste de Aceitação das bebidas otimizadas nos atributos impressão global; aparência; cor; aroma; sabor; doçura, amargor, textura e atitude de compra	125

Figura 20 – Histogramas de Frequência da Escala do Ideal para Doçura, Amargor e Textura (Corpo) das bebidas otimizadas	127
---	-----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Superfície de resposta para Sólidos Solúveis	95
Gráfico 2 – Superfície de resposta para Viscosidade (Pa.s)	96
Gráfico 3 – Superfície de resposta para Compostos Fenólicos	98
Gráfico 4 – Descritores Qualitativos	129
Gráfico 5 – Análise de Correspondência dos atributos qualitativos	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Requisitos Físico-Químicos da Legislação Brasileira para pólen apícola desidratado	25
Tabela 2 – Composição química média de 100g de pólen	26
Tabela 3 – Fração média de cada vitamina na porção vitamínica do pólen apícola	27
Tabela 4 – Composição dos minerais do pólen apícola	28
Tabela 5 – Composição de aminoácidos essenciais do pólen apícola	30
Tabela 6 – Composição centesimal de leite de coco comercial brasileiro por 100 gramas de parte comestível	38
Tabela 7 – Composição centesimal do cacau em pó	40
Tabela 8 – Características físico-químicas de méis do Ceará	41
Tabela 9 – Roteiro de perguntas utilizadas nas sessões do Grupo de Foco (conceito do produto)	58
Tabela 10 – Planejamento Experimental das Formulações	62
Tabela 11 – Afirmações utilizadas nos questionários e os blocos correspondentes	66
Tabela 12 – Roteiro geral de perguntas utilizadas nas sessões do Grupo de Foco para levantamento de termos	67
Tabela 13 – Composição Físico-Química do pólen apícola	70
Tabela 14 – Espectro polínico das amostras de pólen apícola do Trairí. Dados de frequência (%), n > 500 grãos de pólen	75
Tabela 15 – Composição de aminoácidos essenciais do pólen apícola	77
Tabela 16 – Compostos Bioativos do Pólen	79
Tabela 17 – Identificação do extrato em modo ESI negativo	83
Tabela 18 – Resultados microbiológicos do pólen apícola	85
Tabela 19 – Perfil dos participantes da pesquisa on-line (n = 128)	86
Tabela 20 – Perfil dos participantes do Grupo de Foco (n = 12)	88

Tabela 21 – Principais características citadas pelos participantes	90
Tabela 22 – Formulações das bebidas para 200mL	91
Tabela 23 – Determinação de Proteínas (%)	91
Tabela 24 – Caracterização Físico-Química do Leite de coco, Cacau em pó e Mel	92
Tabela 25 – Planejamento experimental e resultados das análises	93
Tabela 26 – Coeficientes de Regressão Estimados para Sólidos Solúveis	94
Tabela 27 – ANOVA para a variável Sólidos Solúveis	94
Tabela 28 – Coeficientes de Regressão Estimados para Viscosidade	95
Tabela 29 – ANOVA para a variável Viscosidade	96
Tabela 30 – Coeficientes de Regressão Estimados para Compostos Fenólicos	97
Tabela 31 – ANOVA para a variável Compostos Fenólicos	97
Tabela 32 – Resultados das variáveis dependentes	99
Tabela 33 – Perfil dos participantes da análise sensorial	100
Tabela 34 – Consumo dos produtos com os ingredientes: pólen, leite de coco, cacau e mel	100
Tabela 35 – Palavras, termos, frases e sentimentos citados	103
Tabela 36 – Resultados da análise sensorial das bebidas de pólen	104
Tabela 37 – Somatório dos julgamentos das bebidas	107
Tabela 38 – Escala e porcentagem de respostas para cada termo (informações do produto)	109
Tabela 39 – Escala e porcentagem de respostas cada termo sobre interesse em alimentação saudável	110
Tabela 40 – Resultados do Teste de Fisher para prática de atividade física e alimentação saudável	111
Tabela 41 – Resultados do Teste de Fisher para a característica gênero e alimentação saudável	112

Tabela 42 – Escala e porcentagem de respostas cada termo sobre interesse em alimentos novos.....	112
Tabela 43 – Resultados do Teste de Fisher para idade e interesse em novos produtos.....	113
Tabela 44 – Escala de importância e porcentagem de respostas cada termo - informações do produto.....	114
Tabela 45 – Resultados da análise de ABTS e Viscosidade (15°C)	115
Tabela 46 – Composição Físico-Química da Formulação B8.....	116
Tabela 47 – Perfil de Ácidos Graxos da Formulação B8.....	117
Tabela 48 – Formulações Otimizadas.....	118
Tabela 49 – Resultados de açúcares totais para formulações otimizadas	119
Tabela 50 – Perfil dos participantes do Grupo de Foco para levantamento de termos (n = 23)	119
Tabela 51 – Semelhanças e diferenças entre as duas amostras (B4 e B7)	122
Tabela 52 – Termos levantados sobre as características do produto.....	123
Tabela 53 – Perfil dos provadores da análise sensorial da bebida otimizada.....	124
Tabela 54 – Resultados da análise sensorial das bebidas otimizadas.....	125
Tabela 55 – Termos descritivos do CATA quantitativo.....	131
Tabela 56 – Resultados da atividade antioxidante das formulações otimizadas.....	133

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	Pólen apícola	22
2.2	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola	25
2.3	Características e Benefícios do Pólen Apícola	25
2.3.1	<i>Teor proteico e perfil de aminoácidos</i>	<i>29</i>
2.4	Compostos bioativos do Pólen Apícola	31
2.5	Antioxidantes	33
2.5.1	<i>Antioxidantes sintéticos</i>	<i>34</i>
2.5.2	<i>Antioxidantes naturais</i>	<i>34</i>
2.6	Produtos desenvolvidos com Pólen Apícola	36
2.7	Ingredientes envolvidos na pesquisa	38
2.7.1	<i>Leite de coco</i>	<i>38</i>
2.7.2	<i>Cacau</i>	<i>39</i>
2.7.3	<i>Adoçantes: mel e açúcar demerara</i>	<i>41</i>
2.8	Bebidas com alegações funcionais	43
2.9	Estudos sensoriais com consumidores	43
2.9.1	<i>Grupo de foco</i>	<i>44</i>
2.9.2	<i>Questionários</i>	<i>45</i>
2.9.3	<i>Testes afetivos</i>	<i>46</i>
2.9.4	<i>Técnicas projetivas</i>	<i>48</i>
2.9.5	<i>CATA (Check-All-That-Apply)</i>	<i>48</i>
3	MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1	Aquisição do pólen apícola	50
3.2	Caracterização Físico-química do Pólen Apícola	51
3.3	Análise Polínica	53
3.4	Determinação do Perfil de Aminoácidos do Pólen Apícola	53
3.5	Determinação dos Compostos Bioativos do Pólen Apícola	54
3.5.1	<i>Preparação do Extrato Etanólico</i>	<i>54</i>
3.5.2	<i>Análise de Compostos Fenólicos Totais</i>	<i>54</i>
3.5.3	<i>Análise de Flavonoides Totais</i>	<i>55</i>

3.5.4	Determinação da Atividade Antioxidante por ABTS	55
3.5.5	Determinação da Atividade Antioxidante por DPPH.....	55
3.5.6	Identificação de Fenólicos em HPLC.....	56
3.5.6.1	<i>Preparação do extrato.....</i>	56
3.5.6.2	<i>Análise de identificação</i>	56
3.6	Análise Microbiológica do Pólen Apícola	56
3.7	Conceito do Produto	57
3.7.1	Questionários	57
3.7.2	Grupo de Foco para conceito do produto	57
3.8	Definição das Formulações	58
3.9	Análises Físico-químicas dos Ingredientes	62
3.10	Seleção das bebidas para a análise sensorial	63
3.11	Análise sensorial das bebidas formuladas	63
3.12	Grupo de Foco para levantamento de termos – CATA	66
3.13	Composição centesimal, atividade antioxidante (ABTS) e viscosidade da bebida escolhida para otimização	67
3.14	Análise Sensorial das formulações otimizadas	68
3.15	Análise Estatística	68
3.16	Aspectos éticos	69
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.1	Caracterização Físico-química do Pólen Apícola	70
4.2	Análise Polínica	73
4.3	Determinação do Perfil de Aminoácidos do Pólen Apícola	76
4.4	Determinação de compostos bioativos (compostos fenólicos e atividade antioxidante por ABTS)	79
4.4.1	Compostos Fenólicos Totais	79
4.4.2	Flavonoides Totais	80
4.4.3	Atividade Antioxidante via ABTS	81
4.4.4	Atividade Antioxidante via DPPH	82
4.4.5	Identificação de Compostos Fenólicos	83
4.5	Análise Microbiológica do Pólen Apícola	84
4.6	Conceito do Produto	85
4.6.1	Questionários - Formulários on-line	85

4.6.2	<i>Grupo de Foco para conceito do produto</i>	88
4.7	Formulações das bebidas e possíveis alegações funcionais	90
4.8	Caracterização Físico-química dos Ingredientes	92
4.8.1	<i>Sólidos Solúveis (° Brix)</i>	93
4.8.2	<i>Viscosidade (Pa.s)</i>	95
4.8.3	<i>Compostos Fenólicos</i>	97
4.10	Seleção das amostras para a análise sensorial	98
4.11	Análise Sensorial	100
4.11.1	<i>Perfil dos participantes</i>	100
4.11.2	<i>Associação de palavras</i>	102
4.11.3	<i>Escala Hedônica</i>	104
4.11.4	<i>Teste de Ordenação Preferência</i>	106
4.11.5	<i>Teste Escala do Ideal</i>	108
4.11.6	<i>Teste de Atitude e Opiniões</i>	109
4.12	Seleção da formulação para otimização	114
4.13	Caracterização Físico-química da formulação para otimização	116
4.14	Definição das Formulações Otimizadas	118
4.15	Grupo de Foco para levantamento de termos – CATA	119
4.16	Análise Sensorial das formulações otimizadas	123
4.16.1	<i>Perfil dos participantes</i>	123
4.16.2	<i>Resultados da Escala Hedônica</i>	124
4.16.3	<i>Escala do ideal</i>	127
4.16.4	<i>CATA Qualitativo</i>	129
4.16.5	<i>CATA Qualitativo (Termos Descritivos)</i>	131
4.17	Atividade Antioxidante das bebidas otimizadas	132
5	CONCLUSÕES	134
	REFERÊNCIAS	135
	APÊNDICE A – PESQUISA SOBRE A BEBIDA DE PÓLEN ON-LINE ...	151
	APÊNDICE B – FICHA DA 1ª ANÁLISE SENSORIAL	155
	APÊNDICE C – FICHA DA 2ª ANÁLISE SENSORIAL	157
	APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	164

1 INTRODUÇÃO

O pólen tem sido considerado por diversos autores como complemento alimentar devido a sua composição química, visto que é rico em nutrientes importantes para o ser humano. Dessa forma, pesquisas têm sido desenvolvidas para que esse composto seja inserido na alimentação humana de forma a facilitar o seu consumo. Por sua vez, a indústria de alimentos lança produtos no mercado para atender à demanda por alimentos nutritivos, saudáveis, naturais e que, possam atuar como suplementos de origem natural.

Vitaminas do complexo B e provitamina A estão presentes no pólen apícola, com destaque para Vitamina B3, de grande importância para o funcionamento do cérebro e vitamina B5 que atua nas regulações hormonais do corpo humano. Além disso, tem minerais que atuam na saúde óssea e cerebral como o fósforo, cálcio e potássio.

O pólen mostra ter potencial antioxidante e bactericida, inclusive, na Grécia seu uso era frequente por acreditar ser um composto terapêutico. Esse potencial existe devido à presença de componentes menores representados pelos minerais, compostos fenólicos, esteróis e terpenos, além das vitaminas. A composição química do pólen varia de acordo com a florada, portanto, depende de qual foi a fonte vegetal, a composição genética desse vegetal, idade e práticas agrícolas. Em diversos estudos, há muita variação entre as quantidades de macro e microelementos.

Diversos produtos, tais como: bebidas lácteas, sucos de frutas, barras de cereais são enriquecidos com suplementos naturais apresentando-se em forma de pó para serem adicionadas nas preparações. Alguns estudos já utilizaram o pólen em bebida láctea e em polpas de frutas para enriquecê-las.

Apesar de se considerar que alimentos com alegações nutricionais despertam a atenção de público específico, como os idosos ou praticantes de atividade física, as bebidas com potencial antioxidante podem ser apreciadas por consumidores de todas as idades.

Um aspecto a ser considerado é a alergenicidade de alguns tipos de pólen, que, dependendo da origem vegetal, pode ser mais forte do que outros tipos. Sabe-se que, os tipos polínicos que apresentam situações alergênicas, são da família *Poaceae*, que não foram encontradas no pólen apícola deste estudo, potencializando-o para uso alimentício.

As bebidas com alegações funcionais, elaboradas com ingredientes funcionais, mostram ser uma alternativa viável para que haja a disponibilidade de nutrientes, em que, outros ingredientes podem ser adicionados como base láctea, ou base de extratos hidrossolúveis, ou ainda com polpa de frutas, ou plantas medicinais que agreguem maior valor nutricional que saciem as necessidades dos consumidores por um alimento prático e saudável.

É importante avaliar o comportamento do consumidor frente a esses novos produtos, dessa forma, muitas metodologias sensoriais novas estão sendo desenvolvidas para que essa aceitabilidade seja estudada tanto por parâmetros afetivos como por parâmetros descritivos. Ao longo deste trabalho, metodologias com consumidores foram utilizadas.

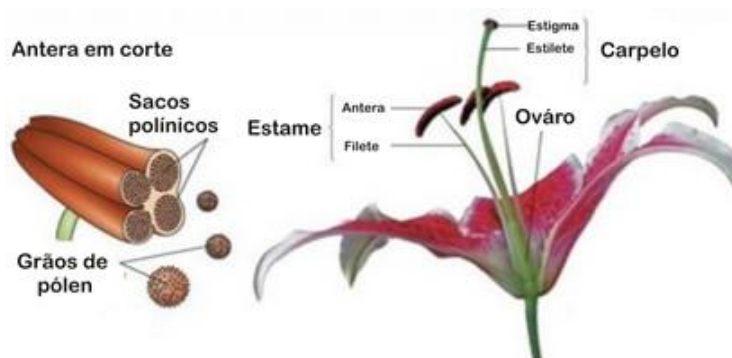
Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver uma bebida à base de pólen apícola, estudar suas propriedades antioxidantes e nutricionais e avaliar sensorialmente o produto por metodologias com consumidores. Além disso, identificar a melhor formulação em relação aos aspectos sensoriais e propriedades nutricionais e antioxidantes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Pólen apícola

O pólen das flores é indispensável para a reprodução das plantas visto que representa a sua estrutura reprodutiva masculina. São pequenos grânulos de dimensões microscópicas. Como pode ser visto na Figura 1, é produzido pelas anteras, localizadas no final extremo dos estames, órgão sexual masculino das flores (EPAGRI, 2017).

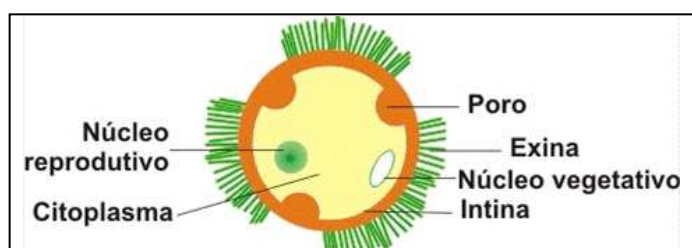
Figura 1 – Aparelho reprodutor das flores



Fonte: encurtador.com.br/acwLN

O pólen apícola tem uma estrutura resistente, devido à presença de uma parede externa (exina) e de uma parede interna (intina) (Figura 2). Para as abelhas, é um composto básico na alimentação (fonte de proteína, lipídeos e carboidratos) e produção da geleia real (Melo, 2015). As abelhas o coletam para a alimentação dos indivíduos adultos e das larvas, sendo de grande importância para elas, pois a ausência do pólen apícola pode levar ao extermínio da colônia (Pegoraro *et al.*, 2017).

Figura 2 – Estrutura de um grão de pólen apícola.



Fonte: <http://knoow.net/cienciterravida/biologia/graos-de-polen/>

Segundo o Regulamento Técnico de Qualidade e Identidade do Pólen Apícola, o pólen é “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).

Uma abelha para formar um grão de pólen apícola, chega a visitar oitenta flores diferentes. Para que haja a identificação de quais flores foram visitadas, faz-se a análise polínica dos grãos. Esta serve para determinar também a origem botânica e geográfica do pólen e se é monofloral (quando o tipo morfológico do pólen se apresenta acima de 45%) (Modro, 2011). Essa análise é realizada por acetólise, onde os grãos são analisados e, no mínimo, 500 grãos de pólen por amostra são calculados no processo de quantificação. A importância de conhecer a origem botânica se deve para determinar a qualidade do pólen e assim, obter vantagens comerciais (Santos, 1961; Martins, 2010).

O pólen apícola é considerado monofloral quando a contribuição botânica de uma mesma espécie for superior a 45% de acordo com Arruda *et al.* (2003). Dessa forma, as características do pólen se assemelham às propriedades sensoriais e bioquímicas da planta original. Ao contrário, se a abelha visita outras flores por conta da insuficiência de plantas políferas disponíveis, elas produzem pólen de diversas flores, obtendo o pólen heterofloral ou polifloral (suas propriedades bioquímicas são bem variadas) (Barreto, 2006; Sattler; Almeida-Muradian, 2016). Seis espécies da flora apícola se destacam no Nordeste brasileiro: marmeleiro (*Croton sonderianus*), angico-de-bezerro (*Pityrocarpa moniliformis*), Mofumbo (*Combretum leprosum*), sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*), jetirana (*Ipomoea bahiensis*), bamburral (*Mesosphaerum suaveolens*) e unha-de-gato preta (*Albizia viridiflora*) (Sinimu, 2017).

A origem do pólen apícola revela sobre seu conteúdo nutricional, e a principal dificuldade parece ser a grande variação desses componentes nutricionais, especialmente quando se refere a estudos que objetivam incluir o pólen em dietas mais ricas em compostos bioativos e mesmo mais ricos em proteínas (Pires, 2006). Estudos mostram que a quantidade de proteína do pólen pode chegar a mais de 20%, se tornando assim, uma excelente fonte proteica (Martins, 2010; Nogueira, 2012; Joy *et al.*, 2013).

A produção comercial brasileira do pólen apícola ainda é modesta, principalmente, porque as técnicas de manejo estão em desenvolvimento, visto que a eficiência do coletor de pólen causa impacto na aquisição do mesmo (Martins, 2010). Nas novas técnicas, a coleta passa de 100g para 500g por colmeia, um aumento de cinco vezes na produção. É considerada uma produção demorada, já que para produzir cem

gramas de pólen, uma abelha trabalha cerca de oito horas diárias, durante um mês (Sebrae, 2015; Sebrae, 2017). Para o produtor, o pólen é uma alternativa de aumentar seu rendimento, pois além de ter baixo investimento, já que é uma atividade derivada da produção do mel, o conteúdo de proteína da matéria-prima pode variar de 7 a 35%, sendo considerada de alto valor agregado, proporcionando rendimentos substanciais (Sebrae, 2015; Milfont; Freitas; Alves, 2011).

No Nordeste, os principais estados representantes da produção de pólen são Piauí, Bahia e Alagoas. No Piauí, tem sido produzido pólen considerado de alto valor comercial, por ser uniforme e rico em vitaminas. Na Bahia, a produção vem se intensificando com o apoio do Sebrae no sul do Estado (Agência Sebrae, 2014). O estado de Alagoas, que já se destacava com a produção do mel, em 2010 se organizou e iniciou a produção do pólen com o quantitativo de 1000 Kg por mês e Sergipe chega a produzir atualmente, cerca de 300 Kg por mês com o apoio de agências de desenvolvimento regional (CODEVASF, 2017). No Ceará, alguns municípios produzem mais de 200 toneladas de mel, no semiárido, com representação total de mais de 7 mil apicultores, portanto é uma área promissora, em processo de crescimento contínuo, ingressando na atividade com auxílio de consultorias, principalmente no Sebrae, aprendendo as principais técnicas para ampliação da produção. No Trairí, alguns apiários em torno de 100kg são produzidos por mês. No mundo, a produção de pólen é liderada pela Espanha, cerca de 500 toneladas por ano, seguida da China, Austrália e Argentina (FNAP, 2010).

2.2 Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola

A sua classificação se dá segundo o teor de umidade, pois, se for coletado em sua forma original, é classificado como pólen apícola e, caso seja desidratado em estufa a temperaturas menores que 42°C e estiver com teor de umidade menor que 4%, é classificado como pólen apícola desidratado. Quanto às características sensoriais deverão apresentar cor, aroma e sabor característico a tons florais (Brasil, 2001). O Brasil ter uma legislação voltada para a apicultura demonstra interesse em regulamentar os produtos oriundos dessa atividade, em busca da qualidade e principalmente para atender as exigências de países importadores. Vários países já dispõem de normas técnicas voltadas ao setor apícola, como é o caso de Argentina, Chile, Uruguai e países da União Europeia (Almeida-Muradian, 2009).

Para o pólen fresco, os requisitos existentes se limitam a teor de umidade até 30%, pH 4,0 a 6,0 e acidez livre máximo de 300 mEq/Kg. A legislação preconiza os requisitos físico-químicos abaixo para pólen apícola desidratado (Tabela 1):

Tabela 1 – Requisitos Físico-Químicos da Legislação Brasileira para pólen apícola desidratado.

Requisitos Físico-químicos	Pólen Apícola Desidratado (base seca)
Umidade	máximo 4%
Cinzas	máximo de 4%; m/m
Lipídios	mínimo de 1,8%; m/m
Proteínas	mínimo 8%; m/m
Açúcares totais	14,5 a 55,0 %; m/m
Fibras brutas	mínimo 2%; m/m
Acidez livre	máximo 300 mEq/Kg
pH	4,0 a 6,0
Flavonoides	Presença

Fonte: BRASIL, 2001.

Além dos parâmetros físico-químicos, o produto não poderá conter substâncias estranhas, de qualquer natureza nem contaminantes presentes em quantidades superiores às recomendadas por regulamentos específicos. Sobre os parâmetros microbiológicos, a legislação estabelece que deva ser realizada determinação de coliformes fecais, Salmonela, Bactérias e leveduras.

2.3 Características e benefícios do Pólen Apícola

A composição dos produtos apícolas, e qualidade deles dependem muito das características das plantas visitadas pela *Apis mellifera*. Portanto, varia em função da flora visitada pelas abelhas, época de colheita, condições climáticas, métodos de extração, condições de secagem, temperatura e tempo de armazenamento (Menezes, 2009; Estevinho *et al.*, 2012). A produção de pólen de um apiário sofre influência do meio ambiente de tal forma que dificilmente haverá uma semelhança entre o conteúdo

de pólen apícola de dois apiários com distâncias superiores a quatro quilômetros (Milfont; Freitas; Alves, 2011).

O pólen é considerado um alimento nutritivo, contém carboidratos, proteínas, aminoácidos essenciais, lipídios, vitaminas, minerais e compostos bioativos como carotenoides, flavonoides e fitoesteróis (Menezes, 2009). Segundo Cabral (2008), o pólen possui atividade antimicrobiana e antioxidante, e pela presença significativa de ácido fítico pode evitar o desenvolvimento de câncer de colo do útero e proteger contra várias doenças inflamatórias.

O teor de carboidratos evidenciado em estudo de Melo (2015) resultou em 81,45%, portanto é um produto que oferece valor calórico expressivo, e de acordo com Amâncio (2014) a média de fornecimento é de $381,7\text{Kcal} \pm 14,69$ a cada 100g de pólen. Marchini *et al.* (2006) encontrou teores menores de carboidratos variando de 12,6 a 26,6%.

Tabela 2 – Composição química média de 100g de pólen.

Componentes	%
Proteínas	10 a 33
Lipídeos	1 a 14
Carboidratos	20 a 40
Açúcares redutores	24 a 36
Açúcares não redutores	2 a 4
Fibras	3 a 5
Sais minerais	2,5 a 3,5
Aminoácidos livres	10 a 13
pH	4,5 a 5,2

Fonte: Milfont, Freitas e Alves (2011).

O teor de proteínas corresponde aproximadamente, de 15 a 30%, mas pode ter variações para valores menores. Melo (2015) encontrou 12,5% de proteínas em pólen desidratado da região do semiárido Potiguar (Rio Grande do Norte, Brasil), enquanto Marchini *et al.* (2006) encontrou 21,5% de proteína em pólen de abelhas africanizadas em São Paulo, Brasil. De 10 a 13% da sua composição proteica, mostra-se sob a forma de aminoácidos livres (em torno de 15 a 19 aminoácidos), incluindo todos os aminoácidos essenciais. Essa quantidade elevada de proteína é justificada devido ao

fato de que se, o pólen apresentar menos de 20% de proteína bruta, as colônias correm o risco de não se desenvolverem bem e terem sua produção prejudicada (Amâncio, 2014).

Possui ainda 20 a 40% de açúcar total, 20 a 26% de açúcar redutor. As fibras correspondem de 3 a 5%. Outros componentes menores presentes no pólen são os minerais e os oligoelementos, compostos fenólicos, esteróis, flavonoides e terpenos. Dentre as vitaminas, possuem aquelas com propriedades antioxidantes (β -caroteno como provitamina A, vitaminas C e E), vitamina D e do complexo B (Almeida-Muradian, 2009).

Tabela 3 – Fração média de cada vitamina na porção vitamínica do pólen apícola.

Componentes	mg/Kg	%
Biotina	-	0,19 a 0,73
Colina	690	-
Vitamina A	50	-
Vitamina B1 (Tiamina)	10	11 a 11,6
Vitamina B2 (Riboflavina)	10	4,7 a 17,1
Vitamina B3 (Niacina)	20	37,4 a 107,7
Vitamina B5 (Ácido pantotênico)	120	3,8 a 28,7
Vitamina B6 (Piridoxina)	5	2,8 a 9,7
Vitamina B7 (Inositol)	-	3,0 a 31,3
Vitamina B9 (Ácido fólico)	-	3,4 a 6,8
Vitamina C	80	-
Vitamina D	-	0,2 a 0,6
Vitamina E	100	0,1 a 0,3
Vitamina P (Bioflavonoides)	50	-

Fonte: http://propolis-sana.com/portugais/pt_polen.htm.

Os minerais predominantes encontrados por Carpes (2008) no pólen foram fósforo, potássio, cálcio e magnésio. Já Bogdanov (2012) verificou que potássio, magnésio, cálcio, manganês e ferro variaram mais entre os pólenes de diversas regiões e que a quantidade de zinco e cobre foram mais constantes.

O fósforo tem sido confirmado como o mineral predominante no pólen apícola, tendo funções de atuar juntamente com o cálcio na formação de ossos e dentes; se ligam a fosfolipídios para atuar na formação da parede celular; ativa as vitaminas do

complexo B, além de participar na transmissão de impulsos nervosos do cérebro para o corpo (Melo, 2015).

O cálcio tem importante função para a saúde óssea, funcionamento do músculo cardíaco, transmissão de impulsos nervosos, mas em quantidades corretas. A superdose de cálcio pode causar retenção de pedra nos rins e causar o efeito contrário, o enfraquecimento dos ossos. Em estudo realizado por Hamamoto *et al.* (2006) com extrato de pólen, verificaram que houve um efeito positivo da fração hidrossolúvel na formação óssea *in vitro*. Quando realizada a administração oral desse extrato em ratos, aumentou o teor de cálcio, fortificando os ossos o que pode sugerir a prevenção à osteoporose.

Alguns estudos têm demonstrado que há relação positiva entre uma dieta rica em potássio e saúde óssea, principalmente, entre as mulheres idosas, indicando que a ingestão dietética de alimentos ricos em potássio contribuiria para a redução da osteoporose (Morais; Burgos, 2007).

O magnésio é muito encontrado em grãos, sementes, participa na síntese de algumas enzimas essenciais (todas as que necessitam de vitamina B1), para o equilíbrio do cálcio, potássio e sódio, sendo necessário para a atividade hormonal (Soares *et al.* 2015).

Tabela 4 – Composição dos minerais do pólen apícola.

Componentes	%
Potássio	20 a 45
Magnésio	1 a 12
Cálcio	1 a 15
Cobre	0,05 a 0,08
Ferro	0,01 a 0,03
Silício	2 a 10
Fósforo	1 a 20
Cloro	0,8
Manganês	1,4

Fonte: http://propolis-sana.com/portugais/pt_polen.htm.

2.3.1 Teor proteico e perfil de aminoácidos

Para as abelhas a importância da proteína está relacionada com a nutrição da colmeia, visto que durante os primeiros dias de vida adulta (cinco/seis), grande quantidade de proteína e aminoácidos é consumida a fim de garantir seu crescimento e bom desenvolvimento. Para as abelhas jovens, a falta do pólen pode reduzir o desenvolvimento de órgãos prejudicando a produção da geleia real (Negrão, 2014).

Estudos realizados sugerem que há uma correlação positiva entre a preferência pelo pólen que é mais rico nos aminoácidos essenciais com a hipótese de que as abelhas preferem o pólen com a maior qualidade nutricional disponível. Apesar disso, outros atributos podem influenciar no comportamento delas, como por exemplo, a cor e o odor do pólen (Cook *et al.*, 2003).

Altos teores de proteína contribuem fortemente para o crescimento e desenvolvimento das colônias, porém a qualidade do pólen pode ser reduzida se o teor de aminoácidos essenciais estiver abaixo do esperado. Portanto, pode-se afirmar que o perfil de aminoácidos do pólen tem maior relevância do que apenas a quantidade de proteínas. A origem botânica também irá afetar a composição de aminoácidos, e o pólen é considerado de maior valor nutricional, o que tiver maiores quantidades de aminoácidos essenciais (Negrão, 2014).

Para o ser humano, a proteína tem importância não apenas pela quantidade a ser ingerida, mas também pela qualidade representada, pelo seu valor nutricional que está diretamente relacionado com a sua composição de aminoácidos essenciais, digestibilidade e biodisponibilidade e fatores antinutricionais (Pires, 2006). Portanto, a qualidade da proteína se destaca pela capacidade de satisfazer as necessidades nutricionais do ser humano, levando em consideração os aminoácidos essenciais e nitrogênio não essencial, para a finalidade de síntese proteica.

Segundo a ANVISA, um alimento pode ser considerado fonte de proteínas caso ele possua o mínimo de 5 gramas de proteína por porção (200mL para bebidas). Além disso, os aminoácidos essenciais devem seguir a recomendação do próprio órgão. Portanto, as proteínas utilizadas para enriquecer alimentos devem ser de boa qualidade e não somente por ter atestada a quantidade exigida (Brasil, 2020; ASBRAN, 2012). De acordo com a RDC nº 75/2020, um alimento é considerado de “alto conteúdo” proteico, caso contenha no mínimo 10g de proteínas por porção, e “fonte” de proteínas

se tiver no mínimo 5g de proteínas por porção, além de atender as quantidades de aminoácidos essenciais estabelecidas.

Dentre os aminoácidos essenciais (aqueles que o organismo humano não consegue sintetizar) estão a leucina, isoleucina, valina, triptofano, metionina, fenilalanina, treonina e lisina (a histidina é um aminoácido essencial na infância). E, representando os aminoácidos não-essenciais estão a alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, cistina, cisteína, glicina, glutamina, hidroxiprolina, prolina, serina e tirosina (Pires, 2006).

Taha, Al-Kahtani e Taha (2019) realizaram estudos relacionados com o perfil de aminoácidos do pólen da Arábia Saudita, e verificaram maiores valores para o aminoácido essencial leucina, em todas as fontes florais analisadas, seguida de valina, lisina e isoleucina. O triptofano e a metionina, foram as que representaram menores quantidades de aminoácidos essenciais. Dentre os aminoácidos não essenciais, os maiores percentuais se concentraram no ácido glutâmico, seguido da glicina e alanina, enquanto a cisteína foi o menor representante.

Tabela 5 – Composição de aminoácidos essenciais do pólen apícola.

Componentes	%	Padrão FAO (mg/g de proteína)
Histidina	2,0 a 3,5%	19
Isoleucina	4,5 a 5,8%	28
Leucina	6,7 a 7,5%	66
Lisina	5,9 a 7,0%	58
Metionina	1,7 a 2,4%	25
Fenilalanina	3,7 a 4,4%	63
Triptofano	1,2 a 1,6%	11
Treonina	2,3 a 4%	34
Valina	5, 8 a 6,0%	35

Fonte: http://propolis-sana.com/portugais/pt_polen.htm.

Em estudo realizado por Cook *et al.* (2003) os aminoácidos essenciais encontrados foram tirosina, leucina, valina e isoleucina dentre dezoito aminoácidos investigados em pólen de origem do feijão e oleaginosa colza, evidenciando pouca diferença entre as quantidades de compostos das duas origens botânicas, destacou-se a

tirosina em maior quantidade. Observou-se que os aminoácidos encontrados justificam a preferência das abelhas em visitar a flora botânica do feijão ao invés de colza, a procura de mais qualidade de pólen.

Todos os aminoácidos essenciais foram identificados em pólen apícola originado da África do Sul, em estudo realizado por Human e Nicolson (2006), em que a leucina se apresentou em maior número (6,32g/100g de proteína) e o triptofano em menor quantidade (0,17g/100g de proteína). Nesse mesmo estudo, obteve-se na composição centesimal 28% de proteína, portanto um pólen de nível nutricional considerado alto.

2.4 Compostos bioativos do Pólen Apícola

Além dos componentes citados, o pólen possui compostos antioxidantes que são responsáveis por ação anti-inflamatória, antioxidante e antibactericida. Os compostos bioativos vêm ganhando destaque por serem considerados promotores benéficos à saúde (Martins, 2010; Carpes, 2008; LeBlanc, 2009). Estudos *in vitro* e *in vivo* em animais tentam esclarecer os mecanismos pelos quais compostos bioativos não nutrientes, presentes nos alimentos, atuam na conservação da saúde e na diminuição do risco de doenças (Bastos *et al.*, 2009). Essas doenças muitas vezes podem ser ativadas por radicais livres pelo oxigênio, como o câncer e as doenças coronarianas. Os radicais livres atacam as células e biomoléculas, dentre elas, os lipídios, as proteínas e o próprio DNA, e os compostos bioativos podem preservar as células e impedir o ataque, que pode ocorrer naturalmente, a qualquer momento, por isso, é importante manter o consumo usual de frutas, verduras e grãos que promovam essa proteção ao organismo (Serafini, 2013; Li *et al.*, 2018).

Alguns benefícios estudados que o pólen oferece estão relacionados com prevenção de problemas da próstata, como o uso do Cernilton® (extrato de pólen apícola) em homens que teria um efeito benéfico na hiperplasia benigna da próstata. Outros estudos sugerem efeitos bactericida e bacteriostático, além de proteção contra os efeitos colaterais de pessoas expostas à tratamentos com uso de radiação e atividade benéfica relativa à aterosclerose (Buck *et al.*, 1990; Wagenlehener *et al.*, 2009; Arruda *et al.*, 2013a).

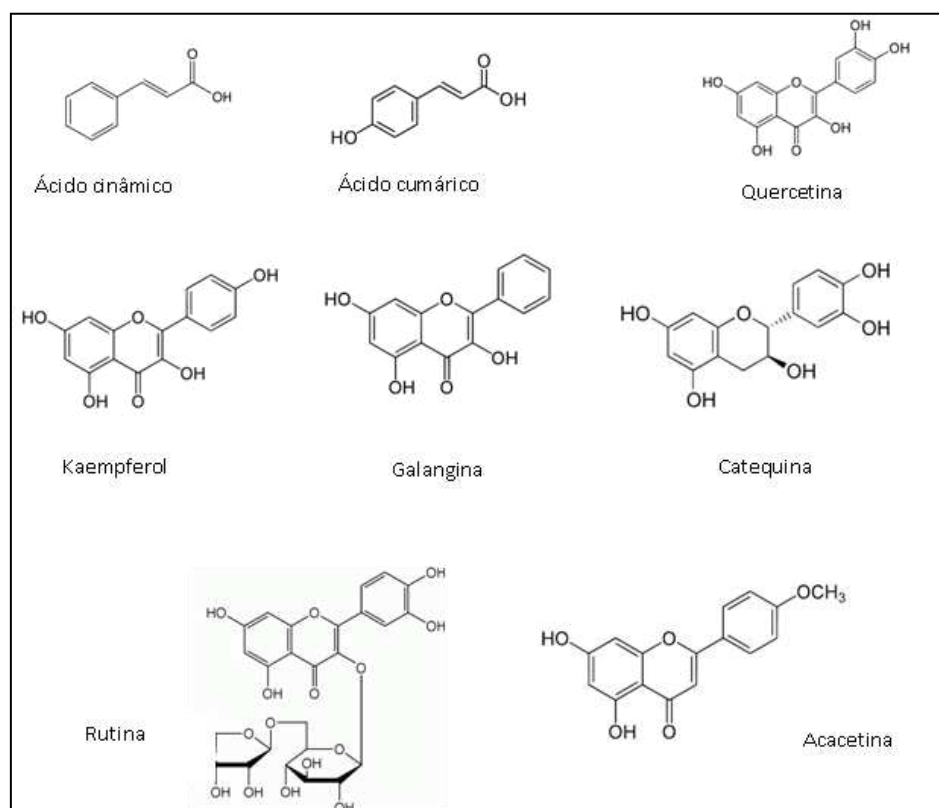
Os principais responsáveis pela atividade antioxidante do pólen são os compostos fenólicos, em que a quercetina e os derivados do ácido cinâmico seriam os

mais efetivos. Pertencem a uma classe de componentes que possuem diversas estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel benzeno em que ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (Cunha, 2010).

Os flavonoides, derivados dos compostos fenólicos, representam o grupo mais importante. Possuem dois anéis aromáticos em uma cadeia heterocíclica de quinze carbonos ligados através de uma ponte de três carbonos. Em todo o reino vegetal, são os mais numerosos compostos fenólicos encontrados. No pólen, se localizam principalmente, na parede superficial para a proteção do protoplasma contra radiação solar e outros agentes ambientais (químicos e microbiológicos) (Amâncio, 2014).

Serra Bonvehi *et al.* (2001) verificaram que os flavonoides mais encontrados nos produtos apícolas são miricetina, quercetina, kaempferol, galangina, catequina, rutina, acetina e flavonas (Figura 3). Martins (2010) observou a presença de quercetina, isoramnetina e miricetina para pólen do estado da Bahia; quercetina, isoramnetina e kanferol para amostra de São Paulo e quercetina, miricetina e kanferol para amostras de Santa Catarina.

Figura 3 – Alguns flavonoides geralmente encontrados em produtos apícolas



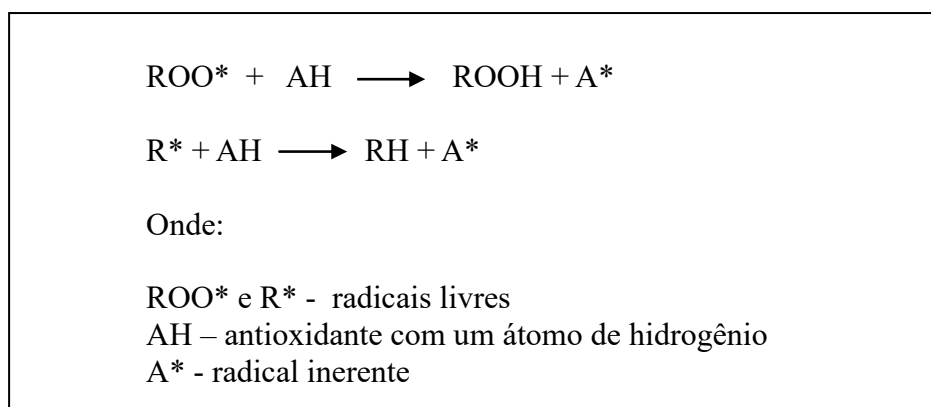
Fonte: Carpes (2008).

O extrato de pólen tem um composto ativo chamado ácido hidroxâmico, ficou associado com a diminuição da próstata, alívio na frequência urinária. Muitas propriedades têm sido relatadas e atribuídas para a rutina, incluindo antialérgica, antiinflamatória, antitumoral, antibacteriano, propriedades antiplaquetárias, antiespasmódico, antivirais, antiúlcera, antidiarreico, vasodilatador, citoprotetora, antihipertensivo, antimutagênica e proteção contra o estresse nitrosativo e lesão hepatocelular (Oliveira, 2015).

A ação dos compostos fenólicos é sequestrante de radicais livres, inibindo a cadeia de iniciação ou evitando a propagação da cadeia de radicais livres, e ainda agir como quelantes de íons metálicos que catalisam reações de oxidação (Amâncio, 2014).

Na Figura 4, o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres, R^* e ROO^* mais facilmente, do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Dessa forma, desenvolvem-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A^*), procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado fica incapaz de iniciar ou propagar reações oxidativas (Os Antioxidantes, 2009).

Figura 4 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários



Fonte: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>

2.5 Antioxidantes

Segundo a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, substância antioxidante é aquela caracterizada por retardar o aparecimento de alteração oxidativa no alimento (BRASIL, 1961). Os antioxidantes podem ser sintéticos, que são amplamente utilizados pelas indústrias alimentícias, ou naturais, que fazem parte da constituição de diversos alimentos. Os antirancificantes atuam no retardamento e

neutralização de sabores e odores desagradáveis (rancificação), que tornam os alimentos impróprios para consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, mas também a integridade e segurança dos alimentos (Os Antioxidantes, 2009).

2.5.1 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes e antirancificantes são comumente utilizados na indústria de alimentos, principalmente em produtos ricos em óleos e gorduras, visto que estes produtos oxidam e rancificam facilmente. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são o BHA, BHT, PG e TBHQ. O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos funcionais têm sido amplamente estudados (Ramalho; Jorge, 2006).

Vários estudos apontam que o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto à sua inocuidade por apresentarem possíveis efeitos tóxicos e mutagênicos (Nobuyoki, 2003; Sasse, Colindres e Brewer, 2009). Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de estes antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico (potencial cancerígeno), em experimentos com animais. Em outros estudos, o BHA mostrou induzir hiperplasia gastrointestinal em roedores por um mecanismo desconhecido (Pitaro; Jorge; Fiorani, 2012).

Tendo em vista, os possíveis impactos negativos causados à saúde humana, a partir do consumo de antioxidantes sintéticos, pesquisas têm sido realizadas para identificar produtos naturais com propriedades antioxidantes e antirancificantes, visando substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com a finalidade de minimizar os efeitos negativos dos antioxidantes sintéticos.

2.5.2 Antioxidantes naturais

Assim como os antioxidantes sintéticos, os antioxidantes naturais atuam na neutralização de radicais livres e ação no bloqueio de oxidação. A diferença, é que eles estão em vegetais e frutas que são ricos em vitaminas e compostos fenólicos, sendo estes os principais representantes dos antioxidantes naturais de origem vegetal (Del Ré, Jorge, 2012).

Ainda, tem-se a categoria de antioxidantes mistos, que são constituídos por uma mistura de compostos oriundos de plantas e animais, tendo destaque para flavonoides e derivados do ácido cinâmico, como é o caso do pólen apícola (Ramalho, Jorge, 2006).

Broinizi *et al.* (2007) identificaram a atividade antioxidante nos extratos e nas frações dos subprodutos do caju (bagaço e Extrato Bruto Concentrado-EBC) por meio de três diferentes métodos utilizados. As frações Ácidos Fenólicos Livres-AFL e esterificadas (Ácidos Fenólicos Solúveis-AFS e Insolúveis-AFI) do bagaço e do EBC do pedúnculo de caju, demonstraram atividade antioxidante superior aos extratos (Extrato Aquoso e Extrato Alcolico) e ao BHT.

Andrade (2013) estudou a farinha do bagaço do caju proveniente de uma indústria processadora de polpa congelada de fruta, e os resultados mostraram que os resíduos são fonte de compostos bioativos, com acentuado potencial antioxidante a ser empregado em alimentos com a finalidade de deter a oxidação lipídica, podendo substituir parcialmente ou totalmente os antioxidantes sintéticos.

Engler (2013) avaliou a qualidade oxidativa de margarinas adicionadas de extratos de noz-pecã e alecrim, e verificou em seu estudo uma tendência na redução da p-anisidina (composto formado durante a oxidação lipídica) e não houve diferença significativa entre a ação dos extratos utilizados, concluindo que os mesmos podem ser utilizados como um antioxidante natural, ou seja, como um aditivo.

Del Ré e Jorge (2012) revisaram estudos em que especiarias foram observadas como antioxidantes naturais e verificaram que o alecrim tem sido exaustivamente, pesquisado como um elevado potencial antioxidante, devido a presença de compostos fenólicos, terpenos e flavonoides. Internacionalmente, os compostos antioxidantes do alecrim são reconhecidos como “Rosemary”, uma menção aos seus compostos ácido rosmarínico e rosmanol, e já são comercialmente vendidos.

Serafini (2013) estudou a aplicação de extrato de pólen e majerona em hambúrgueres. Os tratamentos com extrato de manjerona e pólen mostraram-se efetivos como agentes inibidores da oxidação lipídica em hambúrguer, evidenciando maior proteção oxidativa e demonstrando sua eficiência antioxidante.

Zuluaga *et al.* (2016) estudaram os efeitos do tratamento de alta pressão na extração de compostos bioativos do pólen apícola para suco de abacaxi. Os resultados mostraram um efeito positivo na contribuição de compostos bioativos que o suco de

fruta em si não contém, ou seja, o pólen apícola pode ser considerado um aditivo natural que melhora as características funcionais do produto.

2.6 Produtos desenvolvidos com Pólen Apícola

Além de sua utilidade como suplemento alimentício, o pólen é usado em outros setores, seja na farmacologia, onde é utilizado como ingrediente em produtos apífito-aromáticos (encapsulados, tinturas, óleos essenciais); na cosmética: para filtros solares, cremes, máscaras, batons, sabonetes, xampus; na área alimentícia: barras de cereais, chocolates, bolachas, saladas, pastas; e na atividade apícola como alimento para as abelhas em período de estiagem; também no monitoramento da poluição ambiental (Féas *et al.*, 2012 e Barreto *et al.*, 2011).

Silva *et al.* (2009) elaboraram e caracterizaram um biscoito com pólen, com o objetivo de enriquecimento proteico, e os resultados indicaram teor de proteínas de 1,12 g/100g, e a aceitação do produto foi considerada boa, com percentual de 87% na zona de aceitação para sabor.

Foi elaborada uma bebida láctea de bacuri com pólen por Silva *et al.* (2010) a fim de acrescentar ao produto um elevado valor proteico e constatar esse enriquecimento. Foram testadas formulações com 2% e 4% de pólen, e obteve-se 0,76% e 1,25% de proteína em cada uma das bebidas, respectivamente, indicando que a quantidade de pólen tem relação direta com o teor de proteínas do produto. As bebidas obtiveram boa aceitação sensorial.

Pegoraro (2011) estudou tanto o potencial antioxidante quanto o teor de proteínas em iogurte acrescido de geleia de amora preta e pólen apícola, evidenciando resultados positivos para a formulação com 0,8% de pólen e obtendo resultados sensoriais próximos à rejeição quando oferecidos ao provador produto com 1% de pólen apícola. Os resultados indicaram que o provador percebeu a quantidade de pólen adicionada, e por sua vez, interferiu no sabor do produto.

Pinheiro *et al.* (2012) utilizou pólen de abelhas sem ferrão *Melipona flavolineata* e *Melipona fasciculata* na elaboração de bebida à base de pólen e mel e avaliou sensorialmente o produto. O teor de proteína do pólen variou de 17 a 23%, porém não foi realizada a análise do teor de proteínas das bebidas. Quanto à aceitação sensorial, a maioria dos provadores disse “gostar muito” da bebida.

A possibilidade de fortificar biscoitos com pólen de abelha foi estudada por Krystyjan *et al.* (2015). Com base nos dados obtidos, concluiu-se que a adição de pólen de abelha não afetou o teor de gordura em biscoitos. No entanto, teve um efeito estatisticamente significativo no aumento em conteúdo de açúcar, proteína, cinza, fibra e polifenóis, bem como, o potencial antioxidante do produto final. No entanto, apenas os biscoitos com adição de 5% do pólen teve boa aceitação sensorial, se comparado com o biscoito controle (sem pólen).

Justino e Portela (2015) desenvolveram iogurte de acerola com pólen apícola e bactérias probióticas, e avaliaram a aceitação sensorial do produto com formulações que variavam de 0% a 2% de quantidade acrescida de pólen, obtendo bons resultados junto aos consumidores, com notas próximas a “gostei moderadamente” da escala hedônica.

Nascimento (2015) elaborou barras de cereais com pólen, gergelim e mel, e avaliou o potencial antioxidante. O pólen e o gergelim contribuíram para o aumento do teor de proteína das barras, que variou de 10,88g/100g de barra (com cobertura de chocolate) e 16,88g/100g de barra (sem cobertura de chocolate). Quanto ao potencial antioxidante, esse se mostrou satisfatório em relação a atividade de proteção pelo método DPPH.

Lopes (2016) desenvolveu barras de cereais utilizando pólen apícola, com formulações de 5% e 10%. Dentre os ingredientes se encontravam: aveia em flocos, flocos de arroz, farinha de aveia, granola, xarope de glucose, açúcar mascavo. As barras foram consideradas *light*, por apresentarem baixos teores de gordura, e quanto maior a quantidade de pólen adicionado, maior o teor de proteína das barras, variando entre 13,05% para a formulação com 5% de pólen e 21,17% para a formulação com 10% de pólen.

Silva *et al.* (2016) testaram sucos integrais com adição de diversas fontes proteicas, dentre elas, o pólen apícola para aumentar o valor funcional e proteico dos concentrados de polpa. O projeto está em andamento, protegido por patente.

Pães foram enriquecidos com pólen por Conte *et al.* (2018), e os resultados mostraram que alguns fatores tecnológicos foram afetados positivamente pela presença do pólen, como volume, crosta, cor e estrutura do miolo, e eram mais macios que o pão controle (sem pólen). A aceitabilidade geral de pães sem glúten fortificados com pólen de abelha entre 3% e 5% foi maior do que para o controle.

Nota-se que poucos estudos estão relacionados à elaboração de bebidas originadas somente do pólen. É interessante que outras formas de consumo do pólen possam ser oferecidas ao mercado de produtos naturais e ricos em nutrientes, facilitando o seu acesso.

2.7 Ingredientes envolvidos na pesquisa

2.7.1 Leite de coco

O Brasil é o quinto maior produtor mundial de coco, concentrando seus produtos em coco ralado, leite de coco e água de coco. Indonésia, Filipinas e Índia lideram a produção mundial, responsáveis por 74,1%, e se dedicam à produção de óleo e farinha de coco. O coqueiro é cultivado em quase todo o Brasil, cuja área em 2020 era de 187,5 mil hectares com produção de 1,6 bilhão de frutos (Brainer, 2021a). O Nordeste contribui com 80,9% da área colhida de coco no país, exportando principalmente água de coco e de setembro a janeiro de 2021, o faturamento foi US\$ 22,84 milhões. Mesmo com a pandemia, houve crescimento no setor, confirmando a tendência mundial por bebidas saudáveis (Brainer, 2021a).

Tabela 6 – Composição centesimal de leite de coco comercial brasileiro por 100 gramas de parte comestível

Componentes	Conteúdo
Umidade (%)	78,0
Proteína (g)	1,0
Lipídios	18,4
Carboidratos	2,2
Fibra Alimentar	0,7
Cinzas	0,4
Cálcio (mg)	6
Magnésio (mg)	17
Potássio (mg)	144

Fonte: TACO (2011).

Segundo a legislação, “leite de coco tradicional é a emulsão aquosa extraída do endosperma do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera*) por processos mecânicos adequados” (BRASIL, 1978). A denominação “leite de coco” está de acordo com a legislação vigente, pois se utiliza uma “denominação consagrada pelo uso” (Brasil, 2005).

O leite de coco é considerado um alimento saudável e que traz benefícios para a saúde, portanto o mercado continua aquecido e as perspectivas são positivas, com crescimento anual de 17,1%. Os consumidores estão dispostos a pagar por produtos que oferecem vantagens para a saúde, em que se espera que essa consciência promova um desenvolvimento maior de produtos à base de leite de coco (B, 2021a).

De acordo com a composição centesimal do leite de coco, observa-se que é rico em lipídios, o que traz preocupação com o consumo. Para tanto, pesquisadores tem realizado estudos em que a ingestão do leite de coco, não se relacionou com o aumento dos riscos de doenças cardiovasculares em camundongos, como no estudo de Chukwononso, Obioma e Ifeoma (2010) e no estudo de Ekanayaka *et al.* (2013), que não observaram impacto no perfil lipídico de indivíduos saudáveis quando consumiram regularmente um suplemento contendo leite de coco. Apesar da quantidade elevada de gordura saturada, ela é representada em sua maioria, pelo ácido láurico, ácido graxo de cadeia média. O que se sabe sobre suas características é que o ácido láurico é mais solúvel, portanto, é solubilizado na fase aquosa do conteúdo intestinal, sofrendo absorção mais rápida (Eyres *et al.*, 2016). Dessa forma, é rapidamente usado como energia e não são armazenados no tecido adiposo.

O leite de coco é rico em antioxidantes como a vitamina E, que ajuda a retardar o processo de envelhecimento e compostos fenólicos que proporcionam capacidade antioxidante. A sua ingestão tem pouca associação com reações alergênicas. Muitos estudos estão sendo realizados sobre o potencial biológicos de bebidas vegetais, dentre elas, o leite de coco, visto que a demanda por esse tipo de produto vem aumentando. Além disso, se comparados com a produção de leite de vaca, do ponto de vista ambiental, tem menor impacto (Tulashie *et al.*, 2022).

2.7.2 Cacau

O cacau é produzido a partir da semente do cacaueiro (*Theobroma cacao*), uma planta tropical, e antes de ser vendido no mercado, passa por processo de

fermentação e secagem. É de extrema importância para famílias de comunidades tradicionais, pois significa fonte de renda. É o fruto que dá origem a um alimento muito apreciado no mundo inteiro, o chocolate (Barišić *et al.*, 2023).

O Brasil é o sétimo produtor mundial de cacau, com predominância de produção na Região Norte (SENAR, 2018). Por muitos anos, a Bahia, foi o principal estado produtor de cacau, mas sofreu com uma doença “vassoura da bruxa”, que se espalhou afetando os frutos, os brotos e as flores dos cacaueiros (SENAR, 2018). Hoje, o Pará é o maior produtor nacional, com mais de 50% da produção nacional, com aproximadamente 150mil toneladas por ano (Brainer, 2021b).

Tabela 7 – Composição centesimal do cacau em pó

Componentes	Conteúdo
Umidade (%)	3,0
Proteína (%)	19,6
Lipídios (%)	13,7
Carboidratos	57,9
Fibra Alimentar	33,2
Cinzas	0,4
Cálcio (mg)	128
Magnésio (mg)	499
Potássio (mg)	1524

Fonte: USDA, 2012.

O cacau e seus derivados são amplamente consumidos em todo o mundo devido às suas características sensoriais altamente atrativas (Giacometti *et al.*, 2016). No estudo dos 50 alimentos com maior capacidade antioxidante, cinco eram à base de cacau (*et al.*, 2006). Dentre as formas de consumo de cacau, tem-se o chocolate como principal produto. Os produtos à base de cacau, que passam por menor processamento e que contenham de 50% e 70% de cacau, são os mais recomendados para o consumo diário pois possuem maior quantidade de polifenóis (Efraim; Alvez; Jardim, 2011).

Gil *et al.* (2021), revisou diversos estudos sobre o potencial funcional do cacau em diversas matrizes (barras de chocolate, cacau em pó, extrato de cacau) em que os resultados das intervenções em humanos, mostraram que a ingestão do cacau diminui o colesterol total no sangue, os triglicerídeos, combate a peroxidação lipídica, auxilia na

regulação da pressão arterial. Acredita-se que a presença de compostos fenólicos e flavonoides no cacau traz esses benefícios.

Smith (2013) realizou revisão de estudos com produtos derivados do cacau ricos em flavonol, como o chocolate amargo, com especial atenção aos seus potenciais benefícios na prevenção e tratamento de transtornos de humor. Alguns estudos evidenciaram que há ligação entre a ingestão de produtos derivados do cacau ricos em flavonoides, como o chocolate amargo, e a melhora do humor em seres humanos, enquanto estudos comportamentais em animais de laboratório relataram os efeitos antidepressivos dos flavonoides.

2.7.3 Adoçantes: *mel e açúcar demerara*

O mel é um produto biológico natural evoluído a partir do néctar de plantas que apresentam propriedades benéficas ao corpo humano, considerado tanto como medicamento quanto como alimento (Bogdanov *et al.*, 2008).

Na Tabela 8, estão sendo apresentadas as características físico-químicas de méis do Ceará, da região do Vale do Jaguaribe e os valores de referência da legislação brasileira.

Tabela 8 – Características físico-químicas de méis do Ceará

Componentes	Conteúdo	Valor de referência (BRASIL, 2001)
Umidade (%)	16,36 - 21,00	20%
Acidez (meq.kg ⁻¹)	14,81 - 118,41	50
pH	2,66- 3,67	Não obrigatório
Açúcares redutores (%)	Não analisado	Mín. 65%
Cinzas	0,02 - 2,67	0,6

Fonte: Santos (2009).

Segundo a legislação brasileira, mel é “o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia”

(Brasil, 2000). O mel é constituído de água (17 a 18%) e dois açúcares redutores (75 a 80%), glicose e frutose, sendo a frutose, por ter alta higroscopicidade, responsável pela doçura do mel (Gois *et al.*, 2013).

Muitos estudos têm destacado uma variedade de propriedades potencialmente funcionais dos méis (Alevia *et al.*, 2021; Molan, 1992; Seraglio *et al.*, 2017) atribuído principalmente a compostos fenólicos, ácidos orgânicos, aminoácidos e enzimas. Dentre essas propriedades, estão as antioxidantes, as antibacterianas e anti-inflamatórias.

Segundo Tomczyk, Zagula e Dzugan (2020), o uso do mel na indústria tem sido limitado por conta do seu aspecto pegajoso, que causa problemas de distribuição, possibilidade de fermentação e ocorrência de processo natural de cristalização. Uma alternativa seria secar o mel e alguns méis em pó estão sendo utilizados pela indústria, mas em pouca escala. Por conta dessas limitações, o uso do mel é bastante realizado pelos consumidores de forma caseira.

O mel é cada vez mais utilizado como substituto do açúcar em doces, confeitaria e produtos de panificação, sendo também adicionado a diversos alimentos, como salsichas, hambúrgueres de carne, peixes, frutas e vegetais, a fim de prolongar sua vida útil, e/ou para melhorar suas propriedades bioativas, e até mesmo tendo o consumo associado a efeitos fisiológicos positivos em relação a diminuição de níveis de colesterol, redução da glicose em jejum e aumento do HDL (colesterol “bom”) (Tomczyk; Zagula; Dzugan, 2020; Ahmed *et al.*, 2022).

O açúcar demerara se origina do suco da cana de açúcar e tem como características cristais maiores e mais úmidos, transparentes e coloração com tons mais escuros, se comparado com o açúcar cristal ou refinado (LANUTRI, 2014). Pode apresentar sabor semelhante ao de caramelo e é muito utilizado em preparações por ser considerado mais “saúdável”, por possuir minerais como magnésio, cálcio e fósforo, consequência de não ter sofrido tantos processos de refinamento e não ter aditivos químicos (SESI, 2021). Porém, seu uso deve ser comedido, pois possui médio índice glicêmico, entre 56 e 69, devendo ser evitado por diabéticos (LANUTRI, 2014).

Em estudo realizado por Damasceno *et al.* (2017), em que foi analisado o potencial nutricional em açúcares comerciais (refinado, coco, demerara, cristal e mascavo), concluiu-se o açúcar mais indicado para o consumo seria o açúcar demerara por apresentar “maior capacidade antioxidante, maiores quantidades de cálcio e baixa

capacidade de intoxicação”, em ratos submetidos a dieta com os tipos de açúcares estudados.

2.8 Bebidas com alegações funcionais

O principal foco da indústria alimentar atualmente tem sido desenvolvimento e produção de alimentos funcionais. Os consumidores reconhecem a importância da correlação entre dieta e saúde para proteger seu bem-estar geral. Além disso, são conscientes que, ter um estilo de vida agitado, alto consumo de alimentos prontos e falta de exercícios são fatores que podem afetar sua saúde, contribuindo para a procura de alimentos funcionais (Food Connection, 2022).

A tendência “de volta ao básico”, traz consigo a perspectiva que os consumidores desejam a disponibilidade de produtos mais naturais e até querem pagar mais caro por eles. Produtos mais simples, minimalistas, artesanais, locais, aqueles minimamente processados trouxe uma valorização dos ingredientes regionais (Euromonitor, 2019).

As bebidas caseiras baseadas apenas em componentes naturais têm sido amplamente utilizadas, inclusive, a internet está repleta de receitas diversas de como preparar em casa bebidas com sabores diversos, em que o consumidor sabe que aquela preparação não tem aditivos em demasiado (Tomczyk; Zagula; Dzugan, 2020). A indústria de alimentos deve se preparar para alcançar esses consumidores que requerem esse tipo de produto, o mais natural possível.

Está em uma crescente o mercado de bebidas funcionais, que se concentra em atingir grupos populacionais distintos, como crianças, idosos, esportista, tentando atender a demanda de cada um. Uma bebida funcional é aquela que fornece um benefício específico para a saúde além da simples hidratação. Normalmente contém ingredientes adicionados, como vitaminas, minerais, ervas ou outros bioativos compostos, com um objetivo específico ou melhorar a saúde (Gupta *et al.*, 2023).

Os ingredientes bioativos tornam as bebidas funcionais mais atraentes. Compostos fenólicos, fibras alimentares, prebióticos, proteínas, ácidos graxos insaturados, minerais e vitaminas são os principais ingredientes utilizados para o desenvolvimento de bebidas funcionais (Raman *et al.*, 2019). Esses compostos bioativos são provenientes de vegetais, especiarias, animais, frutos do mar e microrganismos (Manousi *et al.*, 2019).

As bebidas funcionais frequentemente contêm uma variedade de compostos fenólicos e outros componentes. Flavonoides, compostos fenólicos, taninos, e outros fenóis são mais abundante e extensivamente pesquisados. Especificamente, os compostos preferidos são quercetina, kaempferol, miricetina, isorhamnetina, rutina. Dentre os ácidos fenólicos prevalentes usados como compostos funcionais são: ácido hidroxicinâmico, ácidos hidroxibenzóicos, ácido rosamarínico e ácido caféico.

2.9 Estudos sensoriais com consumidores

Para avaliar se novos produtos, como os citados acima, têm potencial de serem aceitos no mercado, é necessário que os consumidores expressem suas opiniões e intenções sobre novos produtos naturais, assim como novas formas de apresentação desses produtos a fim de auxiliar na melhor forma de disponibilizá-los ao mercado. Para isso, as técnicas sensoriais são de grande valia para estudos com consumidores.

2.9.1 Grupo de Foco

A pesquisa qualitativa é caracterizada, sobretudo, pela ausência de medidas numéricas e análises estatísticas, pois analisa aspectos mais profundos e subjetivos do tema em estudo. Segundo Liebscher (1998), os métodos qualitativos prezam pela observação, registro e análise das interações entre pessoas e pessoas, assim como entre pessoas e o sistema, e para isso deve haver minucioso estudo para aplicar as técnicas de maneira correta. Um dos métodos de pesquisa, que pode ser utilizado para se obter as opiniões e atitudes dos consumidores em relação a novos produtos, é a técnica de grupo de foco (Dias, 2000). É comum que no momento da aplicação desta técnica, utilize-se salas com espelho falso, em que observadores registram o comportamento e expressões dos participantes (Dutcosky, 2011). O grupo de foco é uma das mais populares formas de pesquisa com consumidores e é definido como uma entrevista cuidadosamente planejada, com o objetivo de obter as atitudes e as opiniões das pessoas a respeito de determinados assuntos, produtos ou serviços (Gomes, 2005).

O objetivo principal do grupo de foco é identificar emoções, percepções, atitudes e ideias dos participantes a respeito de um determinado assunto, produto ou atividade, por isso deve-se ter a figura do moderador para guiar a reunião para que o foco não seja perdido. O número de pessoas deve ser tal que estimule a participação e a

interação de todos, de forma relativamente ordenada. Por experiência prática com dinâmicas de grupo, pode-se considerar que 6 pessoas são suficientes para promover uma discussão (Dias, 2000).

De acordo com Johnson (1994), aqueles que usam dessa técnica partem da hipótese de que a energia gerada pelo grupo resulta em maior diversidade e profundidade de respostas, isto é, o esforço combinado do grupo produz mais informações e com maior riqueza de detalhes do que o somatório das respostas individuais. A dinâmica e a interação do grupo tornam-se parte integrante da técnica, pois os participantes, envolvidos e engajados na discussão, comentam e interagem entre si sobre suas próprias opiniões, ao invés de interagirem apenas com o moderador.

Como citado antes, o moderador irá facilitar e conduzir a reunião. Ele deve ter respeito pelo grupo, empatia e atitude positiva, bom repertório, comunicar-se com clareza, ter capacidade de ouvir e autodisciplina, transmitir confiança, possuir maneiras amigáveis e senso de humor, além de ser imparcial. O ambiente deve ser favorável à atividade, pois é por meio das interações que estão ocorrendo que se dará o caráter positivo dos encontros e momentos de desenvolvimento de aspectos de comunicação, assim como cognitivos e afetivos (Gomes, 2005).

Dinâmicas podem ser utilizadas para incentivar e motivar mais ainda a participação dos presentes na reunião, como por exemplo, mostrar o produto em estudo, ou a embalagem que está sendo desenvolvida, no caso da área de desenvolvimento de produtos alimentícios; ou alocar adesivos naqueles produtos que acham mais interessantes, e conseqüentemente, resultará em uma ordenação ou classificação; são chamados exercícios interativos, que conseguem extrair percepções adicionais e informações importantes (Dutcosky, 2011).

2.9.2 Questionários

A pesquisa qualitativa tem o objetivo de obter o maior número possível de informações sobre a relação dos consumidores com o produto para maior conhecimento do problema em perspectiva (Mattar, 1999). Na área do Marketing, ela vem sendo muito utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, com a utilização de várias formas de coleta de informações como entrevistas, grupo de foco (já citado), observações diretas, aplicação de questionários, técnicas projetivas etc. (Chaer *et al.*, 2011).

Segundo Gil (1999), o questionário, pode ser definido “como a técnica de investigação composta por um número mais ou menos elevado de questões apresentadas por escrito às pessoas, tendo por objetivo o conhecimento de opiniões, crenças, sentimentos, interesses, expectativas, situações vivenciadas etc.”. Dessa forma, traz várias vantagens: o alcance de um número grande de pessoas, principalmente hoje, com as redes sociais; não exige treinamento específico para a aplicação, há garantia de anonimato das pessoas, existe flexibilidade para que as pessoas respondam no momento mais oportuno. Traz a desvantagem como falta de acuracidade das informações prestadas, já que as pessoas podem responder o que quiserem, e pode haver interpretação errônea por parte do respondente. Por isso, é importante elaborar um roteiro que seja claro e objetivo.

2.9.3 Testes Afetivos

Testes afetivos são ferramentas importantes da Análise Sensorial, pois obtém diretamente os dados sobre a opinião dos consumidores (aceitação e/ou preferência) já estabelecidos ou potenciais de um produto, sobre as características específicas do produto ou ideias sobre ele. Estes testes podem ser classificados em duas categorias: testes de preferência e testes de aceitação (Stone; Sidel, 2004; Minim, 2013).

Os testes de preferência têm o objetivo de avaliar a preferência do consumidor quando ele compara dois ou mais produtos entre si. A preferência pode ser definida como a escolha de uma amostra em relação à outra e o contínuo psicológico do afetivo (percepção do agradável até o desagradável) através dos quais baseiam as escolhas (Stone; Sidel, 2004). Os testes de comparação pareada ou ordenação preferência são utilizados para identificar se há preferência ou rejeição significativa entre as amostras apresentadas ao consumidor (Dutcosky, 2011).

Os testes de aceitação têm o objetivo de avaliar o grau de gostar dos consumidores em relação à determinado produto. A aceitabilidade pode ser definida como a expressão do grau de gostar; por uma experiência caracterizada por uma atitude positiva e pela utilização atual do produto (hábito de comprar ou consumir um alimento) (Stone; Sidel, 2004).

Meilgaard, Civille e Carr (2007) classificam os testes afetivos em qualitativos e quantitativos. Indicam os testes afetivos qualitativos para avaliar as respostas iniciais dos consumidores sobre o conceito e/ou protótipo de um produto, para

aprender/desenvolver a terminologia usada pelos consumidores para descrever os atributos sensoriais, para conhecer o comportamento do consumidor em relação ao uso de um produto. Os grupos de foco, as equipes de foco e as entrevistas individuais, são citados como métodos para realizar os testes afetivos qualitativos. Os testes afetivos quantitativos precisam de um grande número de consumidores, de 50 a 400, para avaliar as respostas relacionadas às suas preferências, gostos e opiniões, atributos sensoriais do produto, sendo indicados para determinar a preferência geral ou aceitação por um grupo de consumidores, que representam o público alvo; para determinar a preferência geral ou aceitação dos consumidores por vários aspectos das propriedades sensoriais do produto, como aparência, aroma, sabor e textura; para medir as respostas do consumidor para atributos sensoriais específicos de um produto.

Testes afetivos quantitativos são utilizados quando se necessita conhecer o “*status* afetivo” dos consumidores com relação ao(s) produto(s), desta forma se utiliza escalas (Oliveira, 2010). A escala mais utilizada é a hedônica devido à confiabilidade e validade de seus resultados, bem como sua simplicidade em ser utilizada pelos provadores (Stone; Sidel, 2004). A escala hedônica de nove pontos (em que 1=desgostei muitíssimo e 9=gostei muitíssimo) que contém os termos definidos situados, por exemplo, entre “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo” contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei; nem desgostei”. É importante que as escalas possuam número balanceado de categorias para gosto e desgosto (IAL, 2008). Pode ser avaliada a aceitação global, ou seja, o produto como um todo, ou também avaliar a aceitação de atributos do produto, como cor, aroma, gosto etc. (Oliveira, 2010).

Em laboratório, os testes afetivos podem ser realizados com o mínimo de 30 provadores. Em ambientes externos, recomenda-se de 200 a 500 pessoas, pois as condições não são controladas. O delineamento experimental a ser utilizado deve ser previamente escolhido, podendo-se optar pelo de blocos completos balanceados ou casualizados ou blocos incompletos casualizados, conforme a situação (IAL, 2008).

Outro teste afetivo é o Teste do Ideal ou *Just-about-right* (JAR) que usa escalas para medir a intensidade dos atributos desejada pelos consumidores em um produto (Dutcosky, 2015). As intensidades e os julgamentos hedônicos se combinam para fornecer uma informação direcional para o melhoramento do produto. Os consumidores avaliam a amostra e decidem se está muito forte ou muito fraco ou no ponto certo para determinado atributo. A utilização de escalas JAR pressupõe que o consumidor entenda o significado dos atributos que estão sendo analisados. Isto limita o

tipo e o número de atributos que podem ser incluídos nos questionários (Minim, 2013).

2.9.4 Técnicas projetivas

Técnicas projetivas têm sido utilizadas para avaliar a percepção dos consumidores e identificar os fatores que influenciam a aceitação, decisão de compra e consumo de alimentos e bebidas. Estas técnicas são originárias da psicanálise, mas rapidamente foram direcionadas para as áreas de desenvolvimento de produtos e marketing. Elas podem ser utilizadas para se explorar a atitude do consumidor em relação aos alimentos, pois dessa forma, é possível que se entenda um pouco como os indivíduos organizam suas experiências (Medeiros; Machado; Passador, 2017).

O método de Associação de Palavras (AP) é umas das técnicas projetivas que tem sido bastante usada na área sensorial. A partir de uma pergunta ou solicitação, que o entrevistado ou participantes escrevam palavras, termos, frases que vêm em sua mente quando pensam naquele produto ou situação, o estímulo é gerado e as respostas podem fornecer um conjunto de informações, sejam relacionadas aos aspectos sensoriais de um produto, ou aspectos de atributos externos, ou sentimentos que remetem a um lugar no passado, enfim, essas informações podem auxiliar no desenvolvimento ou melhoria de produtos (Donoghue, 2000).

A riqueza dessa técnica está em explorar o máximo possível de todas as sensações e opiniões daquele indivíduo, estando livre para se expressar, pode alcançar lembranças, conceitos que dificilmente conseguiriam se estivessem diante de um questionário estruturados ou quantitativo. Segundo Coutinho (2017), quanto mais rápida a resposta do participante, melhor, pois a evocação foi a mais pura possível.

2.9.5 CATA (*Check-All-That-Apply*)

Uma das técnicas que mais vem sendo utilizada em estudos com consumidores é o CATA (*Check-All-That-Apply*), visto que se pode coletar informações sobre a percepção dos mesmos sobre os produtos estudados e apresentados, detectando as principais características sensoriais. Trata-se de uma lista em que os atributos estão disponíveis e o consumidor deve escolher quais representam o produto. Os termos da lista podem ser levantados em pesquisas qualitativas como grupo de foco ou entrevistas formado com consumidores, ou ainda por painel treinado (Ares *et al.*, 2014).

Esses termos podem estar relacionados ao uso ou conceito do produto e não somente limitados aos atributos sensoriais (Dutcosky, 2015). Ares *et al.* (2014) confirmou que a técnica é considerada muito reprodutível e confiável, sendo eficaz da detecção de diferenças e caracterização de diferentes produtos. A técnica CATA tem sido usada para descrever e discriminar produtos, ou seja, tentar entender a maneira como o consumidor descreve o produto. Tenta identificar quais atributos sensoriais são efetivamente percebidos pelo consumidor, o que ele valoriza e o que não valoriza.

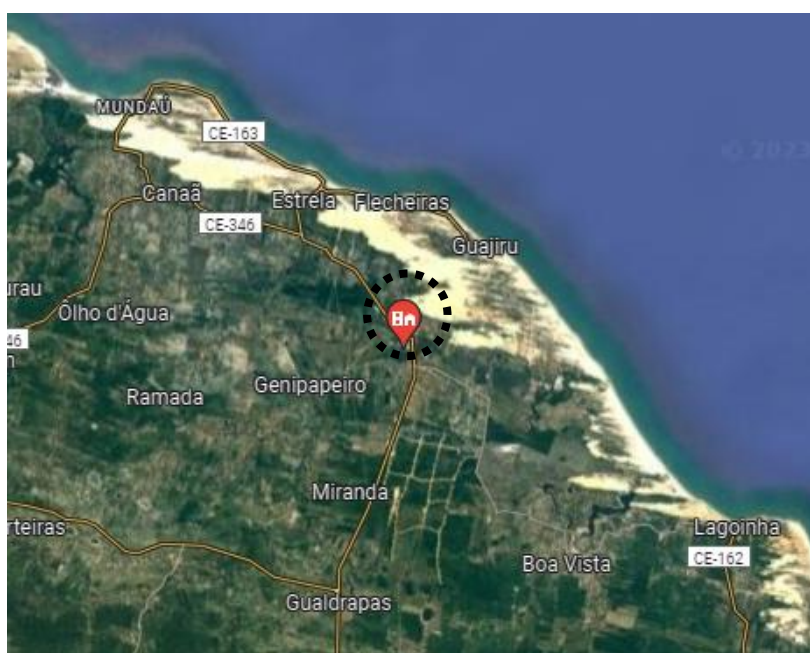
Para esta metodologia, a principal etapa é a adequada seleção dos termos a serem incluídos após a pergunta de preferência geral, além de ser essencial colocar em ordem aleatória os termos entre os avaliadores. Estudos demonstraram que os respondentes começam a leitura nos primeiros termos, dando mais atenção a eles (Jaeger *et al.*, 2015). Observou-se nos estudos que a discriminação melhora quando os termos são agrupados por modalidade e quando se solicita que escolha os termos enquanto experimenta o produto ao invés após a experiência com o produto. O número de termos é uma questão importante a ser considerada, pois listas extensas cansam o consumidor, sendo o ideal o limite de até 20 termos (Jaeger *et al.*, 2015). Além disso, há a recomendação de que a ordem de apresentação dos termos no questionário seja balanceada inter e intra participantes, reduzindo a influência de tendências sobre as respostas dos consumidores e mantendo sua atenção ao longo da sessão sensorial (Ares *et al.*, 2014). Segundo Dooley *et al.* (2010) a principal limitação do CATA é a impossibilidade de medição de intensidade dos termos listados na ficha, em razão disso diminuir a capacidade de discriminação, principalmente quando as amostras possuem tênues diferenças entre si (Antúñez *et al.*, 2017). A quantidade de consumidores deve ser 100 ou mais para que tenha relevância estatística, mesmo que não haja investigação suficiente afirmando isso, usa-se esse número de consumidores ou mais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aquisição do Pólen Apícola

O pólen desidratado adquirido tem origem da região do Trairí, no Ceará, numa região mais especificamente próxima de manguezais (coordenadas geográficas: latitude -3.2752406266834235; longitude -39.26842937913679). A empresa familiar iniciou a venda de pólen em 2004, quando o atual proprietário despertou o interesse em produzir pólen ao participar de um congresso na área de apicultura. O pólen já é comercializado pela empresa, mas a aquisição para este trabalho foi realizada diretamente com o produtor, de forma a granel, em embalagens metálicas de 1kg.

Figura 5 – Localização do apiário



Fonte: Google Maps, 2023.

O pólen fresco passou por processo de desidratação no local de coleta, conforme recomendação das Boas Práticas Apícolas, e foi acondicionado em sacos plásticos e embalados à vácuo (Figura 6). O pólen foi mantido sob congelamento e ao abrigo da luz.

Figura 6 – Pólen desidratado do Trairí



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Para que os grãos tenham maior vida útil, a desidratação é um processo utilizado no apiário. A temperatura de secagem é de 40 a 42°C por aproximadamente 8 horas em estufas de circulação forçada de ar. O pólen fica distribuído em finas camadas sobre peneiras teladas para que o processo ocorra de forma homogênea. O revolvimento do pólen também é uma prática importante para a uniformização, além da importância para a limpeza do grão (Milfont; Freitas; Alves, 2011).

Para que fosse possível selecionar o pólen, pontuou-se sobre a sua disponibilidade, pois, a depender da época do ano, a sua produção torna-se escassa. Outra prioridade, foi o sabor e sensações sensoriais dos protótipos de produtos elaborados em testes preliminares. A degustação foi realizada com a equipe do projeto, a fim de verificar se características do produto como amargor, doçura, adstringência, arenosidade, seriam agradáveis ou não, visando a aceitabilidade do produto.

3.2 Caracterização Físico-Química do Pólen Apícola

Para a realização das análises físico-químicas, os grãos de pólen foram moídos com auxílio de almofariz e pistilo. As determinações físico-químicas de caracterização do pólen selecionado foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Campus IFCE Sobral, Laboratório de Tecnologia do Pescado e Laboratório de Frutos e Hortaliças da Universidade Federal do Ceará de acordo com as seguintes metodologias:

- pH: determinação em potenciômetro portátil marca BEL modelo PHS3BW calibrado com soluções tampão de pH 4,0, 7,0 e 10,0 conforme AOAC (2005), por leitura direta, em que cinco gramas de pólen foram diluídos em 50mL de água destilada.
- Acidez livre: Obtida por titulação utilizando solução de NaOH 0,05N, usando solução de HCl 0,05N como branco de acordo AOAC (2005) expressos em mEq/Kg de pólen.

$$\text{Fórmula: } \frac{(\text{mL de NaOH 0,05N utilizados na bureta} - \text{mL branco}) \times 50}{\text{Massa da amostra}}$$

- Sólidos Solúveis Totais: Leitura direta em Refratômetro Digital HANNA, modelo HI 96801, expressos em °Brix, em que cinco gramas de pólen foram diluídos em 50mL de água destilada, e o resultado multiplicou-se por 10.
- Atividade de água: Determinação com analisador de atividade de água de marca TECNAL NOV-LABSWIFT. Os grãos foram acondicionados em quantidade suficiente para que o equipamento fizesse a leitura.
- Gordura: Realizada pelo Método de Soxhlet, que se baseia na extração de lipídios a partir de repetidas lavagens com solvente orgânico, conforme Adolfo Lutz (2005). Três gramas de pólen apícola foram pesados para essa análise.
- Proteína: utilização do método de microKjeldahl (IAL, 2005) onde o valor de nitrogênio total obtido foi multiplicado por 6,25, fornecendo a quantidade de proteína bruta. Foram pesados 0,25 gramas de pólen apícola, utilizando-se como catalisador ácido sulfúrico.
- Umidade: Dois gramas de pólen apícola foram pesados em cadinhos previamente esterilizados. A determinação de umidade foi realizada por diferença entre o peso da amostra e o conteúdo de extrato seco total obtido através do método gravimétrico de secagem em estufa a 105°C até peso constante de acordo com Adolfo Lutz (2005).
- Cinzas: Resíduo por incineração em mufla a 550°C resfriada em dessecador até temperatura ambiente até peso constante de acordo com Adolfo Lutz (2005). Dois gramas de pólen apícola foram pesados em cadinhos para mufla, previamente esterilizados.
- Carboidratos: Calculado por diferença.

- Açúcares totais: De acordo com Adolfo Lutz (2005), determinação de glicídios redutores em glicose e não redutores em sacarose, em que 1 grama de pólen apícola foi pesado, seguido de titulação.

3.3 Análise Polínica

A identificação botânica foi realizada para se ter conhecimento da flora visitada pelas abelhas, visto que as abelhas da espécie *Apis mellifera* são notórias por terem interesse por plantas em geral, não preferindo uma espécie em relação à outra. A coleta de pólen se dá a partir de diversas fontes, podendo até mesmo ter a coexistência em uma mesma área, de duas espécies de abelhas generalistas, sem haver a manifestação de competição direta (Pegoraro, 2007).

Para o estudo palinológico das amostras, cerca de 5 gramas de pólen apícola dessecado foi reidratado com água morna, desagregado mecanicamente e depois centrifugado (2.500 rpm). Seguiu-se o protocolo de Alvarado & Delgado (1985) e as modificações propostas por Novais *et al.* (2009), o sedimento polínico submetido à desidratação com ácido acético glacial por 24 horas, centrifugado, e o tratado quimicamente pelo método de acetólise de Erdtman (1960).

Após o tratamento químico, o resíduo foi lavado e deixado em solução aquosa de glicerina a 50% por 12 horas, sendo centrifugado e o sedimento montado entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada corada com safranina.

Para confirmação da afinidade botânica dos tipos polínicos, as análises microscópicas seguiram as indicações de Santos (2011). O censo palinológico foi feito com a contagem de um mínimo de 500 grãos de pólen por amostra para o estabelecimento das frequências.

As análises foram realizadas no Laboratório de Micromorfologia Vegetal, do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana.

3.4 Determinação do Perfil de Aminoácidos do Pólen Apícola

Os aminoácidos foram analisados segundo White *et al.* (1986) e Hagen *et al.* (1989), em que a amostra foi submetida a uma hidrólise ácida com derivatização pré-coluna. A separação e identificação dos aminoácidos foram realizadas por cromatografia líquida de fase reversa (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) equipado com coluna

(50°C) Phenomenex-Luna C18 reverse phase column (250 × 4.6 mm, 5 µm; Phenomenex Inc., Torrance, USA), com detector de UV em comprimento de onda 254 nm. Para a identificação e quantificação foram utilizados o padrão externo (Pierce / PN 20088) e padrão interno (ácido alfa-aminobutírico - Aldrich, Milwaukee-USA).

O triptofano foi determinado após hidrólise enzimática com pronase a 40°C durante 22 horas, seguido de reação colorimétrica com 4-dimetilaminobenzaldeído (DAB) em ácido sulfúrico 21,1N e leitura em espectrofotômetro a 590 nm. O teor de triptofano foi calculado a partir de uma curva padrão (Spies, 1967).

As análises foram realizadas em laboratório externo, no CBO Análises Laboratoriais.

3.5 Determinação dos Compostos Bioativos do Pólen Apícola

3.5.1 Preparação do Extrato Etanólico

Foram preparados extratos de pólen apícola, segundo Slinkard e Singleton (1977), com adaptações. Pesou-se 5 gramas de pólen desidratado em tubo de centrifuga e adicionou-se 10mL de etanol 50%, agitou-se em vórtex por 30 segundos e centrifugou-se a 15000 rpm por 15 minutos a 25°C. O sobrenadante foi filtrado e reservado. Ao precipitado, adicionou-se 10mL de acetona 70%, agitou-se em vórtex por 30 segundos e centrifugou-se a 15000 rpm por 15 minutos a 25°C. O sobrenadante foi adicionado ao filtrado anteriormente. Em um balão de 25mL, adicionou-se os filtrados, aferiu-se o balão e acondicionou-se em recipientes plásticos escuros e congelados até o momento das análises.

3.5.2 Análise de Compostos Fenólicos Totais

Seguiu-se a metodologia descrita por Slinkard e Singleton (1977), método espectrofotométrico utilizando-se o reagente de *Folin Ciocalteau*. Primeiro, foi realizada a curva padrão com ácido gálico. Posteriormente, aos extratos (alíquota de 100 microlitros) foram adicionados carbonato de sódio, *Folin Ciocalteau* e água destilada. Em seguida, os tubos foram homogeneizados em agitador de tubos. As leituras em espectrofotômetro a 700 nm, foram realizadas aos 30 minutos após a adição dos reagentes. Todo o procedimento foi realizado ao abrigo da luz.

3.5.3 *Análise de Flavonoides Totais*

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia descrita por Lopes *et al.* (2019), com adaptações, utilizando uma solução de cloreto de alumínio 2% em metanol. Os tubos com a mistura de reação foram mantidos ao abrigo da luz em temperatura ambiente (25 °C) por 30 minutos. Em seguida, foi medida a absorbância em espectrofotômetro UV-Vis (Gehaka UV-Vis 340G) no comprimento de onda de 425 nm. O conteúdo de flavonoides totais foi calculado a partir da curva de calibração da quercetina e expresso em mg equivalente a quercetina/100 mL.

3.5.4 *Determinação da Atividade Antioxidante por ABTS*

Usou-se o método segundo Re *et al.* (1999) com adaptações. O radical ABTS foi formado a partir da reação de 7mmol de ABTS com 88µL de persulfato de potássio durante 16 horas à temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Em seguida, a solução foi diluída em etanol até obter-se uma solução com absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 734 nm. A absorbância foi determinada seis minutos após a diluição de 10µL, 20µL e 30µL do extrato em 3mL do radical, com espectrofotômetro a 700nm. A quantificação da atividade antioxidante pelo método ABTS foi realizada pela interpolação na curva padrão de Trolox e os valores expressos em µmol de equivalente de trolox por grama de amostra.

3.5.5 *Determinação da Atividade Antioxidante por DPPH*

Para o método com o radical livre DPPH, 125 µL dos extratos foram misturados com 3,125 mL de etanol e 1,75 mL da solução de DPPH. A mistura permaneceu em ambiente escuro durante 2 horas e posteriormente a absorbância foi mensurada em 515 nm. A atividade antioxidante foi calculada de acordo com a captura do radical DPPH (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995).

A absorbância do controle foi medida usando 1,8 mL de água e 2 mL de solução de DPPH. O cálculo da atividade de proteção seguiu a equação:

$$\%AA = \frac{Abs_M - Abs_M}{Abs_{br}} \times 100 \quad (Eq. 1)$$

3.5.6 Identificação de Fenólicos em HPLC

3.5.6.1 Preparação do extrato

10g de pólen apícola foram diluídos em 100mL de água e filtrado em tecido TNT. O filtrado foi liofilizado por 72 horas e acondicionado em recipiente plástico.

3.5.6.2 Análise de identificação

As análises foram realizadas de acordo com Negri *et al.* (2018), utilizando um sistema *Acquity* UPLC (Waters, EUA) acoplado a um PDA (210-600 nm) e sistema de massa QDa (Q-TOF, Waters). Uma coluna Waters *Acquity* BEH C18 para condição de separação (150 mm × 2,1 mm, 1,7 µm) foi ajustada em 40°C. Um volume de injeção de alíquota de 5 µL de cada extrato foi submetido a um gradiente exploratório com a fase móvel composta por água deionizada (A) e acetonitrila (B), ambas contendo ácido fórmico (0,1% v/v). Os extratos foram submetidos ao gradiente exploratório da seguinte forma: 2–100% B (22,0 min), 100% B (22,1-25,0 min), 2% B (26,0-30 min) com vazão de 0,3 mL min⁻¹. A ionização foi realizada utilizando fonte de ionização por eletrospray em modo negativo e modo ESI positivo, adquirida na faixa de 100–800 Da e os parâmetros instrumentais otimizados foram os seguintes para negativo e positivo, tensão capilar em 0,8kV, tensão de cone em 15 V e temperatura da fonte positiva a 120 °C, temperatura de dessolvatação a 350°C, fluxo de gás de dessolvatação a 500 L h⁻¹. O sistema foi controlado usando o software *Empower 3* (Waters Corporation). A análise foi realizada na Embrapa Agroindústria Tropical.

3.6 Análise Microbiológica do pólen apícola

De acordo com a Instrução Normativa 161 (Brasil, 2022), que estabelece os parâmetros microbiológicos para alimentos, não há menção exclusiva para pólen apícola, mas tomando por base que o pólen é um ingrediente seco, pode-se concluir que é importante a investigação de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp e Bolores e Leveduras.

3.7 Conceito do produto

3.7.1. Questionários

Foram obtidas respostas de consumidores através de questionários disponibilizados nas redes sociais, e-mails e ferramentas on-line para a realização da pesquisa qualitativa com o objetivo de obter o maior número possível de informações sobre o conhecimento da bebida de pólen. Segundo Mattar (1999) essa forma de pesquisa é do tipo exploratória, onde o pesquisador objetiva ter um maior conhecimento sobre o problema em perspectiva. Os questionários foram estruturados com perguntas fechadas e abertas sobre o produto e o que o consumidor esperaria desse produto, inclusive quais ingredientes saudáveis adicionais poderiam ser incluídos na bebida. O questionário utilizado teve por objetivo descobrir as exigências dos respondentes em relação à bebida de pólen.

3.7.2 Grupo de Foco para conceito do produto

A técnica qualitativa de discussão interativa chamada de grupo de foco ou grupo de discussões foi aplicada on-line via Plataforma do *Google Meet*. A discussão foi estimulada por um líder (moderador) e um observador, tendo como objetivo obter quantidade de informação suficiente para que o produto fosse desenvolvido de acordo com o padrão mental construído baseado no desejo do consumidor, delineando o conceito do produto.

Dois grupos de seis pessoas constituídos por jovens adultos universitários participaram das sessões, que duraram aproximadamente 40 minutos cada. O recrutamento se deu de forma on-line em que, devido à situação de pandemia, foi feito o convite a pessoas que tivessem interesse e motivação em participar da reunião. Solicitou-se aos participantes que ficassem com suas câmeras ligadas, para que as reações fossem observadas, mesmo que à distância. Eles tiveram liberdade para explicar os motivos e razões de suas atitudes, independente da opinião de outros participantes. Com essa técnica obteve-se uma maior quantidade de informação sobre o padrão mental construído baseado no desejo do consumidor no atendimento de suas necessidades. Ao final, as anotações dos relatos gerados no grupo feitas pelo observador e as gravações e filmagens das sessões foram utilizadas para a elaboração dos protótipos dos produtos.

Tabela 9 – Roteiro de perguntas utilizadas nas sessões do Grupo de Foco (conceito do produto)

Perguntas Gerais

1. O que você conhece sobre pólen?
2. O que você conhece sobre pólen apícola?
3. Você costuma consumir linhaça, chia, aveia, amaranto? Por qual motivo? Com que frequência?
4. Você acredita que o pólen apícola traga benefícios para a saúde?
5. Você consumiria um produto que tivesse pólen apícola na sua formulação?

Perguntas Específicas

1. Você já consumiu pólen apícola?
 2. Por qual motivo nunca consumiu?
 3. Você acredita que uma bebida elaborada com pólen apícola poderia ter quais ingredientes?
 4. O que você espera de uma bebida de pólen apícola, em termos sensoriais?
 5. Em que situação seria mais favorável o consumo desse produto?
 6. Você acredita que uma bebida de pólen apícola traga benefícios para a saúde?
 7. Quais critérios você levaria em consideração ao comprar esse tipo de produto?
 8. Você pagaria a mais por este produto?
 9. Entre um produto rico em proteínas e outro tradicional, qual você compraria?
 10. Entre um produto rico em propriedades antioxidantes e outro rico em proteínas, qual você compraria?
 11. Qual o tipo de embalagem a bebida de pólen poderia ser comercializado?
-

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

3.8 Definição das Formulações

Com os dados obtidos através dos questionários e do grupo de foco, realizou-se testes preliminares de bancada para que fosse definida a diluição do pólen em água, além das quantidades máximas e mínimas de pólen, de acordo com as recomendações de consumo diário e de acordo com as porções regulamentadas para bebidas. De acordo com os mesmos dados, foi possível definir os ingredientes da bebida.

Para consumo diário, recomenda-se 5 gramas de pólen ou aproximadamente 2 colheres de sopa (inclusive os rótulos dos produtos comerciais indicam essa quantidade), mas não há recomendação estabelecida na legislação brasileira (Kaminsky, 2017; Martins, 2010). Para garantir que pelo menos 5 gramas de pólen estaria na bebida com menor quantidade de pólen, o limite mínimo foi fixado em 6 gramas. Para garantir que não houvesse sabor desagradável ao produto, o máximo foi fixado em 10 gramas. De acordo com vários autores que elaboraram produtos com pólen, estes obtiveram melhores resultados sensoriais com enriquecimento de até 5% de pólen na composição dos produtos (Yildiz & Maskan, 2022; Lopes, 2016; Krystyjan *et al.*, 2015).

Em seguida, decidiu-se por definir o tipo de leite vegetal que iria ser utilizado na bebida, baseando-se nas respostas dos questionários *on-line*. O leite de coco foi o extrato vegetal escolhido, pois foi mais citado dentre as opções de leite vegetal pelos participantes. Por ser um ingrediente de sabor mais neutro, foi fixada a sua quantidade em todas as formulações.

O mel foi considerado o melhor adoçante para compor a bebida, pois é um ingrediente natural e de origem apícola, não variou em função da quantidade, pois o estabelecido pela legislação é que alimentos líquidos com 7,5 gramas ou mais em 100mL o produto é considerado com alto teor de açúcar, portanto, esse foi o limite utilizado e fixado para todas as formulações.

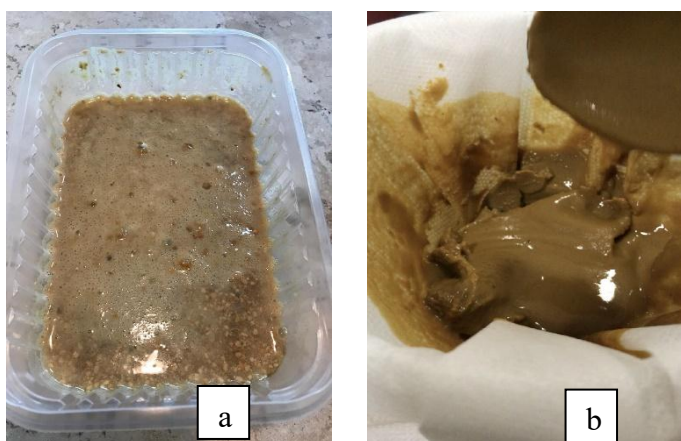
Segundo os participantes da pesquisa *on-line*, ao serem questionados sobre o que eles gostariam que tivesse na bebida, suco de frutas cítricas foi o mais citado. Uma bebida teste foi elaborada com polpa de acerola, que também conferiria a atividade antioxidante desejada para o produto. Porém, a cor da bebida não deixava claro que havia acerola no produto, e isso poderia confundir o consumidor, desta forma, optou-se por outro fruto. Além disso, já existe patente sobre utilização de pólen apícola e polpa de frutos tropicais.

O cacau foi escolhido para dar sabor à bebida e tornar o amargor natural ao produto, portanto ele tem impacto maior no sabor do produto, assim como o pólen, foi considerado variável independente. Além do sabor, o cacau é reconhecido amplamente por ser funcional e ter compostos bioativos.

Os testes preliminares iniciaram com a diluição do pólen com a água à temperatura ambiente, deixando-se macerar por 30 minutos, para que se formasse um “caldo” (Figura 7), e os grãos de pólen se dissolvessem o máximo possível. Ao caldo, foram adicionados os ingredientes (leite de coco, mel e cacau), em quantidades- testes.

Em seguida, procedeu-se com homogeneização e pasteurização em máquina específica, na Vegan Milk Machine, e esse processo ocorreu em 25 minutos. Após essa etapa, as bebidas foram resfriadas a 60°C/15min em banho maria e acondicionadas em embalagens plásticas previamente esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio a uma concentração de 200ppm, por 15 minutos. De acordo com a Instrução Normativa nº 75/2020 da ANVISA, para bebidas, a porção deve ser de 200mL.

Figura 7 – “Caldo de pólen” (a) e o retido no filtro (b).



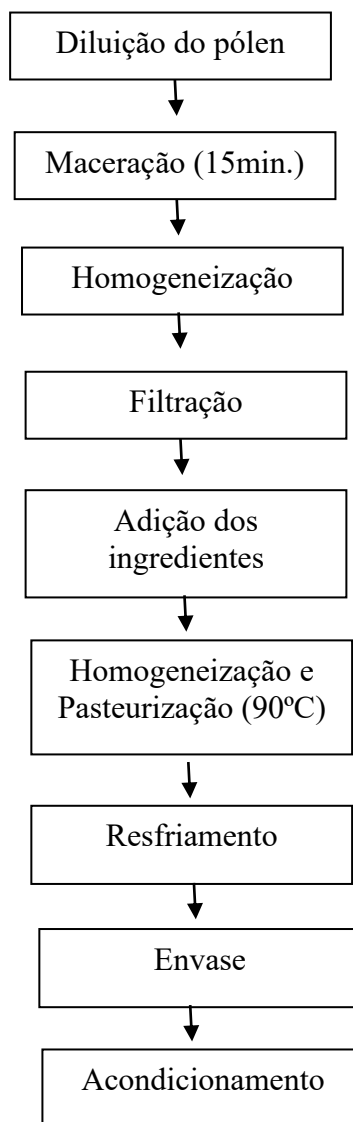
Fonte: Elaborado pela autora 2023.

Ao realizar a degustação dos protótipos, a equipe do projeto percebeu uma forte adstringência e arenosidade no produto, o que poderia causar rejeição do consumidor. Decidiu-se por fazer um extrato do pólen, com diluição em água e posterior filtração. Então, o extrato aquoso de pólen foi utilizado para as bebidas, já que conferiu menor sensação de arenosidade e adstringência.

Dessa forma, o procedimento de elaboração da bebida iniciou-se com a produção do extrato aquoso do pólen apícola, em que gramas de pólen (pesados em balança de acordo com o delineamento experimental) foram diluídos em 100mL de água potável à temperatura ambiente e macerados por 15 minutos. Em seguida, foi realizada a 1ª homogeneização do “caldo”, com auxílio de um *mixer* marca *Mallory*. Depois, fez-se uma filtração simples com tecido não-tecido (TNT) e o extrato aquoso foi obtido. Ao extrato, foi adicionado o leite de coco, o cacau em pó (de acordo com o delineamento experimental) e o mel, todos ingredientes comerciais. Em seguida, procedeu-se com homogeneização e pasteurização (90°C) na máquina *Vegan Milk Machine*, por 25 minutos. Antes de resfriar, o produto passou por uma filtração em peneira com tela de

0,5mm. Após essa etapa, as bebidas foram resfriadas a 60°C/15 min, acondicionadas em embalagens plásticas previamente esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio a uma concentração de 200ppm, por 15 minutos e congeladas. A Figura 8 mostra o fluxograma do processo:

Figura 8 – Fluxograma de produção da bebida



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

As bebidas seguiram o delineamento experimental fatorial 2^2 do tipo composto central rotacional com quatro repetições no ponto central, totalizando 12 formulações. Como variáveis independentes, foram escolhidos o pólen e o cacau, pois conferem maior sabor ao produto, visto que o leite de coco tem sabor neutro e o mel foi adicionado até o limite que pudesse garantir um produto que não fosse considerado

“alto teor” de açúcar adicionado. E como variáveis dependentes, os resultados das análises de sólidos solúveis (°Brix), viscosidade e compostos fenólicos totais. Essas análises foram escolhidas porque nas respostas dos questionários, a característica sensorial “doce” foi a mais citada e a característica “cremosidade” foi a indicada pelo grupo de foco. E, como a bebida tem apelo antioxidante, foi realizada a análise de compostos fenólicos. Os efeitos das quantidades de pólen e cacau sobre a doçura, viscosidade e quantidade de compostos fenólicos das bebidas foram avaliados.

Tabela 10 – Planejamento Experimental das Formulações

Formulação	Valores codificados		Valores reais	
	Pólen (g)	Cacau (g)	Pólen (g)	Cacau (g)
B1	-1,00	-1,00	6,00	5,00
B2	-1,00	1,00	6,00	7,00
B3	1,00	-1,00	10,00	5,00
B4	1,00	1,00	10,00	7,00
B5	-1,41	0,00	5,20	6,00
B6	1,41	0,00	10,90	6,00
B7	0,00	-1,41	8,00	4,60
B8	0,00	1,41	8,00	7,40
B9 (C)	0,00	0,00	8,00	6,00
B10 (C)	0,00	0,00	8,00	6,00
B11 (C)	0,00	0,00	8,00	6,00
B12 (C)	0,00	0,00	8,00	6,00

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Para a elaboração das bebidas, foram utilizados ingredientes comerciais, visando a segurança microbiológica do produto: o leite de coco, de marca SOCOCO RTC (reduzido teor calórico); o mel de marca Melbrás; e o Cacau 100% da marca Nestlé.

3.9 Análises físico-químicas dos Ingredientes

As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia do IFCE *Campus* Sobral e Laboratório Externo, no NUTEC (Núcleo de Tecnologia e

Qualidade Industrial do Ceará) e seguiram os seguintes procedimentos descritos nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

- Mel: Umidade, Açúcares totais e redutores e Acidez livre.
- Leite de coco: Umidade, Proteína, Gordura, Acidez, Brix e Carboidrato por diferença.
- Cacau em pó: Umidade, Proteína, Gordura, Acidez, Brix, Cinzas e Carboidrato por diferença.

3.10 Seleção das bebidas para Análise Sensorial

A partir dos resultados das análises de sólidos solúveis (°Brix), viscosidade e compostos fenólicos das doze formulações, quatro amostras foram selecionadas para a realização de análise sensorial por meio de testes afetivos.

As análises de sólidos solúveis seguiram o recomendado pelo Adolfo Lutz (2005), em que 5mL de bebida foi diluída em 50mL de água destilada e posterior leitura em refratômetro com auxílio de algodão para filtrar a amostra.

A viscosidade foi realizada em Reômetro de modelo *Rheometer R/S Plus Soft Solid Test* (SST) da marca Brookfield; Método: DG3 DIN cilíndricos concêntricos, à temperatura de 25°C. Rampa: 0 à 500 s⁻¹ durante 60 segundos.

A análise de compostos fenólicos seguiu com a preparação do extrato etanólico das amostras, seguidas de leitura em espectrofotômetro a 700nm, conforme item 3.5.2.

A análise microbiológica foi realizada para a detecção de *Salmonella*/25g e coliformes a 45°C conforme metodologias descritas em *American Public Health Association* (APHA, 2001).

3.11 Análise sensorial das bebidas formuladas

Para efetuar a análise do desempenho do produto elaborado, foram realizados testes sensoriais, no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto Federal do Ceará, Campus Sobral, onde foram avaliados atributos de impressão global, aparência, aroma, sabor, doçura e textura, realizados com 100 provadores.

Primeiramente, os participantes responderam o Termo de Consentimento

Livre e Esclarecido, em seguida preencheram dados sobre sexo, idade, escolaridade, perfil de consumo e hábitos alimentares. Ao final dessa primeira ficha, foi solicitado ao respondente que escrevesse, de forma espontânea, as quatro primeiras palavras, termos, frases, sentimentos ou sensações que viessem a sua mente quando pensassem em uma bebida à base de pólen apícola, com os ingredientes utilizados, aplicando assim, a técnica projetiva de associação de palavras.

Em seguida, foram realizados os testes sensoriais afetivos. As amostras foram servidas em copos plásticos, na quantidade de 25mL, apresentadas de forma monádica, em que o provador iniciava a degustação das amostras codificadas (números aleatórios de três dígitos) da esquerda para a direita em cabines. A temperatura das amostras foi controlada em torno de 12°C a 15°C, pois na sala ao lado das cabines sensoriais, havia geladeira para armazenamento das amostras, e elas iam sendo servidas de acordo com a chegada dos provadores. A estes, foi solicitado que demonstrasse seu grau de aceitação dos atributos sensoriais de impressão global, aparência, aroma, sabor, doçura e textura através da escala hedônica de 9 pontos (1= “desgostei muitíssimo” e 9= “gostei muitíssimo”) (ABNT, 1998), disponibilizados em fichas sensoriais impressas. Escalas de atitude dos consumidores foram aplicadas para o conhecimento da intenção de compra do produto.

Na mesma sessão dos testes de aceitação, foi solicitado ao provador, que preenchesse o teste de idealidade da doçura, amargor e textura (corpo) das amostras. Ainda nessa sessão, o provador realizou o teste de ordenação preferência, em que se solicitou que ele ordenasse as amostras da menos preferida para a mais preferida.

Por fim, os provadores expressaram suas opiniões a respeito do novo produto que estava sendo apresentado através de questionários atitudinais sobre informações do produto (Bloco 1), interesse em novos produtos (Bloco 2), interesse em alimentação saudável (Bloco 3) e grau de importância de algumas informações sobre o produto (Bloco 4). As afirmativas foram elaboradas de acordo estudos consolidados de Roininen, Lähteenmäki e Tuorila (1999), que foi traduzida e teve validação de Soares, Deliza e Gonçalves (2006); e Pliner e Hobden, (1992), traduzida por Cadete, Cunha e Lima (2010), com modificações. A escala utilizada foi a Escala de Likert (escala de mista de concordância) de cinco pontos, variando de (1) discordo totalmente a (5) concordo totalmente e, de Importância de cinco pontos, variando de (1) considero sem importância a (5) considero muito importante. As afirmações dos blocos estão disponíveis na Tabela 11:

Tabela 11 – Afirmações utilizadas nos questionários e os blocos correspondentes
(continua)

Tema	Nº da afirmação	Afirmção para avaliação
Bloco 1 – Informações do produto	1	Sabendo que o pólen é rico em compostos antioxidantes, eu o consumiria.
	2	Entre uma bebida tradicional e uma bebida rica em compostos antioxidantes e minerais, eu escolho a bebida rica em compostos antioxidantes e minerais.
	3	Essa bebida com pólen, leite de coco, mel e cacau me parece ser saudável.
	4	Essa bebida com pólen, leite de coco, mel e cacau me parece ser nutritiva
Bloco 2 – Interesse em alimentação saudável	5	Eu sou muito preocupado em quão saudáveis os alimentos são.
	6	Eu sempre sigo uma dieta balanceada e saudável.
	7	É importante pra mim que a dieta seja pobre em gordura.
	8	É importante pra mim que minha alimentação diária contenha muitas vitaminas e minerais.
	9	Eu como o que eu gosto e não me preocupo com o quão saudável o alimento é.
	10	O quão saudável é o alimento tem pouco impacto nas minhas escolhas.
	11	Eu não evito nenhum alimento, mesmo aqueles que podem elevar meu colesterol, glicemia, pressão arterial, etc.
	12	O quão saudáveis os petiscos são, não faz nenhuma diferença pra mim.
Bloco 3 – Interesse em novos alimentos (fobia alimentar)	13	Gosto da comida de diferentes países.
	14	Sou seletivo relativamente à comida que como.
	15	A comida étnica parece esquisita demais pra provar.
	16	Em ocasiões comemorativas, experimento comidas novas.
	17	Se não conheço os ingredientes de uma comida, não a experimento.
	18	Experimento constantemente novos e diferentes alimentos.
	19	Receio comer coisas que nunca experimentei.
	20	Não confio em alimentos novos.

Tabela 11 – Afirmações utilizadas nos questionários e os blocos correspondentes

Tema	Nº da afirmação	Afirmação para avaliação
Bloco 3 – Interesse em novos alimentos	21	Eu sou capaz de comer praticamente tudo.
	22	Gosto de experimentar novos restaurantes étnicos
Bloco 4 - Grau de importância de algumas informações sobre o produto	23	Essa bebida é zero lactose.
	24	Essa bebida não contém açúcar refinado
	25	Essa bebida não tem proteínas de leite de vaca.
	26	Essa bebida tem compostos antioxidantes.
	27	Essa bebida tem compostos de origem animal (pólen apícola e mel) e compostos de origem vegetal (leite de coco e cacau em pó).
(conclusão)		

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

3.12 Grupo de Foco para levantamento de termos – CATA

Foi realizado grupo de foco de forma presencial com três grupos, sendo um com oito participantes, outro com seis participantes e um com nove participantes. O recrutamento foi realizado antecipadamente, com sondagem aos possíveis participantes, como critério, se consumiam e gostavam produtos com cacau ou chocolate. Primeiramente, foi solicitado que os participantes se apresentassem, dissessem o nome e preenchessem seus dados para o perfil do grupo ser desenhado. Foi informado que a reunião seria gravada e que o sigilo seria assegurado. Em seguida, duas formulações (B4 e B7) foram apresentadas em embalagens plásticas transparentes. A escolha das formulações se deu por mostrarem diferenças marcantes entre elas. Quanto maior a diferença entre as amostras, melhor a qualidade das respostas dos participantes. Depois, as formulações foram servidas e o roteiro de perguntas foi seguido para que os participantes fossem estimulados a indicarem quais características sensoriais se adequavam ao produto. Foi utilizado o Método de Rede ou “Grid” com modificações (Dutcosky, 2011), onde um par de amostras foi apresentado simultaneamente, e perguntou-se aos participantes, quais as similaridades e diferenças percebidas entre elas. Ao final, 20 descritores foram escolhidos para a análise do CATA Quantitativo. Os

descritores referentes às emoções dos provadores em relação ao produto foram elencados conforme pesquisa na literatura sobre bebidas com cacau e de acordo com as observações e opiniões dos participantes do grupo de foco (Teixeira, 2019).

Tabela 12 – Roteiro geral de perguntas utilizadas nas sessões do Grupo de Foco para levantamento de termos

-
1. Quais as características sensoriais você espera encontrar na bebida?
 2. Quais características sensoriais têm maior importância para você na escolha da bebida que irá consumir?
 3. Quais características de aparência você pode destacar na bebida que está sendo apresentada?
 4. Quais características de aroma você pode destacar na bebida que está sendo apresentada?
 5. Quais características de sabor você pode destacar na bebida que está sendo apresentada?
 6. Quais características de textura você pode destacar na bebida que está sendo apresentada?
 7. Quais características de sabor residual você percebe após engolir a bebida que está sendo apresentada?
 8. Qual seria o valor mais viável em mercado?
 9. Quais as similaridades e diferenças você percebeu entre as duas amostras provadas?
-

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

3.13 Composição centesimal, atividade antioxidante (ABTS) e viscosidade da bebida escolhida para otimização

As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia do IFCE *Campus* Sobral, Laboratório de Frutos e Hortaliças da UFC e Laboratório Externo, no NUTEC (Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará) e seguiram os seguintes procedimentos: Umidade, Proteína, Gordura, Cinzas, pH, Sólidos Solúveis (°Brix), Carboidratos, por diferença de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2005); Atividade Antioxidante: Pelo método ABTS, conforme Re *et al.* (1999) com adaptações, de acordo com o item 2.5.2; Viscosidade (Pa.s): Reômetro de modelo *Rheometer R/S Plus Soft Solid Test* (SST) da marca Brookfield; Método: DG3 DIN cilíndricos concêntricos, temperatura de 15°C. Rampa: 0 à 500 s-1 durante 60 s.

3.14 Análise Sensorial das formulações otimizadas

Foi realizado teste sensorial afetivo de escala hedônica, para que o provador demonstrasse seu grau de aceitação dos atributos sensoriais de impressão global, aparência, cor, aroma, sabor, doçura, amargor e textura, além da intenção de consumo. Na mesma sessão, foi realizado o teste de idealidade da doçura, amargor e textura (corpo) das amostras. Para análise do CATA Qualitativo, foi solicitado ao provador que marcasse, em uma lista de sensações (de forma aleatorizada) aqueles termos que considerassem ser aplicáveis às amostras (selecionou-se 15 termos, entre sensações positivas e negativas), assim como para que marcasse em uma outra lista de características sensoriais, dentre 20 termos descritivos, aqueles que consideravam aplicáveis às amostras em uma escala mista de intensidade de 9 pontos, neste caso seguiu-se a sequência psicológica da percepção dos provadores (aparência, cor, aroma, sabor, textura e sensação residual), o CATA quantitativo.

A ficha sensorial foi apresentada ao provador através de QR Code, portanto a inserção dos dados se deu de forma *on-line*. Fichas impressas foram usadas em caso de impossibilidade do uso da internet ou aparelho celular, e ainda foi disponibilizado o computador do laboratório para que os provadores pudessem usar, caso necessário.

3.15 Análise Estatística

Os gráficos de superfícies de resposta e ANOVA foram gerados pelo Programa Statistica versão 10. Os resultados dos testes de aceitação e caracterização físico-química foram tratados estatisticamente através de Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey para dados paramétricos e Kruskal-Wallis para dados não paramétricos e Teste de Wilcoxon (Corder; Foreman, 2011). Teste de Fisher foi usado para o questionário atitudinal. Para o teste CATA qualitativo, aplicou-se a Análise de Correspondência e Teste Q Cochran. Para o teste CATA quantitativo, utilizou-se Teste de Shapiro-Wilk para normalidade, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste não paramétrico de Mann-Whitney, quando necessário.

3.16 Aspectos éticos

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Humanos da Universidade Federal do Ceará, possuindo Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (C.A.A.E.), com número 64853122.1.0000.5054. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização Físico-Química do Pólen Apícola

A umidade do pólen apresentou valor superior ao valor máximo estabelecido pela legislação (4%), representando o único parâmetro fora dos resultados esperados (Tabela 13). Quanto maior a umidade, menor o controle sobre as condições de crescimento microbiológico. A forma de armazenamento e o acondicionamento do produto contribuem fortemente para o aumento da umidade. Para Campos *et al.* (2008), valores entre 4% e 8% de umidade são considerados adequados, tanto para manter as características sensoriais como para evitar o crescimento microbiano. Em contrapartida, pólen muito seco pode ser difícil de dissolver e utilizar em preparações, portanto, a umidade intermediária pode ser favorável ao consumo (SEBRAE, 2015).

Tabela 13 – Composição Físico-Química do pólen apícola.

Componentes	Pólen desidratado (Trairi)	Referência (BRASIL, 2001)
Umidade (%)	12,6±0,22	Máx. 4%
Atividade de água	0,28±0,05	-
Proteína (%)	24,69±0,26	Mín. 8%
Gordura (%)	6,49±0,29	Mín. 1,8%
Carboidrato (%)	51,67±0,45	-
Cinzas (%)	3,48±0,08	Máx. 4%
pH	5,59±0,10	4 a 5
Sólidos solúveis (°Brix)	57,54±0,24	-
Acidez livre (mEq/Kg)	202±1,45	máximo 300mEq/kg
Açúcares totais	28,67±0,25	14,5% a 55,0%

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

(-) Não especificado na legislação citada.

Para Rocha (2013) se o pólen for desidratado a menos de 10% a conservação é aumentada significativamente se comparado ao produto fresco, que apresenta umidade em torno de 24% (Frigerio, 2009). Arruda *et al.* (2013b) obtiveram resultados de 3,47% em pólen desidratado e Azevedo *et al.* (2009) valor de 4% de umidade em pólen desidratado oriundos do Ceará na Região Nordeste do Brasil,

portanto valores compatíveis com a legislação vigente. Martins (2010) estudou a composição das amostras de pólen apícola de vários estados brasileiros, e verificou uma grande variação de resultados entre todos os estados brasileiros, e até mesmo de pólen originário de um mesmo estado, encontrando valores entre 3,00 e 9,39% para umidade. Almeida-Muradian *et al.* (2005), obteve valor de umidade de 7,4% em pólen da região sul do Brasil e Nogueira (2012), em que o valor variou de 6,02% a 8,40% em pólen comercial de Portugal. Outros fatores como o tempo e as condições de armazenamento podem ter interferido no aumento da umidade, visto que os locais de coleta e o local onde o estudo foi realizado fica a mais de 120 Km de distância.

O parâmetro de atividade de água não é citado na legislação, porém é de grande importância para o armazenamento de alimentos secos, pois garante a estabilidade microbiológica do produto, quando o valor de atividade de água se apresenta na faixa de 0,0 a 0,6 (Jay, 2000), portanto um parâmetro de qualidade. Os valores obtidos neste estudo para o pólen do Trairí (0,28) mostram que ele oferece dificuldade na multiplicação e crescimento microbiano, portanto boa estabilidade de armazenamento. Martins (2010) obteve resultados de 0,38 e Carpes (2008), encontrou 0,38. Kaminsky (2017) encontrou valores acima do presente estudo, entre 0,45 a 0,49 de atividade de água em 12 amostras de pólen em marcas comerciais. Em contrapartida, Ferreira (2012) que obteve valor menor de atividade de água de 0,15 e 0,22 em pólen liofilizado e desidratado, respectivamente.

A quantidade de proteína encontrada no pólen do Trairí foi de 24,69%, confirmando o alto conteúdo nas amostras, e está de acordo com a legislação brasileira, que especifica o mínimo de 8% de proteína em pólen desidratado. Medeiros (2017) analisou 54 amostras de pólen do Rio Grande do Norte, obtendo resultados entre 13,3 a 25,59% de proteínas. Nogueira (2012) em seu estudo com oito amostras de pólen comerciais adquiridos em Bragança (Portugal) obteve resultados entre 12,5 a 25,50% (com média de 20,30%) de proteína, enquanto que Lilek *et al.* (2015), Melo (2015) e Sattler e Almeida-Muradian (2016) encontraram valores de 13,0 a 22,90%, 7,90 a 33,9% e 12,30 a 26,8%, respectivamente. Pode-se observar que o pólen em estudo tem um dos requisitos para ser considerado de boa qualidade proteica, pelo elevado teor encontrado.

O teor de carboidratos encontrado foi de 51,67%, o que era esperado, pois a maior parcela dos carboidratos do pólen é originada do néctar ou do mel, em que há a mistura destes compostos com o pólen pelo manuseio das abelhas, formando o líquido

que facilita a agregação das bolotas de pólen (Human; Nicolson, 2006). Medeiros (2017) observou concentrações de 66,97 a 81,11 de carboidratos em pólen comercial, valores maiores que o deste estudo. Lilek *et al.* (2015) encontraram valores entre 54,94 a 82,83 em pólen da Eslovênia. Martins (2010) observou que nos carboidratos do pólen destacam-se os açúcares redutores, glicose e frutose, em média 34g/100g de carboidratos, o que corrobora com os valores altos dos sólidos solúveis.

O teor de lipídios do pólen analisado foi de 6,49%, valores maiores que o estudado por Araújo (2014), que obteve 1,84% em pólen da Bahia e Sergipe com indicação monofloral. Rebelo, Ferreira e Carvalho (2016) estudou pólen proveniente de Manaus, e encontrou resultados entre 10,81% e 6,47% de lipídios. Lopes (2016) obteve valores intermediários com média de 6,44% em pólen de vários estados (São Paulo, Ceará, Piauí e Santa Catarina), sendo o único parâmetro em que não houve diferença significativa entre as amostras, e, mais precisamente 6,57% para amostra oriunda do Trairí -CE, portanto, valores próximos ao deste estudo. Todas em conformidade com a legislação.

Para cinzas, o valor obtido foi de 3,48%, em conformidade com a legislação, corroborando com estudo de Araújo (2014) que encontrou o mesmo valor em pólen dos Estados da Bahia e Sergipe. Lopes (2016) que encontrou valores entre 2,59% a 3,46% de teor de cinzas e Rebelo, Ferreira e Carvalho (2016) quantificou cinzas entre 4,03% e 2,74%, para pólen coletado de abelhas *Meliponas* em Manaus. O teor de cinzas em pólen apícola pode revelar práticas inadequadas de coleta e beneficiamento do produto, além de presença de contaminantes (Nogueira *et al.*, 2012).

O valor de pH encontrado no pólen está em conformidade com a legislação. Ferreira (2012) obteve valor de 4,14 e Rebelo, Ferreira e Carvalho (2016) valores menores variando de 3,7 e 3,3, portanto em desacordo com a legislação brasileira. Pinto *et al.* (2012) obtiveram valores intermediários, variando de 4,50 e 5,02 em pólen apícola do Vale da Paraíba.

O pólen, por ser um produto apícola, carrega algumas características do mel, como a quantidade de sólidos solúveis. O valor obtido neste estudo foi de 57,54°Brix, maior do que os valores encontrados em pólen de *M. seminigra* (46,66°Brix) nos estudos de Rebelo, Ferreira e Carvalho (2016). Esses valores de sólidos solúveis se apresentam próximos de valores de produtos como, por exemplo, algumas geleias, biscoitos doces etc., potencializando assim o uso do pólen para fins alimentícios especialmente doces. Em estudo realizado por Rodrigues (2013) com polpa de kiwi

adicionada de extrato aquoso de pólen, os valores de sólidos solúveis para polpas com pólen resultaram em valores maiores de °Brix (17°B) quando comparadas com as polpas sem pólen (15°B), diferindo significativamente entre si, evidenciando que o pólen conferiu maiores teores sólidos solúveis.

O valor de acidez livre encontrado neste estudo foi de 202 mEq/Kg, portanto de acordo com o que preconiza a legislação brasileira (máximo 300 mEq/Kg). Este resultado representa um pólen de qualidade, pois não sofreu processos fermentativos que elevassem o valor da acidez livre, reforçando que mesmo com teor de umidade acima do previsto na legislação, não houve prejuízo da qualidade. Barreto *et al.* (2005) encontraram valores médios de 202 mEq/Kg e Pinto *et al.* (2012) 97,5 mEq/Kg. A acidez livre média encontrada por Martins (2010) variou de 105,3 a 609,9 mEq/Kg em 42 amostras de pólen apícola e Almeida *et al.* (2012) estudando o pólen da região de Pombal, BA, encontraram valores entre 399 e 651 mEq/Kg de acidez livre, valores superiores aos deste estudo e fora dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. É importante ressaltar que os ácidos orgânicos presentes nos alimentos influenciam na manutenção da qualidade dos alimentos (Ferreira, 2012).

4.2 Análise Polínica

Foram encontrados 12 tipos polínicos e os resultados indicam que o pólen tem origem heterofloral, com predominância da família Plantaginaceae, tipo polínico *Scoparia*, seguido da Família Arecaceae, tipo polínico *Cocos nucifera* e Família Fabaceae, tipo *Mimosa Pudica* (Tabela 14). O pólen do tipo *Scoparia* tem formato esferoidal, tamanho muito pequeno e característica isopolar e o pólen do tipo *Cocos* tem formato alongado, mas pode-se apresentar triangular, tamanho maior e mais fácil de ser identificado, e característica heteropolar (Figura 9) (RPOL, 2023). Pode-se concluir que Plantaginaceae, Arecaceae e Fabaceae são as fontes polínicas primárias para *Apis mellifera* em Trairí, seguido por Rubiaceae.

Esses dois tipos polínicos representam plantas com potencial apícola, sendo consideradas plantas altamente poliníferas (Lima, 2008; Matos, 2012). Alves (2013) realizou estudos palinológicos com pólen de Sergipe e verificou que os grupos que não sofreram interferência climática de forma direta foram *Cocos nucifera*, *Mimosa arenosa*, *Mimosa misera*, *Mimosa pudica/sensitiva* e *Myrcia*.

Figura 9 – Identificação botânica do Pólen do Trairí em escala de 20µm



Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Em estudo realizado por Melo (2015), com 69 amostras de pólen apícola produzidas e beneficiadas em nove Estados brasileiros, apontou maior incidência dos tipos polínicos *Cocos nucifera* e *Mimosa caesalpinifolia*. Enquanto o *C. nucifera* representou o grupo de pólen dominante - PD (mais de 45% do total de grãos de pólen contados), a *M. caesalpinifolia* representou sua presença no grupo de pólen acessório - PA (16 a 45% do total de grãos de pólen contados). Essa classificação de grupos é baseada em critérios internacionais de acordo com os elementos morfológicos, microscópicos e estrutura dos grãos (ESALQ, 2017).

A *Scoparia* é considerada uma planta que tem propriedades medicinais, muito utilizada para tratamento de problemas respiratórios, como asma e bronquite. É conhecida popularmente como Vassourinha, uma erva perene distribuída em regiões tropicais e subtropicais (Ferreira *et al.*, 2020). É uma planta herbácea anual, reproduzida por sementes, de caule sublenhoso na base, ereto até 80cm de altura, amplamente ramificado com ramos ascendentes, em estrutura que permite seu uso como “vassoura” (Ferreira *et al.*, 2020)

Em estudo realizado por Alves (2013) com pólen de Sergipe, o tipo polínico *Cocos Nucifera* foi encontrado em todas as amostras e sempre em alta representatividade tanto no monossulcado (quando apresenta uma abertura na exina) como formas tricotomossulcadas (quando apresenta três aberturas na exina). Esse tipo polínico é esperado na amostra de Trairí, pois as abelhas visitam a área litorânea que é repleta de coqueirais e palmeiras. A espécie *Cocos nucifera* é muito constante em pólen

apícola da região Nordeste, principalmente em estados que tem litoral, pode-se dizer que a planta contribui de maneira concreta para a apicultura da região.

Tabela 14 – Espectro polínico das amostras de pólen apícola do Trairí. Dados de frequência (%), $n \geq 500$ grãos de pólen.

Família	Tipo Polínico	Amostra Trairí (%)
Plantaginaceae	<i>Scoparia</i>	36,38
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i>	19,26
Fabaceae	<i>Mimosa pudica</i>	18,09
Fabaceae	<i>Mimosa misera</i>	9,53
Indeterminado 1	--	4,67
Plantaginaceae	<i>Plantago</i>	3,89
Rubiaceae	<i>Richardia</i>	3,31
Indeterminado 2	--	1,18
Commelinaceae	<i>Tipo Monocotiledônea</i>	0,97
Anacardiaceae	<i>Schinus</i>	0,58
Rubiaceae	<i>Borreria</i>	0,39
Urticaceae	<i>Crecopia</i>	0,39
Indeterminado 3	--	0,39
Asteraceae	<i>Mikania</i>	0,39
Solanaceae	<i>Tipo Solanaceae</i>	0,39
Malvaceae	<i>Triumfetta</i>	0,20

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

A *Mimosa pudica* é conhecida como planta “dormideira”, ou “sensitiva” nativa da América Central e do Sul, difundiu-se em áreas tropicais, como no Brasil. Na maior parte das plantações ao ar livre são consideradas plantas daninhas, e demonstram alta capacidade invasiva e normalmente formam pequenos arbustos rasteiros e as folhas se fecham ao serem tocadas (Tavares, 2012). O extrato de *M. pudica* é muito utilizado em alguns países no tratamento de cefaleia, enxaqueca, insônia, diarreia, desintéria, febre e hemorróidas. A caracterização fitoquímica de *M. pudica* mostra a presença de taninos, esteroides, alcaloides, triterpenos e flavonóides glicosilados, C-glicosilflavonas (Bum *et al.*, 2004).

Muitos estudos têm sido realizados sobre a alergenicidade do pólen. Segundo Taketomi (2006), no Brasil, as plantas da família Poaceae são as principais relacionadas às reações alérgicas e a espécie *Lolium multiflorum* é a principal gramínea causadora de polinose (doença alérgica provocada pelos grãos de pólen). Pode-se verificar neste estudo que não foram encontrados família deste tipo polínico e em diversos trabalhos não foram encontradas referências à alergenicidade dos tipos polínicos majoritários citados neste estudo. Dessa forma, o consumo do pólen não ocasionaria risco à saúde caso fosse consumido, possibilitando a utilização no desenvolvimento de produtos alimentícios.

4.3 Determinação do Perfil de aminoácidos do Pólen Apícola

Dezenove aminoácidos foram encontrados na amostra de pólen, dentre eles nove aminoácidos essenciais e dez aminoácidos não essenciais. Dentre os aminoácidos essenciais estão a leucina, lisina e fenilalanina, encontrados em maior quantidade. Triptofano e metionina foram encontrados em menor quantidade; valina, treonina, isoleucina e histidina em quantidades intermediárias (Tabela 15). Alimentos que tem proteína de alto valor biológico apresentam todos os aminoácidos essenciais em quantidade e porções ideais para atender as necessidades orgânicas, portanto, o pólen atingiu esse requisito, uma vez que todos os aminoácidos essenciais estão presentes na amostra.

Em relação ao padrão FAO (mg de aminoácido/g de proteína), todos os aminoácidos estão com valores acima ou igual ao recomendado, com exceção da fenilalanina, lisina e metionina, considerados os aminoácidos limitantes deste estudo.

Dentre os aminoácidos não essenciais, não foi encontrada a asparagina, enquanto a prolina foi encontrada em maior quantidade, seguido do ácido glutâmico, aspártico, arginina, alanina, serina, glicina, tirosina, cistina e hidroxiprolina.

Tabela 15 – Composição de aminoácidos essenciais do pólen apícola.

Aminoácidos	g de aminoácidos/g de produto (pólen)	mg de aminoácido/g de proteína	Padrão FAO (mg de aminoácido/g de proteína)	Escore químico
Essenciais	Histidina	0,79	32	1,7
	Isoleucina	0,98	40	1,4
	Leucina	1,68	68	1,0
	Lisina	1,35	55	0,9
	Metionina	0,42	17	0,7
	Fenilalanina	1,16	47	0,7
	Triptofano	0,37	15	1,4
	Treonina	1,09	44	1,3
	Valina	1,16	47	1,3
Não essenciais	Ác. Aspártico	2,1	85	-
	Ác. Glutâmico	2,3	93	-
	Serina	1,15	47	-
	Glicina	1,15	47	-
	Prolina	2,34	95	-
	Alanina	1,42	58	-
	Cistina	0,32	13	-
	Tirosina	0,96	39	-
	Arginina	1,58	64	-
	Hidroxiprolina	0,10	4	-

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

(-) Para aminoácidos não essenciais, não há padrão para FAO nem escore químico.

O estudo com pólen de diferentes países realizado por Gardana *et al.* (2018), resultou na identificação de vinte aminoácidos. O perfil de aminoácidos de pólen provenientes da Espanha, Itália e Colômbia, apresentou maior quantidade de histidina

(0,68mg/g de pólen); leucina (1,26mg/g) e leucina (1,34mg/g), respectivamente (dentre os aminoácidos essenciais), e prolina (19,8mg/g) (dentre os aminoácidos não essenciais) para os três países. Os valores encontrados para os aminoácidos essenciais por Gardana *et al.* (2018) estão abaixo daqueles encontrados neste estudo, porém, a leucina foi o aminoácido essencial em maior quantidade em ambos os estudos, exceto para o pólen da Espanha. Em contrapartida, a prolina foi identificada em maior concentração, se comparada com o presente estudo nos três países (19,8mg/ g de pólen da Colômbia; 17,5mg/g de pólen da Itália e 16,2mg/g de pólen da Espanha), assim como neste trabalho.

Em amostras de pólen da Arábia Saudita, dezoito aminoácidos foram identificados. O valor encontrado de leucina foi de 12,90mg/g, de isoleucina 7,20mg/g, 9,95mg/g de valina para pólen de origem de plantações de alfafa. Triptofano e Metionina também foram identificados em menor quantidade, 1,21mg/g e 0,71mg/ g respectivamente, porém, valores maiores aos deste estudo (Taha, Al-Kahtani e Taha, 2019). Para os aminoácidos não essenciais, as maiores concentrações estão representadas pelo ácido glutâmico (18,40mg/g), ácido aspártico (16,46mg/g), diferindo-se aos valores encontrados neste estudo, visto que a Prolina se destacou.

Em estudo de Hassan (2011) em que se coletou pólen apícola de palma de origem egípcia, foram identificados dezessete aminoácidos, oito essenciais e nove não essenciais. As quantidades de aminoácidos foram superiores aos encontrados neste estudo. Para leucina (33,4mg/g), lisina (29,5mg/g), valina (18,1mg/g), coincidindo com a tendência de valores maiores para leucina e lisina. Prolina apresentou menor quantidade (2,8mg/g), e ácido aspártico em maior quantidade (35,5mg/g).

Dezessete aminoácidos foram encontrados em amostras de pólen provenientes da Polônia, incluindo todos os aminoácidos essenciais (lisina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, valina e treonina), com exceção do triptofano. Este aminoácido foi decomposto durante a hidrólise ácida de amostras de pólen (Szcześna, 2006). Neste mesmo estudo, a cisteína foi encontrada na concentração de 1 mg/g em todas as amostras de pólen. Ácido glutâmico, ácido aspártico e prolina foram encontrados na concentração mais alta, em que o teor de ácido aspártico variou de 12,52 a 30,22 mg/g, com média de 22,49 mg/g; o teor de ácido glutâmico variou de 12,87 a 29,25 mg/g, com média de 23,16 mg/g e teor de prolina variando de 11,39 a 28,79 mg/g, com média de 21,93 mg/g. Nota-se que os valores mínimos se aproximam dos valores encontrados no presente estudo.

A composição de aminoácidos pode definir o valor nutricional do pólen com maior precisão do que o teor de proteína, uma vez que o valor nutricional é reduzido quando quantidades inadequadas de aminoácidos essenciais estão presentes. Geralmente, o pólen contém todos os aminoácidos essenciais, mas as quantidades podem variar entre espécies de plantas (De Groot, 1953; Cook *et al.*, 2003, Hassan, 2011).

4.4 Determinação de compostos bioativos (compostos fenólicos e atividade antioxidante por ABTS)

4.4.1 Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos apresentou valor de 2,25 mg EAG/g de pólen (Tabela 16). O valor encontrado de compostos fenólicos deste estudo pode ser considerado baixo, quando comparado com estudo de Menezes *et al.* (2010) que analisaram 23 amostras de pólen apícola originados do litoral norte da Bahia, encontrando valor médio de 33,34 mg EAG/g de pólen, com predominância do tipo polínico *Mimosa pudica*. No mesmo estudo, para o tipo polínico *Eucalyptos*, os valores médios encontrados foram de 67,83 mg EAG/g de pólen, valores considerados acima da média dos valores encontrados na literatura sobre o assunto. Rocha (2013) coletou pólen da região de Trás-os-Montes, Portugal, e verificou concentrações de 32,64 a 47,47 mg de EAG/g de pólen apícola, também valores acima do encontrado em outros estudos.

Tabela 16 – Compostos Bioativos do Pólen Apícola

Componentes	Pólen apícola desidratado Trairí (extrato etanólico)
Compostos Fenólicos (mg EAG. g ⁻¹) ¹	2,25± 0,54
Flavonoides totais (mg EQ. g ⁻¹) ²	61,19 ± 2,08
ABTS (µmol de Trolox/g)	19,99 ± 0,86
DPPH (% captura)	6,02 ± 0,02

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

¹EAG – equivalente grama de ácido gálico;

²EQ – equivalente grama de quercetina.

De-Melo *et al.* (2016) encontrou em pólen do apiário de São Paulo, valores de 9,2 a 19,7 mg de EAG/g de pólen para amostra submetida a método de secagem por forno elétrico e valores de 10,7 a 21,4 mg de EAG/g de pólen liofilizado. Carpes *et al.* (2007) encontraram valores médios de 30,77 mg de EAG/g de pólen e Kaškonienė *et al.* (2015) obtiveram valores entre 14,2 a 26,8 mg de EAG/g de pólen.

Em estudos de Ketkar *et al.* (2014) com pólen apícola monofloral de mostarda, mostrou uma concentração média de fenólicos totais de $18,29 \pm 0,374$ mg de EAG/g, e pesquisas do grupo de Féas *et al.* (2012) sobre o pólen de abelha relacionado com 9 espécies de plantas no Parque Natural do Douro Internacional mostrou um conteúdo fenólico total (12,9-19,8 mg de EAG/g).

4.4.2 Flavonoides Totais

O teor de flavonoides totais expressos em mg de quercetina/g de pólen apícola resultou em 61,19mg, quantificados através de uma curva padrão de quercetina.

Menezes *et al.* (2010) encontraram valores que variaram de 0,62mg a 2,51mg em 34 amostras de pólen com provenientes do tipo polínico *Mimosa pudica* e *Eucalyptus*, em que os maiores teores de flavonoides foram encontrados nas amostras provenientes do tipo polínico *Eucalyptus* (1,55mg a 2,5mg). Para o tipo *M. pudica*, os valores variaram entre 0,72mg a 1,68mg.

Arruda (2013) encontrou teores de flavonoides variando de 1,90 a 36,85mg de quercetina em pólen de diversas regiões do Brasil, em que numa mesma região houve uma variação significativa, demonstrando que a origem botânica influencia fortemente nos resultados de flavonoides. O pólen apícola é uma mistura de grãos de pólen de diferentes origens botânicas, cada uma tendo características próprias em relação a fonte de flavonoides totais. No estudo de Arruda (2013), foi confirmada a diversidade de plantas que foram utilizadas pelas abelhas como fonte polinífera, sendo os dominantes os seguintes: *Cocos nucifera*, *Mimosa scabrella*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Eucalyptus*, *Myrcia*, *Asteraceae*, *Poaceae*, *Euphorbiaceae* e *Brassica sp.*

Carpes (2008) em seu estudo com pólen apícola produzido na região Sul do Brasil, os valores médios obtidos de flavonoides foi de 8,83mg de quercetina por grama de pólen. O autor afirma que as amostras continham uma mistura de diferentes espécies florais, portanto, heteroflorais, com exceção de apenas uma amostra. Nos Estados do

Paraná e Santa Catarina, o tipo *Eupatorium* (Asteraceae) apareceu em 50% das amostras, enquanto no Rio Grande do Sul o tipo *Elephantopus* esteve presente em 80% das amostras. Claramente os flavonoides estão estreitamente relacionados com a região visitada pelas abelhas e tem grandes diferenças ambientais, portanto apresentando diferentes teores de fenólicos nas diferentes regiões do Brasil.

Kaškonienė *et al.* (2015) realizaram estudo com pólen e obteve valor médio de 4,0 mg de quercetina por grama de pólen, em 14 amostras analisadas da Região Báltica, com variações de mínimo 2,7 e máximo de 5,2. Mărghițaș *et al.* (2009) determinaram 0,6-13,6 mg/g no estudo do pólen apícola romeno, em que se pode observar uma maior variação neste último estudo em relação ao citado anteriormente.

Vasconcelos *et al.* (2017) obtiveram valores de flavonoides totais de 23,13 a 45,62 mg de quercetina por grama de pólen com coeficiente de variação alto, em 30 amostras pólen de regiões consideradas boas produtoras de Alagoas - Mata Atlântica, Costa Sul e Caatinga. Dentre os tipos polínicos predominantes estão a Família Mimosaceae e Fabaceae.

4.4.3 Atividade Antioxidante via ABTS

O método ABTS é o mais simples e amplamente divulgado para atestar a atividade antioxidante de alimentos e extratos vegetais por ser estável e solúvel em água e solventes orgânicos, permitindo a determinação da capacidade antioxidante de compostos hidrofílicos e lipofílicos (LeBlanc *et al.*, 2009).

O resultado obtido no pólen apícola do Trairí foi de 19,99 μmol de Trolox/g de pólen. Em estudo realizado por Serafini (2013) com extrato de manjerona e pólen apícola na aplicação em hambúrgueres, observou-se que no extrato de pólen, foi encontrado 120 μmol de trolox/g de atividade antioxidante e utilizou-se 0,3% do extrato para prevenir a oxidação lipídica dos produtos. Os resultados mostraram que o pólen foi efetivo na proteção oxidativa e o índice de aceitabilidade global dos hambúrgueres ultrapassou 70%, enquanto para o extrato de manjerona interferiu negativamente na aceitabilidade e preferência dos provadores da análise sensorial.

A variação dos resultados é justificada pela origem botânica (influência de diferentes composições florísticas) e pela sensibilidade do método a ser utilizado. O extrato liofilizado é mais concentrado do que aquele que não foi, portanto, resultando em maiores valores. Em todos os estudos, o extrato etanólico é mais efetivo e em alguns

estudos há correlação positiva direta entre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

4.4.4 Atividade Antioxidante via DPPH

Os resultados demonstraram que há atividade antioxidante via DPPH, com 6,02% de captura do radical. Silveira e Wobeto (2016) realizaram estudos com pólen apícola do Mato Grosso e constataram que o pólen apresentou 41,31% de atividade antioxidante pelo método do DPPH. Neste mesmo estudo, verificou-se que em comparação ao mel, o pólen obteve valores superiores de compostos fenólicos e flavonoides, porém não houve diferença em relação à capacidade antioxidante.

Jin *et al.* (2018) realizaram estudos com pólen provenientes de *Changbai Mountain* (China) em relação a sua atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro*, e obtiveram valores de 57,42% e 51,99% de capacidade antioxidante, quando o extrato foi aquoso e extrato com metanol, respectivamente, em que o extrato aquoso mostrou melhor resposta. Os autores concluíram que os extratos de pólen fortaleceram a capacidade de atividade antioxidante em diversos mecanismos, tanto nos testes *in vitro* quanto nos testes com camundongos.

Vasconcelos *et al.* (2017) obtiveram valores de atividade antioxidante que variou de 42,35 a 78,58% em amostras de pólen de abelha de diferentes microrregiões, porém do mesmo Estado. LeBlanc *et al.* (2009) observou atividade antioxidante de 75,90% em extrato etanólico em pólen do gênero *Mimosa* originados dos Estados Unidos, obtendo maiores valores quando comparados aos outros gêneros do mesmo estudo.

Leja *et al.* (2007) determinaram a atividade antioxidante no pólen apícola de 12 espécies de plantas e encontraram diferenças substanciais na atividade de eliminação de radicais livres (8,6-91,5% da neutralização do DPPH). Estudos de Mohdaly *et al.* (2015) relacionados com a atividade antioxidante de extrato de pólen e própolis, confirmaram que os efeitos de eliminação de DPPH da solução diluída de extrato de pólen (5µg/mL) foram de aproximadamente 15%. Entretanto, o efeito foi maior para as concentrações mais altas, portanto há relação linear entre a concentração e a capacidade antioxidante, evidenciando que a atividade antioxidante dos extratos é principalmente atribuída à concentração dos compostos fenólicos presentes.

4.4.5 Identificação de Compostos Fenólicos

Os resultados demonstraram que houve identificação de compostos fenólicos no pólen apícola. A avaliação do extrato foi realizada utilizando o modo de ionização ESI negativo, melhor modo para substâncias fenólicas. A busca por substâncias presentes em pólen na literatura permitiu identificar ácido trihidrocinâmico e vários derivados de isoramnetinas como observado na Figura 10 e Tabela 17.

Neste estudo, percebemos a identificação de isoramnetina (isômeros e glicosídeos), e do ácido trihidroxicinâmico (THCA), em que a presença da isoramnetina foi a mais predominante. Em estudos com pólen apícola, foram identificados compostos flavonoides como a quercetina, kaempferol e isoramnetina, sendo na maioria em forma de glicosídeos, principalmente o o-glicosídeo (Ketkar, 2014; Melo, 2015). Através da identificação dos compostos antioxidantes por cromatografia, os flavonoides rutina, quercetina e miricetina são apontados como os mais comuns em pólen apícola (Carpes, 2008).

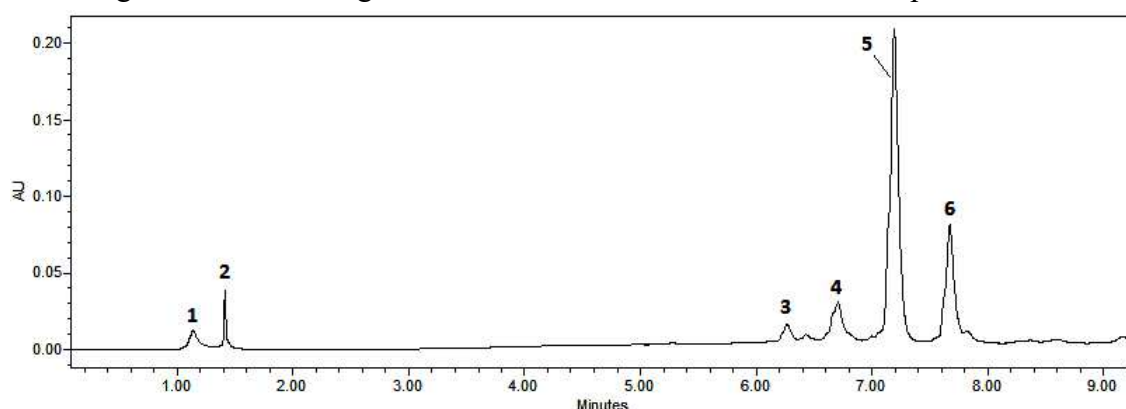
Tabela 17 – Identificação do extrato em modo ESI negativo.

Nº	Nome	Tr	Comprimen-to de onda	[M-H] ⁻ obs	Lit
1	Ácido trihidroxicinâmico	1.13	334, 264	195	1
2	Não reconhecido	1.40	260	933	-
3	Isômero isorhamnetina-O-(O-dirhamnosil) glicosídeo	6.13	354, 254	769	1
4	Isômero isorhamnetina-O-(O-dirhamnosil) glicosídeo	6.71	354, 254	769	1
5	Glicosídeo isorhamnetina-O-(O-dirhamnosil)	7.18	354, 254	623	1
6	Isorhamnetina-O-(-O-ramnosil acetil) glicosídeo	7.67	355, 253	665	1

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Martins (2010) observou a presença de isoramnetina em pólen de São Paulo e da Bahia. Vários estudos têm demonstrado que a isoramnetina tem uma ampla gama de efeitos farmacológicos em doenças cardiovasculares e uma variedade de tumores e possui o potencial de prevenir doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (Gong *et al.*, 2020; Li, Wang e Du, 2011; Jaramillo *et al.*, 2010).

Figura 10 – Cromatograma em Uv-Vis, a 350 nm, do extrato de pólen.



Fonte: Elaborado pela autora.

O estudo de Park *et al.* (2021) determinou que o THCA melhorou a inflamação das vias aéreas em um quadro alérgico asmático, podendo ser um valioso adjuvante ou terapêutico na prevenção ou tratamento da asma alérgica.

4.5 Análise Microbiológica do Pólen Apícola

Conforme os parâmetros utilizados como referência para grãos, o pólen apícola demonstrou valores abaixo dos limites estabelecidos, estando apto para o consumo humano (Tabela 18). Verifica-se no pólen desidratado, a ausência de *Salmonella* sp e *E. coli.*, e presença de Bolores e Leveduras. Ressalta-se que está abaixo da legislação brasileira, que estabelece o máximo de 10^4 UFC/mL para Bolores e Leveduras. Estevinho *et al.* (2012) analisaram a qualidade microbiológica de pólen apícola desidratado de Portugal e detectaram bolores e leveduras em 60% das amostras, com contagem variando $2,8 \times 10^3$ a $7,6 \times 10^2$ UFC/g.

Segundo Franco e Landgraf (2008), contagens de fungos em alimentos acima de 10^5 UFC/g podem apresentar risco de intoxicação humana, devido a presença de

micotoxinas, o que confirma que o pólen pode ser utilizado para fins alimentícios, visto que apresentou valores seguros por não promover a produção de micotoxinas.

Tabela 18 – Resultados microbiológicos do Pólen Apícola

Análises	Resultados
<i>Salmonella</i> sp./25g	Ausência
<i>E.coli</i> (UFC/ml)	<10
Bolores e Leveduras (UFC/ml)	3,4 x 10 ²

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Zuluaga-Domínguez; Serrato-Bermudez e Quicazán (2018) encontraram bolores e leveduras em pólen da Colômbia, com diferentes temperaturas de secagem (40°C, 50°C e 60°C), em que a temperatura de secagem de 60°C foi considerada a melhor, pois reduziu o crescimento de bolores e leveduras, porém, a essa temperatura compostos bioativos que são de extremo interesse, podem sofrer degradação, o que não é desejado.

4.6 Conceito do Produto

4.6.1 Questionários - Formulários on-line

Foi realizada uma pesquisa com consumidores através de plataformas digitais e redes sociais, sobre um novo produto à base de pólen apícola, em que 128 participantes responderam primeiro o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e depois as perguntas pertinentes sobre o perfil dos participantes, em que havia ilustrações para que o respondente tivesse a possibilidade de conhecer a matéria-prima (Figura 11), conforme APÊNDICE A.

Figura 11 – Imagem do Pólen apícola apresentado no Formulário on-line



Fonte: <https://camomilacuritiba.com.br/produto/polen-apicola-desidratado-100g-natuflora/>

A faixa etária da maioria dos participantes (52,3%) foi de 30 a 39 anos, de gênero feminino, com pós-graduação completa. 90,6% dos participantes, ao ler sobre a descrição da matéria-prima e visualizar a imagem, responderam que “sim”, que consumiriam esse produto. A maioria consumiria o produto com iogurte, suco ou leite. Sobre a afirmação das propriedades nutricionais do pólen, e o questionamento se consumiria o produto, 97,7% responderam que sim.

Tabela 19 – Perfil dos participantes da pesquisa on-line (n = 128)

Dados	Classes	%
Sexo	Feminino	62,5
	Masculino	37,5
Idade	30 – 39 anos	52,3
	20 – 29 anos	24,2
Escolaridade	Pós-graduação completa	39,8
	Ensino superior completo	26,6

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

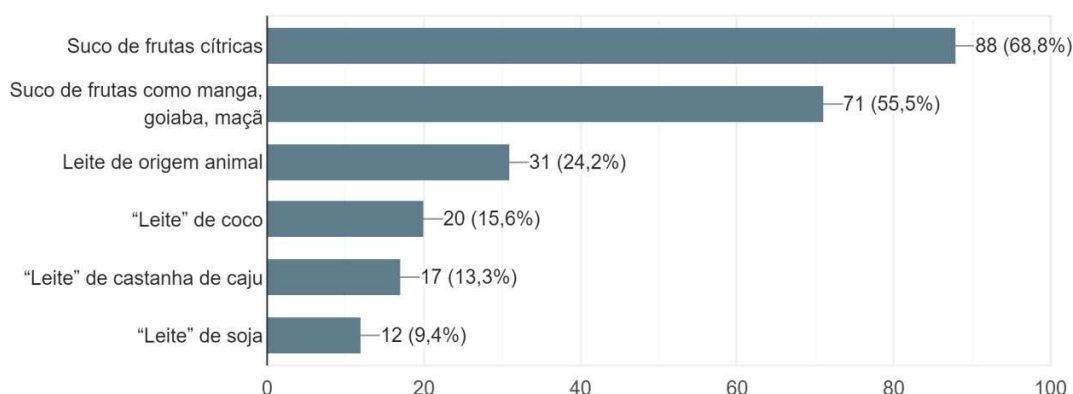
Sobre o consumo de grãos, sementes e cereais, aveia (78,1%) e granola (66,4%) se sobressaíram nas repostas dos participantes, indicando um bom consumo desses alimentos e uma possível aceitação do pólen, já que é um grão (Figura 12).

Figura 12 – Você consome quais itens abaixo?

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

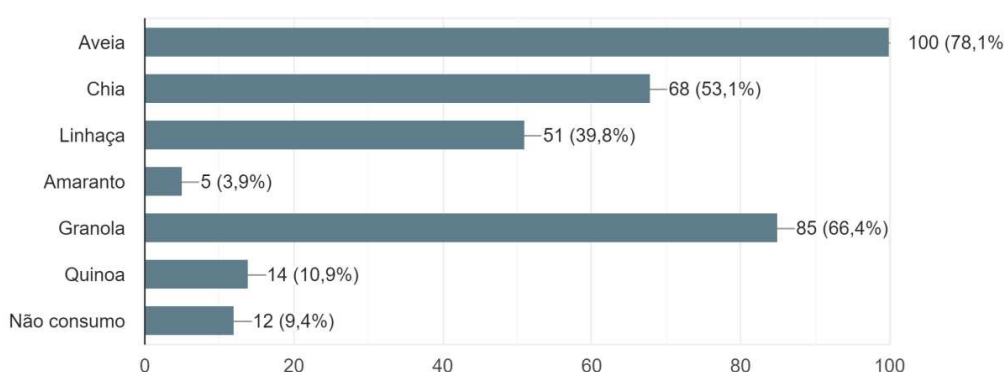
Quando questionados se consumiriam uma bebida à base de pólen, 80,5% responderam que “sim”. Em relação a opção de itens que pudessem compor essa bebida, sucos de frutas e leite de origem animal foram os mais citados, seguidos de leite de coco (Figura 13). Em relação ao momento de consumo da bebida, a maioria indicou o lanche da manhã, seguido do lanche da tarde, ou seja, para refeições não se cogita o consumo de pólen apícola.

Figura 13 – Quais dos itens abaixo você gostaria que tivesse na bebida?



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

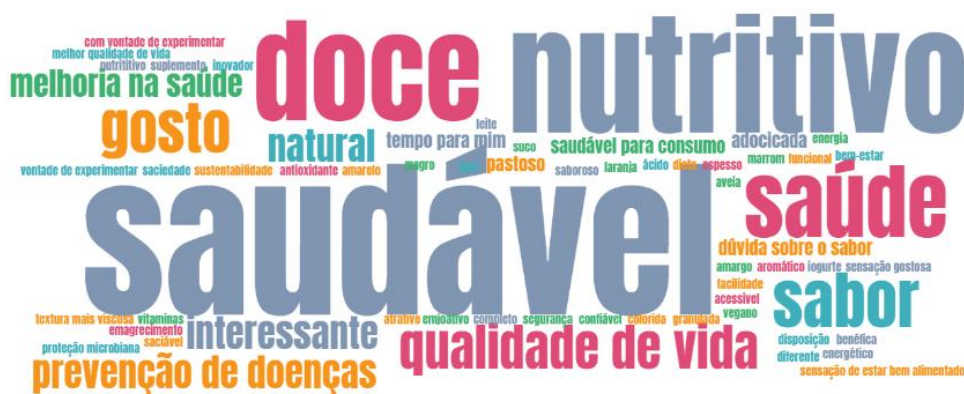
60,9% dos participantes frequentam a academia regularmente. Quando



questionados sobre preferência entre bebidas, 70% preferiam uma bebida com alegação proteica a uma bebida tradicional e quando questionados se preferiam uma bebida com alegação proteica ou uma bebida rica em compostos antioxidantes, 61% prefeririam esta última. Os dados dos questionários indicaram que os consumidores estão dispostos a experimentar novos produtos, mesmo que eles não conheçam, e forneceram

informações de extrema relevância para a definição dos ingredientes da bebida.

Figura 14 – Nuvem de palavras



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Ao serem solicitados para “escrever de forma espontânea as quatro primeiras palavras, termos, frases, sentimentos ou sensações que vêm a sua mente ao pensar em uma bebida rica em proteínas à base de pólen, sem glúten e com adição de “leite” vegetal”, percebe-se que essa bebida traz uma percepção de saudabilidade, ser nutritiva e doce (Figura 14).

4.6.2 Grupo de Foco

O grupo de foco foi realizado em dois grupos de seis participantes cada, em duas reuniões on-line realizadas separadamente. A maioria dos participantes, do sexo feminino, na faixa etária de 25 anos, com escolaridade superior incompleto (Tabela 20). Afirmaram não conhecem ou nunca ouviram falar de pólen apícola, mas que remete a algo relacionado à abelha.

Em relação ao consumo de produtos considerados saudáveis e naturais, 20% dos participantes afirmaram consumir aveia por gostarem do produto e por trazer benefícios à saúde. A maioria não consome e não costuma comprar esse tipo de produto. Uma participante relatou seu consumo pela manhã. Outro participante relatou que não consome porque não tem disponível na sua residência, e que se tivesse, talvez consumiria, demonstrando que não é ele o responsável pela compra de mantimentos em sua residência.

Tabela 20 – Perfil dos participantes do Grupo de Foco (n = 12)

Dados	Classes	%
Sexo	Feminino	67
	Masculino	33
Idade	Até 25 anos	50
	25 – 30 anos	42
Escolaridade	Ensino superior incompleto	67
	Ensino superior completo	17

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Alguns participantes afirmaram que provavelmente comprariam e consumiriam um produto com pólen apícola em sua formulação por terem curiosidade a respeito do sabor e pelos benefícios que o produto poderia trazer à saúde. Como não conhecem pólen, não sabem se tem gosto doce, salgado ou amargo. Outros participantes não souberam responder se o pólen apícola traria algum benefício à saúde. Apesar da falta de conhecimento sobre o produto, os participantes se mostraram disponíveis para experimentar novos produtos, o importante seria o sabor ser agradável.

A maioria dos participantes considerou nunca ter consumido produtos à base de pólen apícola, geralmente por não serem produtos de fácil acesso, por não encontrarem em supermercados e por não possuírem interesse. Uma participante afirmou ter consumido uma bebida à base de laranja com adição de pólen na composição, em uma ocasião de pesquisa científica, mais especificamente, análise sensorial na universidade.

Outra questão discutida foi quais ingredientes que mais seriam apreciados em uma possível bebida à base de pólen. As respostas variaram entre suco de frutas que fosse apreciada pela maioria das pessoas, como por exemplo, suco de laranja, iogurtes e sorvete, de modo que apresentasse sabor doce e cremoso. Por associação à produtos lácteos, acreditando que seria uma boa combinação com o pólen apícola, os participantes indicaram a característica de cremosidade para a bebida à base de pólen. Essas respostas coincidem com as respostas do formulário on-line, em que se citou sucos de frutas cítricas para compor a bebida. Assim como a indicação de cremosidade e sabor doce para esse produto.

Para a maioria dos participantes, o fato da possibilidade de a bebida à base de pólen trazer benefícios a saúde por se tratar de algo natural, poderia ser um dos fatores determinantes na possível compra do produto. Também seria uma opção caso

estivessem em dieta alimentar e fosse recomendado por profissional nutricionista. A maioria concordou que as situações mais favoráveis para o consumo dessa bebida seria ou no café da manhã ou em um lanche da tarde. Essa resposta também coincide com os resultados dos formulários on-line.

Os participantes concordaram entre si a respeito de preferirem uma bebida rica em proteínas a uma tradicional. Ao ser questionado sobre a preferência de escolha entre uma bebida antioxidante e uma bebida rica em proteínas, não houve consenso, considerando as duas opções válidas.

Em relação a possível embalagem de uma bebida à base de pólen, as opiniões divergiram entre caixinha de suco, embalagem de iogurte e pote de vidro, levantando, ainda, uma questão ambiental, referente a utilização de materiais que pudessem ser reciclados.

Tabela 21 – Principais opiniões citadas pelos participantes

Principais opiniões	Justificativa
Conhecimento sobre o produto	Não conhecem
Consumo	Nunca consumiram
Percepção do pólen como ingrediente	Algo natural, nutritivo
Principais características de uma bebida de pólen	Sabor doce e cremosidade
Motivo para possível consumo de um produto com pólen	Benefícios à saúde e curiosidade
Relação com novos produtos	Disposição para experimentar novos produtos
Relação de escolha entre um bebida tradicional e uma com alegação funcional	Tendência para escolher produtos com alegações funcionais
Sobre a embalagem do produto	Embalagens cartonadas ou de vidro

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

4.7 Formulações das bebidas e possíveis alegações funcionais

Após a definição dos ingredientes e testes com protótipos, as formulações foram definidas. As bebidas foram elaboradas seguindo delineamento fatorial 2² do tipo

composto central rotacional (DCCR) com quatro repetições no ponto central, em que 12 formulações foram produzidas, conforme a Tabela 22.

De acordo com o procedimento que foi decidido, ou seja, a utilização do extrato aquoso do pólen, a alegação proteica para o produto foi inviabilizada, visto que a maior parte da proteína, ficou retida no filtro, conforme Tabela 23.

Segundo a Instrução Normativa nº 75, de 08 de outubro de 2020, a alegação nutricional para “fonte” de proteínas, é de no mínimo 5 gramas para 200mL de produto (porção padrão para bebidas). A alegação para “alto conteúdo” ou “rico” em proteínas, é de no mínimo 10 gramas de proteína para 200mL de produto (BRASIL, 2020).

Neste teste, dois protótipos foram elaborados: um com 10 gramas de pólen e outro com 30 gramas de pólen, sem que a etapa de filtração fosse realizada. Para que o produto tivesse alegação de fonte de proteína, teria que ter no mínimo 30 gramas de pólen em 200mL de bebida. E, no extrato aquoso de pólen, a proteína não foi detectada na análise. Ao ser analisado o retido, confirmou-se que a proteína estava no retido e não passou para o extrato.

Tabela 22 – Formulações das bebidas para 200mL

Formulações	Pólen (g)	Leite de coco (mL)	Mel (g)	Cacau (g)	Água (mL)
B1	3,0%	25%	7%	2,5%	62,5%
B2	3,0%	25%	7%	3,5%	61,5%
B3	5,0%	25%	7%	2,5%	60,5%
B4	5,0%	25%	7%	3,5%	59,5%
B5	2,6%	25%	7%	3,0%	62,4%
B6	5,5%	25%	7%	3,0%	59,5%
B7	4,0%	25%	7%	2,3%	61,7%
B8	4,0%	25%	7%	3,7%	60,3%
B9 (C)	4,0%	25%	7%	3,0%	61,0%
B10 (C)	4,0%	25%	7%	3,0%	61,0%
B11 (C)	4,0%	25%	7%	3,0%	61,0%
B12 (C)	4,0%	25%	7%	3,0%	61,0%

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

A partir de então, a bebida com pólen, leite de coco, cacau e mel teve foco em alegação de propriedades antioxidantes e nutricionais, mas não alegação proteica.

Tabela 23 – Determinação de Proteínas (%)

Amostra	% Proteína
Pólen apícola	24,6
Amostra 1 (10g de pólen)	0,49
Amostra 2 (30g de pólen) (fonte de proteína)	5,75
Extrato aquoso macerado, cozido e filtrado puro	< 0,10
Retido do filtro	10,2

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.8 Caracterização Físico-Química dos Ingredientes

Na Tabela 24, estão dispostos os resultados da caracterização físico-química dos ingredientes.

Tabela 24 – Caracterização Físico-Química do Leite de coco, Cacau em pó e Mel

Componentes	Leite de coco	Cacau em pó	Mel
Umidade (%)	85,9	6,3	18,7
Proteína (%)	1,2	23,1	-
Gordura (%)	10,5	13,2	-
Carboidratos (%)	1,9	49,1	81,3
Cinzas (%)	0,5	8,3	-
Acidez* (%)	1,73	18,5	16,7
pH	4,92	6,87	3,57
Brix	1,7	16	80,0

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

*Para mel, em mEq.

(-) Não obrigatório na legislação

Destaca-se o reduzido teor de gordura do leite de coco, valor abaixo do especificado pela Tabela da TACO (2011), pois, utilizou-se um leite de coco de baixo teor de gordura. A intenção é que o teor de gordura da bebida não ultrapasse os valores

máximos permitidos pela legislação. O cacau demonstra ter consideráveis teores de proteína e gordura, o que pode influenciar na composição centesimal das bebidas, em relação a esses parâmetros. Leite de coco e mel estão de acordo com as legislações correspondentes (Brasil, 2000; Brasil, 2001). O cacau em pó não está contemplado na legislação brasileira, e o teor de umidade máximo permitido para o cacau em pó é de 7,0% para o *Codex Alimentarius* (Codex Alimentarius, 1981).

4.8 Delineamento Experimental – Resultados das análises

Os resultados do delineamento central composto rotacional (DCCR) utilizados para verificar os efeitos das quantidades do pólen e do cacau sobre os sólidos solúveis (°Brix), a viscosidade e o teor de compostos fenólicos estão na Tabela 25.

Tabela 25 – Planejamento experimental e resultados das análises

Formulação	Pólen (g)	Cacau (g)	Pólen (g)	Cacau (g)	Sólidos Solúveis (°Brix)	Viscosidade (Pa.s)	Compostos Fenólicos (mg de EAG/100g de bebida)
	Codificação		Valores reais				
B1	-1	-1	6	5	10,6 ^d	0,01094 ^{ef}	90,29 ^{de}
B2	-1	1	6	7	10,9 ^{cd}	0,00830 ^g	92,42 ^{cd}
B3	1	-1	10	5	13,0 ^a	0,00923 ^{fg}	74,35 ^g
B4	1	1	10	7	12,1 ^{abc}	0,01516 ^a	102,86 ^a
B5	-1,41	0	5,2	6	11,4 ^{bcd}	0,01165 ^{de}	90,30 ^{de}
B6	1,41	0	10,8	6	11,7 ^{abcd}	0,01172 ^{de}	86,60 ^{ef}
B7	0	-1,41	8	4,6	12,6 ^{ab}	0,01093 ^{ef}	84,99 ^f
B8	0	1,41	8	7,4	11,9 ^{abcd}	0,01404 ^{abc}	93,85 ^{bcd}
B9 (C)	0	0	8	6	12,3 ^{ab}	0,01317 ^{abcd}	96,54 ^b
B10 (C)	0	0	8	6	12,2 ^{ab}	0,01257 ^{cde}	92,15 ^{cd}
B11 (C)	0	0	8	6	12,2 ^{ab}	0,01479 ^{ab}	95,75 ^{bc}
B12 (C)	0	0	8	6	12,3 ^{ab}	0,01281 ^{bcd}	91,10 ^{cd}

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Médias com letras iguais na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05\%$)

Na literatura, não há menção de uma bebida com pólen, cacau, leite de coco e mel, portanto, os resultados obtidos fornecem uma tendência de resposta. A partir desses resultados e das características físico-químicas do pólen e do cacau, as análises foram feitas para se escolher produtos com melhores parâmetros.

4.8.1 Sólidos Solúveis (° Brix)

De acordo com a Tabela 26, o pólen parece ter efeito positivo significativo sobre os sólidos solúveis, já que foi significativo a 5% ($p \leq 0,05$). Ou seja, as amostras com maior quantidade de pólen têm uma tendência a ter maior valor de grau Brix. Portanto, para o teor de sólidos solúveis, o pólen teve efeito positivo, enquanto o cacau não teve efeito estatisticamente significativo. O valor R^2 deste modelo é 0,764, o que indica que o modelo explica 76,4% da variância da variável dependente. Os resultados obtidos mostram uma correlação tanto linear como quadrática entre o aumento da quantidade de pólen e da quantidade de sólidos solúveis da bebida.

Tabela 26 – Coeficientes de Regressão Estimados para Sólidos Solúveis

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	GL	p-valor
Média	518,77	325,57		
Pólen (Q)	55,95	22,57	1	0,048
Pólen (L)	-111	44,99	1	0,049
Cacau (Q)	13,85	45,15	1	0,769
Cacau (L)	-14	44,99	1	0,7766
Pólen (L) x Cacau (L)	-0,3	0,23	1	0,23
R^2	0,764			
Equação	$518,77 - 111 * \text{pólen} + 55,95 * \text{pólen}^2 - 14 * \text{cacau} + 13,85 * \text{cacau}^2 - 0,3 * \text{pólen} \times \text{cacau}$			

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Na Tabela 27, pode-se verificar que o F calculado foi menor que o F tabelado (4,39), indicando que o modelo não foi significativo. O modelo parece não estar bem ajustado, porém os erros do modelo são relativamente pequenos ($\sigma = 0,452$).

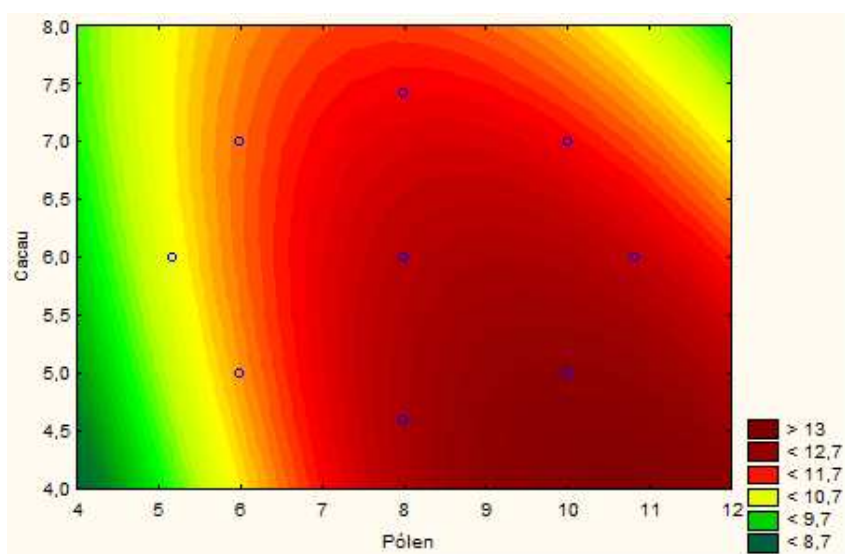
Tabela 27 – ANOVA para a variável Sólidos Solúveis (°Brix)

	SQ	GL	QM	F
Regressão	3,60307	5	0,720614	3,127552
Resíduos	1,38245	6	0,230408	
Total	4,98552	11		

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O gráfico de superfície de resposta da variável sólidos solúveis (°Brix) revela que o ponto ótimo em relação a esse parâmetro, seria uma amostra com menor quantidade de cacau e maior quantidade de pólen (Gráfico 1). O pólen apícola obteve 57,58°Brix, considerado um valor alto, o que pode explicar sua influência nos resultados das formulações.

Gráfico 1 – Superfície de resposta para Sólidos Solúveis



Fonte: Elaborado pela autora (2023)

4.8.2 Viscosidade (Pa.s)

Para a variável viscosidade, a interação entre o cacau e o pólen confirmou efeito significativo, sugerindo que a interação indica uma tendência para o aumento da viscosidade da bebida (Tabela 28). Os fatores isolados, não influenciaram os valores de viscosidade da bebida.

Tabela 28 – Coeficientes de Regressão Estimados para Viscosidade

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	GL	p-valor
Média	-0,46	1,15		
Pólen (Q)	0,09	0,08	1	0,31
Pólen (L)	-0,18	0,16	1	0,31
Cacau (Q)	-0,04	0,16	1	0,81
Cacau (L)	0,04	0,16	1	0,81
Pólen (L) x Cacau (L)	0,0002	0,000	1	0,04
R ²	0,678			
Equação	$-0,46 - 0,180,09 \cdot \text{pólen} + 0,09 \cdot \text{pólen}^2 - 0,04 \cdot \text{cacau} - 0,04 \cdot \text{cacau}^2 - 0,0002 \cdot \text{pólen} \times \text{cacau}$			

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O valor R² deste modelo é 0,678, o que indica que o modelo explica 67,8% da variância da variável dependente, um valor considerado baixo. De acordo com a Tabela 28, apenas a interação pólen e cacau tem efeito estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$).

Na Tabela 29, pode-se verificar que o F calculado foi maior que o F tabelado (4,39), indicando que o modelo foi significativo. Os erros do modelo são relativamente pequenos ($\sigma = 0,002$).

Tabela 29 – ANOVA para a variável Viscosidade

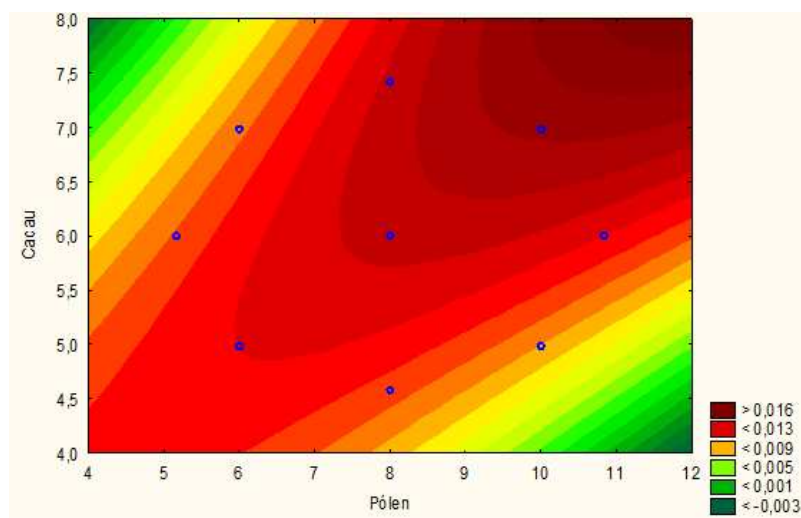
	SQ	GL	QM	F
Regressão	0,000039	5	0,0000078	5,2000
Resíduos	0,000009	6	0,0000015	
Total	0,000048	11		

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O gráfico de superfície de resposta da variável Viscosidade (Pa.s) sugere que o ponto ótimo em relação a esse parâmetro, seria com maior quantidade de cacau, a partir de 8 gramas e quantidade de pólen maior que 12 gramas, valores que estariam fora dos limites das formulações (Gráfico 2). Deve-se ressaltar que os limites máximos de pólen foram definidos para não haver sabor desagradável do produto, portanto, a

possibilidade de elaborar a bebida com 12 gramas de pólen foi descartada.

Gráfico 2 – Superfície de resposta para Viscosidade (Pa.s)



Fonte: Elaborado pela autora (2023)

4.8.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos foram influenciados pela interação entre pólen e cacau, ou seja, nas bebidas com maior quantidade de cacau e pólen, a tendência é que a quantidade de compostos fenólicos seja maior, o que era esperado. Tanto o pólen, como o cacau são ricos em compostos fenólicos e uma maior quantidade deles na formulação, resultaria em maior quantidade da variável em estudo (Tabela 30).

Tabela 30 – Coeficientes de Regressão Estimados para Compostos Fenólicos.

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	GL	p-valor
Média	-3695,93	2574,28		
Pólen (Q)	-4,44	178,49	1	0,981
Pólen (L)	7,5	355,73	1	0,984
Cacau (Q)	637,06	356,99	1	0,125
Cacau (L)	-629,40	355,73	1	0,127
Pólen (L) x Cacau (L)	6,59	1,79	1	0,010
R ²	0,858			
Equação	$-3695,93 + 7,5*\text{pólen} - 4,44*\text{pólen}^2 - 629,40*\text{cacau} + 637,06*\text{cacau}^2 - 6,59*\text{pólen} \times \text{cacau}$			

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Na Tabela 31, pode-se verificar que o F calculado foi maior que o F tabelado (4,39), indicando que o modelo foi significativo. O R^2 foi de 0,858, considerado um valor alto. A matriz alimentícia é bastante complexa, portanto, em uma pesquisa e desenvolvimento de produtos deve-se considerar todos os elementos e conjunto de relações entre as diversas análises.

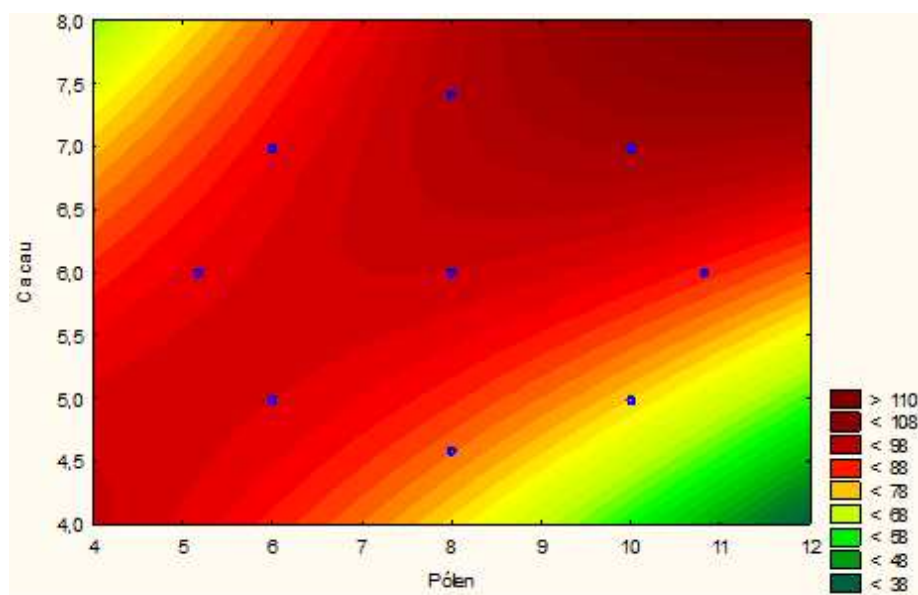
Tabela 31 – ANOVA para a variável Compostos Fenólicos

	SQ	GL	QM	F
Regressão	484,8117	5	96,96234	9,02202
Erro	64,4835	6	10,7473	
Total	539,0285	11		

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Pelo gráfico de superfície de resposta, o ponto ótimo ficaria com a amostra que tivesse a maior quantidade de cacau e pólen (Gráfico 3). O que se tem de limitação são as características sensoriais de um produto com quantidades demasiadas de cacau e pólen. De acordo com os resultados (Tabela 25), as formulações com menores quantidades de pólen, não diferiram das com maiores quantidades em relação aos compostos fenólicos. Porém, quando associadas às maiores quantidades de cacau, o valor da variável aumentou. Isso pode indicar que o cacau tem maior influência na quantidade de compostos fenólicos das bebidas.

Gráfico 3 – Superfície de resposta para Compostos Fenólicos



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.10 Seleção das amostras para a Análise Sensorial

Diante dos resultados, foi possível selecionar quatro formulações para a realização da análise sensorial, considerando a associação das variáveis dependentes. Primeiro, considerou-se o teor dos sólidos solúveis, visto que o consumidor poderia associar a bebida com cacau a achocolatados, que geralmente têm gosto doce. Segundo, foi importante considerar a viscosidade do produto, então as formulações selecionadas correspondem a essa exigência por terem maiores valores. Por fim, foi considerada a quantidade de compostos fenólicos, visto que a bebida tem apelo antioxidante.

De acordo com a Tabela 32, a formulação B4 apresentou maior quantidade de sólidos solúveis (°Brix), assim como as demais formulações (não houve diferença estatística entre elas), com exceção da B1 e B5; maior viscosidade juntamente com as formulações B8, B9 e B11 (não houve diferença estatística entre elas); e maior quantidade de compostos fenólicos ($p \leq 0,05$). A formulação B3 apresentou menor quantidade de compostos fenólicos e valores menores de viscosidade, juntamente com a amostra B2, por isso não foram selecionadas.

A formulação B7 foi escolhida para verificar a reação do consumidor com um produto com menos cacau, visando a aceitabilidade do amargor do produto, mesmo obtendo valores menores de viscosidade e compostos fenólicos. A formulação B8, apresentou viscosidade maior que as formulações B1, B2, B3, B5 e B7 e quantidades

consideráveis de compostos fenólicos.

Tabela 32 – Resultados das variáveis dependentes

Formulação	Cacau (g)	Sólidos Solúveis (°Brix)	Viscosidade (Pa.s)	Compostos Fenólicos (mg de EAG/100g de bebida)
B1	5	10,6 ^d	0,01094 ^{ef}	90,29 ^{de}
B2	7	10,9 ^{cd}	0,00830 ^g	92,42 ^{cd}
B3	5	13,0 ^a	0,00923 ^{fg}	74,35 ^g
B4	7	12,1 ^{abc}	0,01516 ^a	102,86 ^a
B5	6	11,4 ^{bcd}	0,01165 ^{de}	90,30 ^{de}
B6	6	11,7 ^{abcd}	0,01172 ^{de}	86,60 ^{ef}
B7	4,6	12,6 ^{ab}	0,01093 ^{ef}	84,99 ^f
B8	7,4	11,9 ^{abcd}	0,01404 ^{abc}	93,85 ^{bcd}
B9 (C)	6	12,3 ^{ab}	0,01317 ^{abcd}	96,54 ^b
B10 (C)	6	12,2 ^{ab}	0,01257 ^{cde}	92,15 ^{cd}
B11 (C)	6	12,2 ^{ab}	0,01479 ^{ab}	95,75 ^{bc}
B12 (C)	6	12,3 ^{ab}	0,01281 ^{bcde}	91,10 ^{cd}

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Dentre as amostras do ponto central, a formulação B9 não apresentou diferença estatística para quantidade de sólidos solúveis (°Brix), obteve valores de viscosidade maiores que a formulação B10 e maior quantidade de compostos fenólicos que as formulações B10 e B12. Considerando os sólidos solúveis, viscosidade e compostos fenólicos), as formulações escolhidas foram B4, B7, B8 e B9.

4.11 Análise Sensorial

4.11.1 Perfil dos participantes

Os dados do perfil dos participantes estão na Tabela 33. Participaram dos testes 100 provadores não treinados, com predominância do sexo feminino, idade até 25 anos, estado civil solteiro (a) e nível superior incompleto.

Tabela 33 – Perfil dos participantes da análise sensorial

Dados	Classes	%
Sexo	Feminino	54

	Masculino	46
Idade	Até 25 anos	67
	26 – 30 anos	16
Estado civil	Solteiro (a)	85
	Outros	9
Escolaridade	Ensino superior incompleto	58
	Ensino médio	26

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Conforme o esperado, a maioria dos participantes nunca consumiu pólen apícola, visto que sua disponibilidade é mais restrita (Tabela 34). Leite de coco e mel obtiveram os mesmos percentuais, com a maioria dos participantes indicando que consome produtos com esses ingredientes. O cacau, teve o maior percentual de confirmação de consumo, sugerindo que houve associação do cacau ao chocolate.

Tabela 34 – Consumo de produto com os ingredientes: pólen, leite de coco, cacau e mel (Continua)

Consumo de produtos com	Classes	%
Pólen	Sim	11
	Não	89
Leite de coco	Sim	79
	Não	21

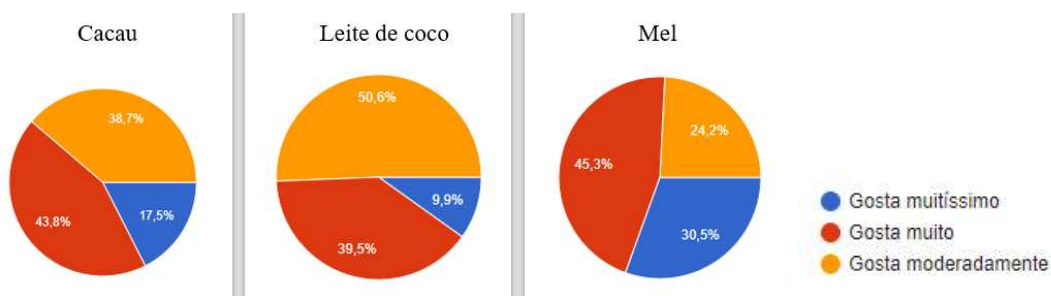
Tabela 34 – Consumo dos produtos com os ingredientes: pólen, leite de coco, cacau e mel (conclusão)

Consumo de produtos com	Classes	%
Cacau	Sim	95
	Não	5
Mel	Sim	79
	Não	21

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Sobre o grau de gostar, a maioria dos provadores indicou “gostar muito” de mel e cacau, e “gostar moderadamente” de leite de coco e pólen (para aqueles que já consumiram) (Figura 15).

Figura 15 – Grau de gostar dos ingredientes.

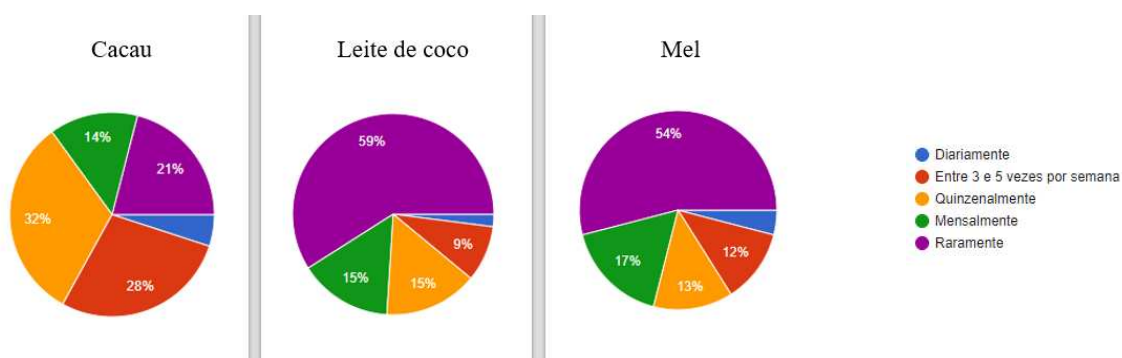


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Sobre a frequência de consumo, os provadores indicaram consumir cacau quinzenalmente (32%) e de 3 a 5 vezes por semana (28%); leite de coco raramente (59%) e mensalmente (15%); mel raramente (54%) e mensalmente (17%) (Figura 16). Nota-se que o consumo existe, mas a frequência de consumo dos ingredientes leite de coco e mel é rara. Esse contexto pode ter impacto nas respostas dos provadores diante do produto. Para os que já consumiram pólen (n=11), a forma de consumo citada foi “*in natura*” (41,7%), seguido de “cápsula” (25%).

Ao serem questionados sobre a motivação de consumo do pólen, a maioria respondeu que seria por curiosidade (55,7%), seguido de benefícios à saúde (35,1%), indicando que os provadores acreditam que o pólen tem esse aspecto funcional. A maioria dos participantes não tem intolerância à lactose, sendo essa restrição apontada por apenas 4 provadores.

Figura 16 – Frequência de consumo dos ingredientes.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.11.2 Associação de palavras

Antes de iniciar a degustação das amostras, solicitou-se que o provador escrevesse, de forma espontânea, as quatro primeiras palavras, termos, frases, sentimentos ou sensações que viessem a sua mente ao pensar em uma bebida à base de pólen apícola, com leite de coco, mel e cacau em pó, e obteve-se os seguintes resultados na Tabela 35, entre parênteses, a frequência das citações.

Os termos mais citados em relação às possíveis características sensoriais desse produto foram “doce/doçura” e “sabor”. Portanto, os provadores esperavam que o produto tivesse essa doçura. Em relação aos termos sobre sentimentos e sensações, os mais citados foram “saudável, saúde”, “diferente” e “curioso/curiosidade”, confirmando que a ideia de saudabilidade tanto do pólen como dos ingredientes leite de coco, mel e cacau existe por parte dos provadores. As frases mais citadas em relação às possíveis características sensoriais desse produto foram “Toque amargo/ligeiramente amargo”, indicando que o provador associou a presença de cacau na formulação a um produto suavemente amargo. Sobre sentimentos e sensações, as frases mais citadas foram “nunca comi /nunca provei” e “algo novo, produto novo”, mostrando que os provadores trataram o produto como novidade e que nunca tinham experimentado essa combinação de ingredientes numa bebida.

Tabela 35 – Palavras, termos, frases e sentimentos citados

Características Sensoriais		Sentimentos/sensações
Termos e palavras	Doce, doçura (37); sabor, saboroso (16); gostoso (a) (14); chocolate, achocolatado (8); amargo (6); energia, calórico (5); cremoso, consistente, pastoso (4); denso (3); delicioso (3); cheirosa (1); aparência (1); amarela (1); muito doce (1); ácida (1).	Saudável, saúde (22); diferente (17); curioso, curiosidade (15); bom (11); interessante (9); inovador (a), novo, novidade (9); nutritivo (8); abelhas (7); agradável (7); estranho, estranheza (5); satisfação, bem-estar (4); dúvida (2); criativo, criatividade (2); benefícios (2); incrível, incredulidade (2); experiência,

		experimental (2); flor, flores (2); medo, apreensão (2); suave (2); maravilhoso (1); aconchego (1); alívio (1); calma (1); natureza (1); felicidade (1); família (1); paz (1); amizade (1); surpresa (1); ruim (1); legal (1); intrigante (1), remédio (1); imunidade (1); diversificação (1); enjoativo (1); bonita (1).
Frases	Toque amargo, ligeiramente amargo (2); gosto forte (1); gosto exótico (1); gosto de coco (1); gosto ruim (1); gosto natural (1); gosto doce (1); cor de chocolate (1); bebida saborizada (1); textura suave (1) aroma agradável (1); muito doce (1); parece ser saboroso (1); marcante gosto amargo (1); aroma adocicado (1); sabor desagradável (1); sabor exótico (1); ingredientes bons (1).	Nunca comi, nunca provei (4); algo novo, produto novo (2); benefícios à saúde (1); por que pólen (1); nova possibilidade (1); rica em vitaminas (1); novas sensações (1); vontade de provar (1); testar paladar (1).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.11.3 Escala Hedônica

Os resultados dos testes sensoriais de aceitação estão dispostos na Tabela 36. Como os resultados não seguiram distribuição normal, foram considerados testes não-paramétricos para avaliar a diferença entre as amostras, e foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. As amostras não apresentaram diferença significativa entre si ($p>0,05$) para todos os atributos analisados.

Tabela 36 – Resultados da análise sensorial das bebidas de pólen

Atributos	Amostras
-----------	----------

	B4	B7	B8	B9
Impressão Global	5,81±2,38 ^a	6,06±2,07 ^a	6,30±2,08 ^a	6,24±2,08 ^a
Aparência	7,15±1,85 ^a	7,11±1,85 ^a	7,30±1,62 ^a	7,26±1,62 ^a
Aroma	5,79±2,17 ^a	6,10±2,01 ^a	5,97±1,88 ^a	6,05±1,97 ^a
Sabor	4,38±2,38 ^a	4,89±2,32 ^a	4,88±2,12 ^a	4,96±2,37 ^a
Doçura	4,46±2,45 ^a	4,98±2,35 ^a	4,83±2,22 ^a	4,75±2,39 ^a
Textura	5,79±2,32 ^a	5,94±2,23 ^a	5,96±2,19 ^a	6,01±2,21 ^a
Atitude de compra	2,33±1,29 ^a	2,47±1,29 ^a	2,55±1,23 ^a	2,58±1,32 ^a

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O atributo Aparência mostrou melhores médias hedônicas, variando entre “gostei moderadamente” e “gostei muito” da escala hedônica. Impressão global, Aroma e Textura, tiveram médias variando de “nem gostei, nem desgostei” (indiferença) até “gostei moderadamente”. Sabor e doçura das formulações ficaram entre “desgostei ligeiramente” e “nem gostei, nem desgostei”, indicando uma rejeição dos provadores. Para atitude de compra, os provadores indicaram “provavelmente não compraria” e “talvez comprasse”.

Os resultados demonstram que os provadores esperavam um produto doce e essa expectativa não foi atendida. O adoçante utilizado nas bebidas foi o mel, com a quantidade máxima para que o produto não fosse considerado “alto teor de açúcar”, segundo a legislação sobre rotulagem. Apesar dos ingredientes terem sido apresentados tanto no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido como na ficha de perfil social, não houve condescendência dos provadores ao indicarem que o sabor e a doçura da bebida não estavam aceitáveis. Alguns provadores comentaram que a bebida estava “amarga demais” e outros que “faltava doçura”.

Devido à aparência do produto ser semelhante a achocolatados, acredita-se que o provador esperava o gosto, sabor e doçura similar ao produto elaborado com leite de origem animal. O mel não foi suficiente para adoçar a bebida a ponto de obter aceitabilidade do consumidor. O mel utilizado tem aproximadamente 80% de açúcar, portanto, uma margem de uso de mel poderia ter sido adicionada.

O aroma do produto parece ter agradado aos provadores, que citaram nos comentários que o produto estava ‘muito cheiroso’, “cheiro muito agradável”, considerando que um ajuste no produto poderia promover sua aceitação nos atributos de sabor e doçura. O sabor tem grande impacto na aceitação de um produto e o fato da

maioria dos provadores não conhecer ou nunca terem consumido pólen, e ainda, consumirem raramente alguns ingredientes, pode ter afetado nos resultados obtidos.

De acordo com os Histogramas de Frequência do Teste de Aceitação (Figura 17), o atributo Aparência acumulou maiores percentuais na zona de aceitação para todas as amostras (pontos 6 – gostei ligeiramente a 9 – gostei muitíssimo), entre 79% e 86%, em que a amostra B8 obteve maior percentual. Para a Impressão Global, os percentuais ficaram entre 59% e 68%, em que a amostra B8 se destacou. Em relação ao Aroma, entre 63% e 68%, nesse atributo, a amostra B7 se sobressaiu. Para os atributos Sabor e Doçura, os percentuais na zona de aceitação foram menores, ficaram entre 36% e 43%, em que as amostras B8 e B9 obtiveram os percentuais de 43% (sabor) e 41% (doçura), respectivamente. O atributo Textura acumulou percentuais entre 56% e 62%, sendo que as amostras B8 e B9 obtiveram os mesmos percentuais, de 62%. Nota-se que a amostra B4, acumulou menores percentuais em todos os atributos, com exceção da Aparência.

Em relação à Atitude de compra, os maiores percentuais ficaram na zona de atitude negativa de compra, entre 54% e 59%, em que as amostras B4 e B7 alcançaram os mesmos percentuais (59%).

O produto foi formulado com ingredientes comerciais em que o leite de coco já apresentava em sua composição, estabilizantes e emulsificantes, portanto, esses aditivos não foram adicionados. Sobre a textura, o produto teve mais aceitação do que rejeição. Apesar das formulações B4, B8 e B9 apresentarem diferenças significativas em relação à formulação B7 na análise de viscosidade, isso não foi motivo para diferenciar a aceitação das amostras.

Figura 17 – Histogramas de Frequência dos resultados do Teste de Aceitação da bebida nos atributos: impressão global; aparência; aroma; sabor; doçura, textura e atitude de compra

Fonte: Elaborado pela autora (2023).



4.11.4 Teste de Ordenação Preferência

Os resultados do teste sensorial de ordenação-preferência estão dispostos na Tabela 37. Pode-se verificar que a amostra B4, diferiu das demais, pois a diferença entre os totais ordenados foi maior que o valor especificado na Tabela de Christensen, para 100 provadores e 4 amostras, a diferença mínima significativa (DMS) entre os totais ordenados deve ser 36.

Pode-se concluir que a amostra B4, foi a menos preferida entre os provadores e que as amostras B7, B8 e B9 foram igualmente preferidas, ao nível de 5% de significância. Esse resultado sugere que a amostra B4, a única com maior teor de pólen (10g), teve um sabor mais desagradável. As formulações B7, B8 e B9 continham a mesma quantidade de pólen (8g) e quantidades diferentes de cacau (4,6g; 7,4g e 6g, respectivamente), porém não teve impacto em relação à preferência dos provadores.

Tabela 37 – Somatório dos julgamentos das bebidas

Amostras	Somas dos Totais Ordenados	Diferença entre os totais ordenados			
		B4	B7	B8	B9
B4	214	-	48*	40*	47*
B7	262	48*	-	8 ^{ns}	1 ^{ns}
B8	254	40*	8 ^{ns}	-	7 ^{ns}
B9	261	47*	1 ^{ns}	7 ^{ns}	-
(DMS)	36				

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

*significativo ao nível de 5%

^{ns}não significativo ao nível de 5%

Pegoraro (2011), elaborou iogurte com adição de pólen apícola (0,6, 0,8 e 1%) e observou-se que a formulação com 1% de pólen recebeu menores médias hedônicas, 5,4 e 5,48, para aroma e sabor, diferindo-se estatisticamente das outras formulações que obtiveram notas de 6,38 a 7,58 para sabor e aroma, lembrando que a porcentagem do pólen na bebida é de 5% para a amostra B4 e 4% para as demais amostras.

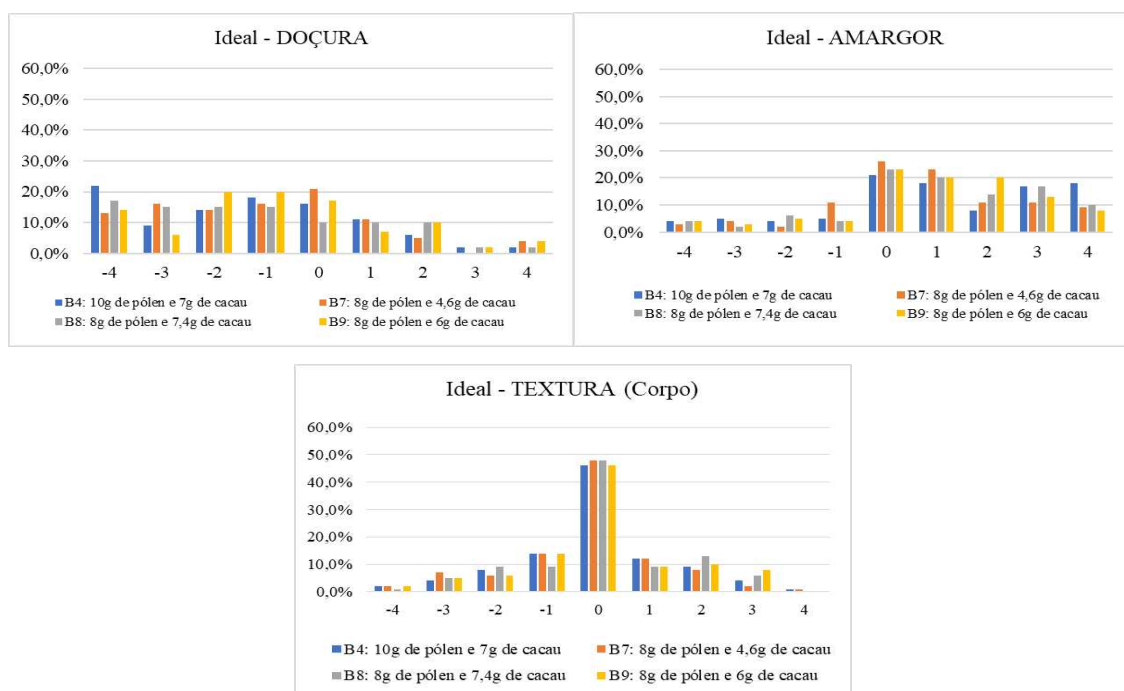
Em estudo realizado por Yildiz e Maskan (2022) com chá verde enriquecido com pólen e mel, verificou-se que menores médias hedônicas para a formulação com maior quantidade de pólen. Treze formulações foram analisadas, e as melhores condições foram observadas na formulação com menor quantidade de pólen.

4.11.5 Teste Escala do Ideal

Os histogramas de frequência dos resultados do Teste da Escala do Ideal para os atributos Doçura, Amargor e Textura (corpo) estão dispostos na Figura 18. Nenhuma das formulações alcançou a idealidade (70%) nos atributos avaliados.

A doçura ficou na faixa “de menor intensidade” de idealidade, ou seja, as amostras estavam menos doces que o ideal. A amostra B4 (10g de pólen e 7g de cacau), apesar de ter maior quantidade de pólen, não conferiu maior sabor doce e a maior quantidade de cacau na formulação, pode ter aumentado a sensação do amargor. Deve-se ressaltar que o pólen tem um amargor inerente. Essa amostra acumulou 22% das respostas no ponto “extremamente menos doce que o ideal”. A amostra B7, formulação com menor quantidade de cacau acumulou 21% na idealidade da doçura, seguida da amostra B9 (17%), depois amostra B4 (16%), e amostra B8 (10%). A amostra B8, com maior quantidade de cacau na formulação, conferiu menos doçura ao produto.

Figura 18 – Histogramas de Frequência da Escala do Ideal para Doçura, Amargor e Textura (Corpo)



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Em relação ao amargor, os provadores perceberam as amostras como “mais fortes que o ideal”. A amostra B7, acumulou 26% na idealidade do amargor, seguida das amostras B8 e B9 (23%), e a amostra B4 com menor percentual, de 21%. A amostra B4 alcançou maiores percentuais no ponto “extremamente mais amargo que o ideal”.

A textura (corpo) das amostras foi mais bem avaliada, se comparada à doçura e ao amargor. As amostras B7 e B8 alcançaram 48% da idealidade, seguidas das amostras B4 e B9, com 46%. De acordo com os histogramas, as amostras tiveram um equilíbrio nos pontos da escala. A amostra B9, teve o mesmo percentual (27%) para os pontos “menos forte” e os pontos “mais forte” que o ideal. A amostra B7, 24% para “menos forte” e 27% para “mais forte”; a amostra B8, 27% para “menos forte” e 23% para “mais forte” e a amostra B4, 28% para “menos forte” e 26% para “mais forte”. Pode-se perceber a tendência para o “menos forte que o ideal” para as amostras B4 e B8, e para a amostra B7, “mais forte que o ideal”.

4.11.6 Teste de Atitude e Opiniões

Ao serem questionados como se identificavam em relação a opções de forma de consumo e até saúde, a maioria dos provadores responderam “Eu como de tudo” (63%). Sobre a prática de atividade física regular, 60% responderam que sim. Essa pergunta foi feita, para saber se praticantes de atividade física poderiam tolerar produtos que não são tão doces, como o produto em estudo. Apenas 5% dos participantes afirmaram ter intolerância alimentar.

Tabela 38 – Escala e porcentagem de respostas para cada termo (informações do produto)

Escala	Afirmativas*			
	1	2	3	4
Concordo Totalmente	24	22	35	34
Concordo	40	35	53	48
Nem concordo nem discordo	31	29	9	12
Discordo	2	10	2	3
Discordo Totalmente	3	4	1	3

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

*1. Sabendo que o pólen é rico em compostos antioxidantes, eu o consumiria.

2. Entre uma bebida tradicional e uma bebida rica em compostos antioxidantes e minerais, eu escolho a bebida rica em compostos antioxidantes e minerais.

3. Essa bebida com pólen, leite de coco, mel e cacau me parece ser saudável.

4. Essa bebida com pólen, leite de coco, mel e cacau me parece ser nutritiva.

Em relação à percepção da bebida, a maioria dos participantes escolheram “Concordo” para o consumo de uma bebida antioxidante, e ainda, que ela parece ser

nutritiva e saudável e que escolheriam uma bebida rica em compostos antioxidantes a uma bebida tradicional (Tabela 38) (em negrito, os maiores valores). Esse resultado, corrobora com a opinião dos participantes do grupo de foco, que consideram os aspectos funcionais dos alimentos decisivos para o consumo.

Tabela 39 – Escala e porcentagem de respostas cada termo sobre interesse em alimentação saudável

Escala	Afirmativas*							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Concordo Totalmente	21	7	3	57	9	2	4	5
Concordo	32	16	22	32	23	22	27	18
Nem concordo nem discordo	36	39	36	8	27	24	22	36
Discordo	10	31	31	3	31	36	32	34
Discordo Totalmente	1	7	8	0	10	16	15	7

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

*5. Eu sou muito preocupado em quão saudáveis os alimentos são.

6. Eu sempre sigo uma dieta balanceada e saudável.

7. É importante pra mim que a dieta seja pobre em gordura.

8. É importante pra mim que minha alimentação diária contenha muitas vitaminas e minerais.

9. Eu como o que eu gosto e não me preocupo com o quão saudável o alimento é.

10. O quão saudável é o alimento tem pouco impacto nas minhas escolhas.

11. Eu não evito nenhum alimento, mesmo aqueles que podem elevar meu colesterol, glicemia, pressão arterial etc.

12. O quão saudáveis os petiscos são, não faz diferença pra mim.

Em relação aos hábitos de alimentação saudável, a maioria dos participantes é indiferente a seguir uma dieta balanceada, ou que haja preocupação com a alimentação e que a dieta não deve ser pobre em gordura (Tabela 39). Quando as perguntas têm a negativa, que “não me preocupo”, “não evito”, “não escolho”, os resultados são preponderantes “discordo”, ou seja, os provadores afirmam que se preocupam com o quão saudável o alimento é, escolho alimentos saudáveis, evito alimentos que possam elevar o colesterol, pressão arterial, glicemia etc. E ainda, que os petiscos devem ser saudáveis.

Foi realizada análise estatística (Teste de Fisher) para verificar se havia alguma relação entre a prática de atividade física e as opiniões relacionadas ao interesse em alimentação saudável (Bloco 2), com o intuito de verificar se pessoas que praticam atividade física estavam em busca de hábitos mais saudáveis, alimentos mais naturais, portanto com possibilidade de tolerar alimentos menos doces. Os resultados estão na

Tabela 40.

Tabela 40 – Resultados do Teste de Fisher para prática de atividade física e alimentação saudável

Pergunta relacionada	Afirmativas	Teste de Fisher (p-valor)
	5	0,3865
	6	0,1268
	7	0,2341
Você pratica atividade física regularmente?	8	0,4032
	9	0,7018
	10	0,6833
	11	0,08865
	12	0,4313

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Pode-se verificar que somente a afirmativa 11, “Eu não evito nenhum alimento, mesmo aqueles que podem elevar meu colesterol, glicemia, pressão arterial etc” foi significativo se considerarmos 1% de nível de significância, ou seja, tem uma relação com a prática de atividade física. Os que não praticam atividade física, concentraram suas opiniões em “nem concordo, nem discordo”, indicando indiferença para a afirmativa, já, para os que praticam atividade física, a maioria “concorda totalmente”. Esse resultado sugere que as pessoas que praticam atividade física têm maior interesse em se prevenir de doenças como diabetes, pressão arterial e aquelas relacionadas com o aumento de colesterol.

Verificou-se se existia relação do Gênero com interesse em alimentação saudável e verificou-se que foi significativa sobre a afirmativa “Eu sou muito preocupado em quão saudáveis os alimentos são”, em que homens e mulheres concentraram as opiniões em “discordo”.

Tabela 41 – Resultados do Teste de Fisher para a característica gênero e alimentação saudável

Característica relacionada	Afirmativas	Teste de Fisher (p-valor)
	5	0,0322
	6	0,5061
	7	0,679
	8	0,2861
Gênero	9	0,8092
	10	0,0861
	11	0,6002
	12	0,7721

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

No Bloco 3, sobre interesse em alimentos novos, a maioria dos provadores, apesar de gostar de comidas de outros países, é seletiva. Sobre considerar a comida étnica esquisita, “nem concordo nem discordo” e “discordo” obtiveram o mesmo número de frequência. Os participantes ficam mais dispostos a provarem novas comidas, quando estão em ocasiões comemorativas.

Tabela 42 – Escala e porcentagem de respostas sobre interesse em alimentos novos

	Afirmativas*									
Escala	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Concordo Totalmente	19	13	4	30	5	12	8	2	14	11
Concordo	39	39	10	52	16	36	32	46	36	41
Nem concordo nem discordo	26	22	38	12	21	27	19	30	19	32
Discordo	13	21	38	4	51	20	36	14	25	13
Discordo Totalmente	3	5	10	2	7	5	5	8	6	3

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

*13. Gosto da comida de diferentes países

14. Sou seletivo relativamente à comida que como.

15. A comida étnica parece esquisita demais pra provar.

16. Em ocasiões comemorativas, experimento comidas novas.

17. Se não conheço os ingredientes de uma comida, não a experimento.

18. Experimento constantemente novos e diferentes alimentos.

19. Receio comer coisas que nunca experimentei.

20. Confio em alimentos novos.

21. Eu sou capaz de comer praticamente tudo.

22. Gosto de experimentar novos restaurantes étnicos.

A maioria discorda sobre não experimentar alimentos, se não conhece os ingredientes, mas 30% concordaram com essa afirmativa. Se considerarmos que o pólen

não é um ingrediente conhecido, esses 30% de provadores podem ter avaliado negativamente a bebida. Sobre receio de comer coisas novas e não confiar em alimentos novos, a maioria apontou “discordo” e sobre comer praticamente tudo e experimentar restaurantes novos, a maioria apontou “concordo”.

Foi analisada a relação entre a idade dos provadores e o interesse em novos alimentos, visto que diante deles, havia um produto novo.

Tabela 43 – Resultados do Teste de Fisher para idade e interesse em novos produtos

Pergunta relacionada	Afirmativas	Teste de Fisher (p-valor)
Idade	13	0,9839
	14	0,8439
	15	0,2841
	16	0,731
	17	0,7959
	18	0,7074
	19	0,05092
	20	0,497
	21	0,3472
	22	0,2459

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Verificou-se que existe relação com a afirmativa 19, “Receio comer coisas que nunca experimentei”, em que menores que 18 anos, apontaram “concordo” para essa afirmativa. Já os provadores com idade de 46 a 55 anos, marcaram “discordo” para receio em comer coisas novas. Nesse ponto, podemos verificar um comportamento com tendência neofóbica (resistência para aceitar algo novo) para os menores de 18 anos e comportamento com tendência neofílica (gostar de experimentar algo novo, gosto pela incerteza), para provadores de 46 a 55 anos.

Sobre o grau de importância de informações sobre a bebida, percebeu-se que a bebida ser zero lactose e não conter açúcar refinado é “Importante” para a maioria dos provadores (Tabela 44). A maioria dos provadores não é intolerante à lactose, mesmo assim essa informação foi considerada importante. Houve indiferença para a maioria dos participantes, em relação à bebida não ter proteína de leite de vaca. Uma explicação para essa escolha, pode ser porque não associaram que a proteína pode

causar alergia em algumas pessoas ou desconhecem essa informação. Sobre a bebida ter compostos antioxidantes, a maioria pontuou como “Importante”, e sobre o produto ter tanto origem animal como vegetal, os participantes consideraram “Muito importante”. Essa informação pode ter passado a impressão de um alimento “completo”.

Tabela 44 – Escala de importância e porcentagem de respostas cada termo - informações do produto

Escala	Afirmativas				
	23	24	25	26	27
Considero Muito importante	24	30	20	39	41
Considero Importante	34	36	24	41	32
Considero Razoavelmente importante	25	20	26	12	16
Considero Pouco importante	12	9	19	7	8
Considero Sem importância	5	5	11	1	3

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

*23Essa bebida é zero lactose.

24. Essa bebida não contém açúcar refinado.

25. Essa bebida não tem proteínas de leite de vaca.

26. Essa bebida tem compostos antioxidantes.

27.Essa bebida tem compostos de origem animal (pólen apícola e mel) e compostos de origem vegetal (leite de coco e cacau em pó).

4.12 Seleção da formulação para otimização

Diante dos resultados sensoriais, percebeu-se a necessidade de realizar um ajuste na doçura e sabor das formulações. Ao se fazer uma busca com bebidas comerciais tradicionais, veganas e funcionais, verificou-se o uso de açúcar demerara como adoçante. Outros adoçantes foram considerados, mas diante da disponibilidade e custo, optou-se pelo açúcar demerara.

Decidiu-se por selecionar uma amostra para seguir com a otimização. A amostra B4, não foi selecionada pois acumulou menores percentuais na zona de aceitação no teste da escala hedônica apesar de não haver diferido das demais amostras e ter obtido menor preferência no teste de ordenação. A amostra B7, obteve maiores valores em relação à idealidade, mas não chegou a ser considerada ideal em nenhum atributo, não foi escolhida por apresentar menor quantidade de compostos fenólicos.

As amostras B8 e B9 não diferiram na escala hedônica, nem no teste de ordenação preferência. A amostra B8 teve maior percentual na idealidade de textura

(corpo), porém menor na idealidade da doçura. A amostra B8 e B9, alcançaram o mesmo percentual na idealidade do amargor.

Para que uma amostra fosse selecionada, dentre as amostras B8 e B9, resolveu-se fazer uma análise de atividade antioxidante (ABTS) como critério de seleção, visto que não foram diferentes estatisticamente ao nível de 5% de significância, em relação ao teor de sólidos solúveis, viscosidade e compostos fenólicos. Outra análise de viscosidade foi realizada, mas desta vez, à temperatura de 15°C, que seria a máxima temperatura alcançada pelas bebidas na análise sensorial.

Os resultados da análise de ABTS e Viscosidade estão dispostos na Tabela 45. Verificou-se que, para a viscosidade, não houve diferença estatística entre as amostras B8 e B9 ($p>0,05$). Em relação à atividade antioxidante, houve diferença significativa entre as amostras, portanto a amostra B8 foi escolhida por apresentar maiores valores de atividade antioxidante.

Tabela 45 – Resultados da análise de ABTS e Viscosidade (15°C)

Formulação	ABTS (uM Trolox/g amostra)	Viscosidade (Pa.s) (15°C)
B8	10,4 ± 0,10	0,01691 ± 0,01
B9	7,33 ± 0,34	0,01759 ± 0,02
Teste <i>t</i>	0,004068*	0,649149 ^{ns}

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

*significativo

Apesar da quantidade de compostos fenólicos não terem diferido entre as amostras B8 e B9, a atividade antioxidante da bebida B8 foi maior. Esse resultado reforça a hipótese que o cacau tem maior atividade antioxidante que o pólen, visto que as amostras têm a mesma quantidade de pólen (8g) e quantidades diferentes de cacau, 7,4g para amostra B8 e 6g para a amostra B9.

A maioria dos compostos fenólicos presentes no cacau é representada pela catequina, epicatequina e procianidinas (Barišić *et al.*, 2023). Steinberg, Bearden e Keen (2003) concluíram que a capacidade antioxidante das procianidinas de cacau e derivados foi maior em comparação com outros alimentos.

4.13 Caracterização físico-química da formulação selecionada para otimização

Os resultados da caracterização físico-química estão dispostos na Tabela 46.

Tabela 46 – Composição Físico-Química da Formulação B8

Componentes	Formulação B8
Umidade (%)	85,25 ± 0,05
Proteína (%)	0,89 ± 0,15
Gordura (%)	3,0 ± 0,03
Carboidrato (%)	10,42 ± 0,03
Cinzas (%)	0,35 ± 0,07
pH	5,53 ± 0,02
Sólidos solúveis (°Brix)	11,9 ± 0,15

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Por escassez de pesquisas com produtos semelhantes ao deste estudo, não foi possível comparar com outros produtos elaborados com a mesma matriz deste. Como os participantes do grupo de foco perceberam semelhanças com achocolatado, realizou-se a pesquisa de outras bebidas, como achocolatados UHT, bebidas com cacau ou chocolate para efeitos comparativos na discussão dos resultados a seguir.

Em estudos realizados com bebidas achocolatadas comerciais, Nascimento *et al.* (2022) encontrou valores de umidade entre 83,70 e 86,87%; proteínas entre 1,66 e 2,05; gordura 0,48 a 1,09; cinzas de 0,47 a 0,60 e carboidratos entre 10 e 13,10%. Oselame (2013) encontrou valores de proteínas entre 1,66 e 2,05; gordura de 0,60 a 0,80; em bebida láctea achocolatada adicionada de proteína de soro de leite e sucralose. Pode-se verificar que os valores da bebida elaborada com pólen e cacau estão próximos aos das amostras comerciais, apenas a gordura apresentando resultados maiores e proteínas valores menores. Conforme o esperado, a quantidade de proteína foi baixa, visto que no extrato de pólen demonstrou não ter proteína ou uma quantidade mínima, sugerindo que o teor de proteína da bebida foi influenciado pelos ingredientes, principalmente o cacau. A gordura da bebida, ficou em 3,0%, dentro do recomendado para não haver alto teor de gordura. Essa gordura é representada em sua maior parte pelo ácido láurico, predominante no leite de coco, considerado uma gordura “saudável” (Tabela 47).

O pH de bebidas do tipo “achocolatado” analisadas por Nascimento *et al.* (2022) ficaram com valores entre 6,15 e 6,83, valores maiores que o pH da bebida

elaborada. As bebidas lácteas não fermentadas têm a tendência de seguir o pH característico do leite, em torno de 6,2 a 6,5 (Jellen, 2009). Essa situação pode ter ocorrido com a bebida deste estudo, pois o leite de coco apresentou pH próximo de 5,0. Oselame (2013) e Pereira (2019) encontraram valores de pH em bebidas lácteas entre 6,06 e 6,81.

A quantidade de sólidos solúveis da bebida deste estudo ficou abaixo do encontrado por Nascimento *et al.* (2022) em três produtos comerciais (13,0°; 15,50° Brix e 15,56°Brix), e acima de um dos produtos comerciais (10,76). Oselame (2013) elaborou bebidas achocolatadas com 2% de cacau e obteve o valor de 12° Brix. Sabe-se que o consumidor brasileiro tem tendência a gostar de produtos mais doces, por razões históricas e culturais, portanto, a maioria dos produtos são doces para agradar ao paladar dos consumidores.

Tabela 47 – Perfil de ácidos graxos da Formulação B8

Ácidos Graxos	(%)
Ácido láurico	1,29 ± 0,02
Ácido mirístico	0,47 ± 0,04
Ácido palmítico	0,31 ± 0,05
Ácido oleico	0,26 ± 0,06
Ácido caprílico	0,22 ± 0,05
Ácido cáprico	0,2 ± 0,02
Ácido esteárico	0,17 ± 0,06
Ácido graxo C4:0 (Butírico); C6:0 (Caproico)	0,04 ± 0,02
Ácido linoleico	0,04 ± 0,01

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

De acordo com a Tabela 47, tem-se que 43% dos ácidos graxos são representados pelo ácido láurico, seguido do mirístico proveniente do leite de coco utilizado na formulação (Eyres *et al.*, 2016). O ácido palmítico ocorre naturalmente no cacau e em estudos de Moura (2014) a fração lipídica para o pólen de origem floral de coqueiros, da região litorânea de Alagoas, se sobressaíram os ácidos palmítico, oleico e linoleico. Ácido caprílico e cáprico são característicos do leite de coco, pode-se concluir

que a gordura da bebida formulada vem em grande parte desse ingrediente.

4.14 Definição das Formulações Otimizadas

As novas formulações estão dispostas na Tabela 48. Decidiu-se manter a amostra B8 para a próxima análise sensorial e compará-la com três formulações em que se modificaria apenas a quantidade de adoçante. As quantidades de mel e açúcar demerara foram calculadas para que a amostra tivesse o percentual de até 7,4% de açúcares totais. O açúcar demerara utilizado foi comercial da marca União.

Tabela 48 – Formulações Otimizadas

Formulações	Pólen (g)	Leite de coco (mL)	Mel (g)	Açúcar demerara	Cacau (g)	Água (mL)
B8	4,0%	25%	7%	-	3,7%	60,3%
BMA	4,0%	25%	7%	1,4%	3,7%	61,0%
BMA50	4,0%	25%	3,5%	3,5%	3,7%	61,0%
BA	4,0%	25%	-	7%	3,7%	61,0%

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

A amostra com 7% de mel e 1,4% de açúcar foi codificada como BMA, pois optou-se por complementar a amostra BMA com um pouco de açúcar, visto que o mel representaria 80% da quantidade de açúcar e o açúcar demerara os 20% restantes; a amostra com 3,5% de mel e 3,5% de açúcar demerara foi codificada como BMA50 (50% de mel e 50% de açúcar) e a amostra com 7% de açúcar demerara, codificada como BA, substituindo totalmente o mel.

Para se confirmar que as amostras estavam com os percentuais de até 7,4%, analisou-se a quantidade de açúcares totais das amostras. Os resultados estão disponíveis na Tabela 49. As amostras obtiveram valores dentro dos limites desejados de quantidade de açúcares totais. A amostra BMA e BA, ficaram com valores bem próximos do limite requerido, de 7,4%.

Tabela 49 – Resultados de açúcares totais para formulações otimizadas

Formulações	Açúcares Totais
B8	6,69%
BMA	7,39%
BMA50	7,19%
BA	7,34%

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.15 Grupo de foco para levantamento de termos – CATA

Houve predominância da participação feminina (74%), com faixa etária até 25 anos, com escolaridade de ensino superior incompleto e consomem quinzenalmente produtos com cacau, ou seja, estão familiarizados com esse tipo de produto (Tabela 50).

Tabela 50 – Perfil dos participantes do Grupo de Foco para levantamento de termos (n = 23)

Dados	Classes	%
Sexo	Feminino	74
	Masculino	26
Idade	Até 25 anos	65
	26 – 35 anos	17
Escolaridade	Ensino superior incompleto	60,9
	Ensino superior completo	17,4
Frequência de consumo	Quinzenalmente	43
	Mensalmente	22

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O moderador iniciou agradecendo a presença de todos explicou brevemente sobre como se daria a reunião, avisou que iria gravar o momento apenas para fins acadêmicos e que o produto iria ser distribuído em seguida. Os mesmos procedimentos foram realizados para os três grupos. Os participantes se apresentaram e o moderador iniciou questionando sobre o produto, que ainda não havia sido servido, mas que estava disponível em embalagens plásticas transparentes numa mesa central. Foi perguntado

com qual produto aquele se assemelhava e todos os participantes afirmaram ser achocolatado, citaram marcas como *Toddynho* e Nescau. Essa pergunta não havia sido pensada para o roteiro, mas logo no início da primeira sessão, percebeu-se a necessidade de incluí-la na reunião. Foi informado que duas formulações iriam ser disponibilizadas para degustação. As amostras foram as mais diferentes, escolheu-se as formulações B4 (10g de pólen e 7g de cacau) e B7 (8g de pólen e 4,6g de cacau), elas foram codificadas e apresentadas aos provadores em momento oportuno.

Em seguida, perguntou-se sobre os principais atributos sensoriais do produto como aquele que eles estavam visualizando, e o sabor foi o atributo mais citado, seguido de “cheiro” se referindo ao odor e textura (viscosidade, corpo).

Sobre o atributo aparência, os participantes demonstraram ter suas expectativas atendidas, visto que havia semelhança com o produto que eles já tinham o padrão mental. Comentaram que o produto estava com aparência homogênea e agradável. Outro participante visualizou bolhas/ espuma nas amostras.

Sobre a cor, todos afirmaram que estava de acordo com o esperado (marrom). Um participante relacionou a cor com a viscosidade, em que o produto mais escuro seria mais viscoso, “mais grosso”. Outro participante afirmou que a cor marrom mais escura é mais atrativa, que quando tem mais cor, o produto parecia ter mais sabor. E o produto de cor mais clara, parecia ser “mais fraco”, “mais ralo”. Outro participante fez associação do produto de cor mais clara, a algo mais adocicado. Outro, que aquele marrom parecia com cor de café.

A partir desse momento, as duas amostras foram distribuídas aos participantes. Sobre o aroma, um participante diz ter ficado com “água na boca” ao sentir o aroma. Outro participante, disse que se a bebida se tratava de uma mistura que não soube identificar. Outro percebeu ter aroma de chocolate mais apurado ou de produto lácteo. Outros aromas relatados foram de leite de soja, aroma de sementes, de ervas e de canela. No geral, nenhum dos participantes identificou aroma de mel ou leite de coco.

Foi solicitado aos provadores que degustassem as amostras. Quando questionados sobre o sabor, os participantes disseram que “faltava algo” para que ficasse com o sabor agradável ou com mais sabor, só conseguiu-se perceber gosto de água e cacau. As expressões demonstraram que o sabor não atendeu à expectativa dos participantes. Alguns participantes fizeram caretas, outros apresentaram pigarros, e alguns ficaram coçando a cabeça. Então, foi perguntado o que seria necessário para

melhorar o sabor do produto, e disseram que, o sabor de gengibre/ervas não era o esperado para aquele tipo de produto, e que se esperava chocolate. Outro disse que o sabor do mel não havia agradado. Outro, achou o produto muito amargo, que poderia ser um produto quente, como chocolate quente, café. Um participante disse que a “densidade na língua” não era agradável, como se fosse um produto “pesado”. Expressões com a boca, língua, palato, foram frequentes. Somente um participante sentiu gosto de mel. Dois participantes sentiram sabor de gengibre e outro sabor de cravo, para essa amostra.

Durante a degustação e os depoimentos dos participantes, foi explanado sobre os ingredientes do produto, que se tratava de uma bebida com pólen, leite de coco, mel e cacau. Um participante sentiu um ranço do leite de coco, depois que soube que havia esse ingrediente. Ao final, reforçaram não sentir o gosto de leite de coco nem mel. Um participante questionou o porquê do uso do pólen.

Sobre a doçura, os participantes afirmaram que o produto não estava com a doçura ideal e sentiram forte amargor. Que a amostra de cor mais clara (B7), seria mais adocicada, mas ainda sem ter a doçura ideal. O moderador aproveitou o ensejo para questionar se os participantes que gostavam do produto mais doce, se preocupavam com o teor de açúcar do produto, mesmo que fosse alto. Os participantes responderam que se importavam sim, que o ideal é que o produto ficasse no limite da quantidade máxima permitida ou menos, que quando o produto tem alto teor de açúcar na embalagem, eles se assustam. E ainda, que quanto maior a quantidade de açúcar, mais o produto é prejudicial à saúde.

Em relação ao amargor, os participantes consideraram o produto muito amargo, mas que a falta de doçura incomodava mais. Três participantes afirmaram que gostavam do produto mais amargo mesmo, do jeito que estava. Sobre a textura das amostras, os participantes expressaram que essa característica estava adequada para a amostra, e que, se estivesse “mais grossa” ficaria semelhante a uma sobremesa e não com uma bebida.

A maioria dos participantes afirmou não sentir sensação residual, porém, alguns ficaram com pigarro e bebendo água logo após a degustação. Outro participante sentiu adstringência e outro dormência na língua. Caso o produto fosse apresentado com as alegações funcionais que tem, a maioria dos participantes afirmou que, comprariam e tolerariam a falta de doçura. Outro participante, não mudaria de opinião, caso soubesse que o produto tivesse potencialidade funcional. Foi solicitado aos participantes que

apresentassem as diferenças e similaridades entre as duas amostras disponibilizadas (Tabela 51).

Tabela 51 – Semelhanças e diferenças entre as duas amostras (B4 e B7)

Semelhanças	Nenhuma
Diferenças	Aparência amostra B4, mais homogênea, adequada, amostra B7 apresentando “bolhas”, “espuma” Cor da amostra B4 marrom “mais escuro”, “mais agradável” que a amostra B7 Aroma da amostra B4, “de cacau”, “de canela”, e aroma da amostra B7 “de cacau”, “de produto lácteo”, de “chocolate” O sabor da amostra B4 mais forte que a amostra B7, “mais amargo”, amostra B4 “mais adocicada” A textura da amostra B4 mais forte, “tem mais corpo”, “concentrada”, “consistente” e a amostra B7 “mais rala” “mais fraca”, “mais aguada”

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os participantes foram questionados sobre o preço desse produto que poderia ter aspectos funcionais, e alguns concluíram que seria um produto como o “YoPro” ou semelhante à bebidas veganas sabor chocolate comercial, que custariam em torno de 5 a 6 reais, sendo este valor atribuído ao produto que estava sendo apresentado, com características de bebida do tipo “pronta para beber”.

Ao final, foi apresentado um produto com formulação diferente, a formulação BA (bebida com substituição total do mel por açúcar demerara), para analisar uma possível otimização da doçura com uma amostra com maior atividade antioxidante. A maioria dos participantes aprovou a amostra.

Foi possível elaborar uma lista com os principais descritores da bebida apresentada aos participantes, assim conseguiu-se realizar o levantamento dos termos almejados, sendo possível selecionar 20 termos (Tabela 52). Sobre as emoções foram

listados 15 descritores, são eles: interessante, estranheza, atraente, enjoativo, agradável, desagradável, satisfação, apreensão, gostoso, felicidade, surpresa, indiferença, curioso, decepção e feio (aspecto visual).

Tabela 52 – Termos levantados sobre as características do produto

Atributos	Termos levantados
Aparência	Homogênea Presença de bolhas e/ou espuma
Cor	Marrom claro Marrom escuro De Achocolatado
Aroma	Doce De mel De cacau De chocolate De canela
Sabor	Doce De Mel Amargo De chocolate De gengibre
Textura	Visual Na boca
Sensação residual	Adstringência Dormência na língua “Travo na garganta”

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.16 Análise Sensorial das formulações otimizadas

4.16.1 Perfil dos participantes

Os dados do perfil dos participantes estão na Tabela 53. A análise sensorial foi realizada na mesma instituição de ensino da anterior, portanto, o perfil dos

participantes foi semelhante, com exceção do grau de escolaridade. A predominância foi do sexo feminino, com idade até 25 anos, solteiros, com ensino médio completo com renda familiar de até dois salários-mínimos. Sobre o grau de gostar dos ingredientes, obteve-se “gostar muito” (45% para cacau); “gostar moderadamente” (60% para leite de coco) e mesma porcentagem para “gostar muito” e “gostar moderadamente” (44%) em relação ao mel. Apesar de gostarem, os provadores só consumiam com mais frequência, quinzenalmente, o cacau. Leite de coco e mel, afirmaram que raramente consumiam. 73% dos provadores, praticam atividade física, pelo menos de 1 a 2 vezes por semana (35%).

Tabela 53 – Perfil dos provadores da análise sensorial da bebida otimizada

Dados	Classes	%
Sexo	Feminino	63
	Masculino	37
Idade	Até 25 anos	66
	26 – 35 anos	25
Escolaridade	Ensino médio completo	43
	Ensino superior completo	36
Estado Civil	Solteiro	86
	Casado	11
Renda Familiar	Até 2 salários-mínimos	81
	Entre 3 e 6 salários-mínimos	15

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Foi perguntado sobre o tipo de produto que os provadores consumiam que continham os ingredientes leite de coco, pólen, cacau e mel. Para o leite de coco, a maioria consumia doce de leite de coco (59%); para o cacau, a maioria afirmou consumir barra de chocolate 50% cacau (73%); sobre o mel, a maioria marcou que consumia mel puro (68%).

4.16.2 Resultados da Escala Hedônica

Os resultados dos testes sensoriais estão dispostos na Tabela 54. Pode-se verificar que, para os atributos Impressão Global, Aroma e Textura, as médias

hedônicas, variaram entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente” da escala hedônica. Para cor, as médias ficaram entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”, sendo o atributo mais bem avaliado na aceitação. Aroma e Textura, tiveram médias variando entre “nem gostei, nem desgostei” (indiferença) até “gostei moderadamente”. Sabor e doçura das formulações ficaram entre “nem gostei, nem desgostei” e “gostei moderadamente”, indicando que não houve rejeição das amostras.

Tabela 54 – Resultados da análise sensorial das bebidas otimizadas

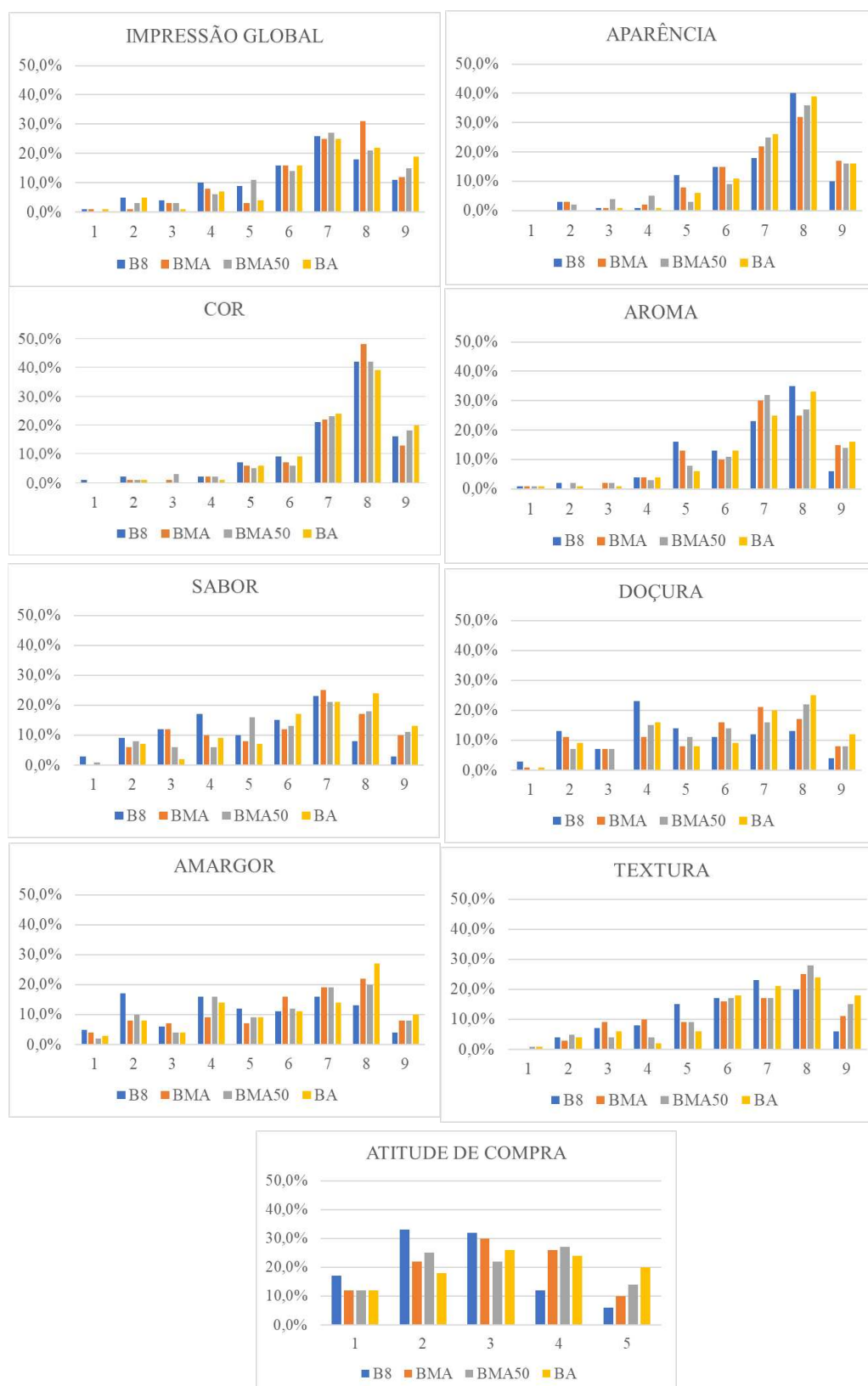
Atributos	Amostras			
	B8	BMA	BMA50	BA
Impressão Global	6,29±1,96 ^a	6,86±1,07 ^a	6,70±1,76 ^a	6,80±1,92 ^a
Aparência	6,99±1,57 ^a	7,10±1,60 ^a	7,12±1,68 ^a	7,41±1,22 ^a
Cor	7,29±1,33 ^a	7,40±1,48 ^a	7,39±1,28 ^a	7,50±1,59 ^a
Aroma	6,74±1,59 ^a	6,93±1,65 ^a	6,95±1,57 ^a	7,12±2,06 ^a
Sabor	5,17±2,06 ^b	6,01±2,10 ^a	6,07±2,10 ^a	6,49±1,97 ^a
Doçura	5,02±2,15 ^b	5,79±2,18 ^a	5,94±2,08 ^a	6,25±2,16 ^a
Amargor	4,99±2,31 ^b	5,89±2,27 ^a	5,80±2,22 ^a	6,02±2,28 ^a
Textura (Corpo)	6,13±1,82 ^b	6,32±1,97 ^a	6,64±1,98 ^a	6,74±1,96 ^a
Atitude de compra	2,55±1,10 ^b	2,99±1,17 ^{ab}	3,06±1,25 ^a	3,23±1,29 ^a

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

^{a,b,c} Médias iguais na mesma coluna não diferenciam entre si ($p < 0,05$).

As formulações não apresentaram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$), para os atributos impressão global, aparência, cor e aroma. Para o atributo sabor, doçura, amargor e textura, a amostra B8 diferiu das demais, apresentando menores médias hedônicas. Os resultados mostram que a doçura do produto foi otimizada, visto que não houve rejeição pelos provadores.

Figura 19 – Histogramas de Frequência dos resultados do Teste de Aceitação das bebidas otimizadas nos atributos: impressão global; aparência; cor; aroma; sabor; doçura, amargor, textura e atitude de compra



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O amargor, para a amostra B8 (com mel), ainda se faz presente, o que era esperado, pois essa formulação não foi otimizada. A amostra BA (com açúcar) demonstrou melhores médias hedônicas, sendo a amostra mais bem avaliada, inclusive para o amargor, que correspondeu ao ponto “gostei ligeiramente” da escala hedônica. Apesar do conhecimento dos consumidores sobre os riscos de uma dieta rica em açúcar, os provadores têm aceitação maior com um produto mais doce, ou seja, a doçura interfere no sabor e aceitação do produto. Podemos verificar, que as médias hedônicas de doçura e sabor vão aumentando, ao passo que a quantidade de açúcar na amostra aumenta.

Outro fato que pode ter contribuído para menores notas para a amostra B8, é que o brasileiro não consome mel com frequência, visto que o consumo é de 60g per capita por ano, um dos menores do mundo, enquanto a média mundial é de 240g per capita/ano (Agrolink, 2023). Esse baixo consumo tem raízes históricas, visto que a disponibilidade do açúcar era maior com o cultivo da cana, trazida pelos holandeses e outra situação é de produção e exportação, pois a maioria do mel brasileiro é exportado (BIERNATH, 2022).

A atitude de compra para as amostras BMA50 e BA ficaram na zona de indiferença e para as amostras B8 e BMA, entre “provavelmente não compraria” e “talvez compraria”, ou seja, as amostras com maiores quantidades de mel.

Em relação aos percentuais da zona de aceitação, o atributo Impressão global acumulou maiores percentuais para a amostra BMA (84%). Em relação à cor, a amostra BA acumulou o maior percentual, de 92%, entre todas as amostras e todos os atributos avaliados. Em relação ao aroma, sabor, doçura e textura, a amostra BA também acumulou maiores percentuais, 87%, 75%, 66% e 81%, respectivamente. O amargor da amostra BMA, acumulou maiores percentuais, de 65% (Figura 19).

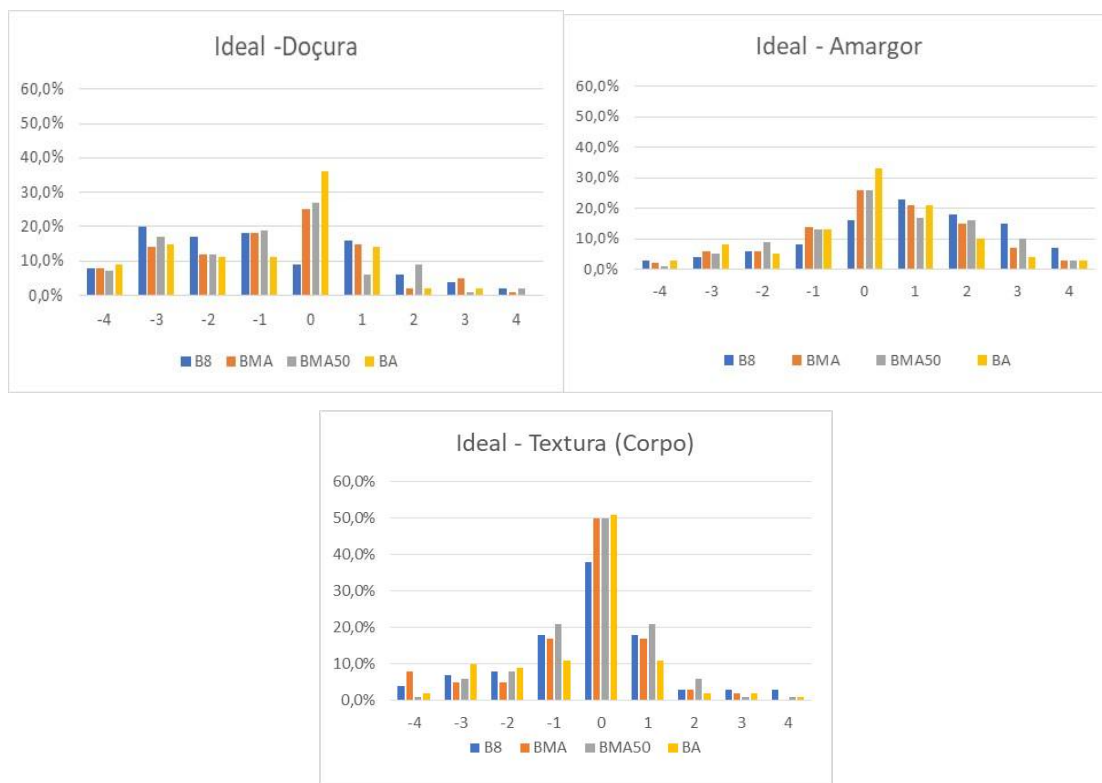
4.16.3 Escala do Ideal

Os histogramas de frequência da escala do Ideal estão dispostos na Figura 20. Pode-se verificar que a doçura das amostras foi considerada pelos provadores “menos forte que o ideal”. A amostra BA acumulou maior percentual no ponto ideal, de 36%.

O amargor foi percebido pelos provadores como “mais forte que o ideal”. A amostra BA acumulou maior percentual no ponto ideal, de 33%, se comparada com as

amostras B8, BMA e BMA50. Pode-se perceber que o gosto amargo ainda ficou muito presente, mesmo substituindo parcial ou totalmente o mel pelo açúcar nas formulações.

Figura 20 – Histogramas de Frequência da Escala do Ideal para Doçura, Amargor e Textura (Corpo) das bebidas otimizadas



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

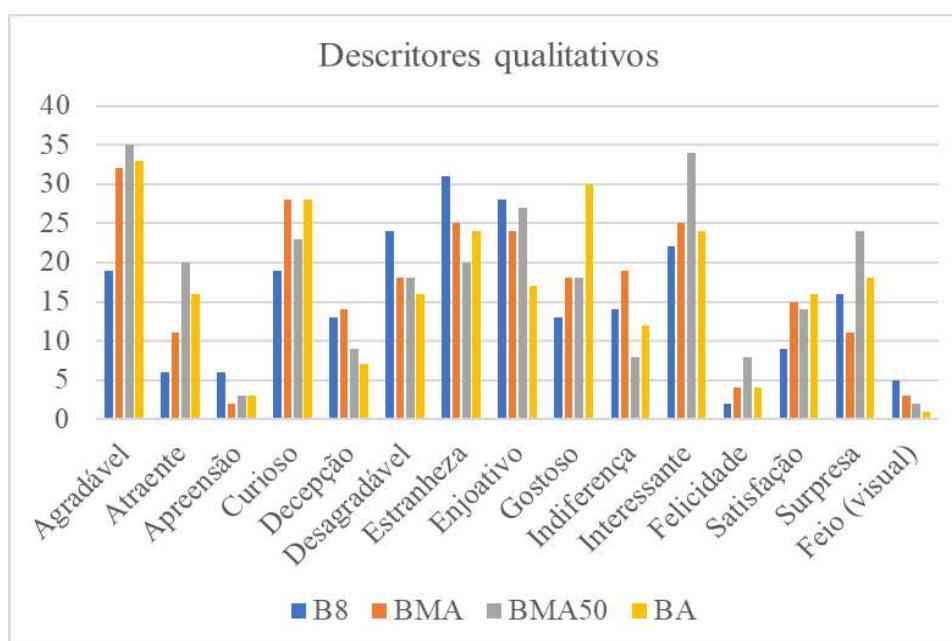
A textura (corpo) acumulou maiores percentuais no ponto “ideal”, para as amostras BMA, BMA50 e BA, 50%, 50% e 51%, sendo o atributo que mais se aproximou do percentual de 70%. A amostra B8 acumulou 38% no ponto “ideal”. Continuou havendo uma polarização mais igualmente distribuída entre os pontos “menos fortes que o ideal” e os “pontos mais fortes que o ideal”, notando-se uma tendência maior para “menos forte que o ideal”.

De acordo com os comentários dos provadores, a cor, o aroma e a textura foram consideradas “ideal”, “ótima”, “agradável”, “desperta apetite”, “saboroso”, “gostoso”, “atrativo”, sendo estes os pontos positivos. O amargor foi citado 37 vezes como ponto negativo e o termo “forte” foi citado 12 vezes, sugerindo que o forte estava relacionado ao sabor amargo muito intenso para alguns provadores.

4.16.4 CATA Qualitativo

Sobre as sensações/emoções em relação às bebidas, houve destaque para descritores mais associados para determinadas amostras. Os atributos qualitativos atraente, enjoativo, agradável, gostoso, indiferença e surpresa apresentaram diferenças significativas em pelo menos uma formulação. As formulações BMA50 e BA, apresentaram maior associação ao atributo atraente, enquanto as formulações B8 e BMA50, foram associadas ao termo enjoativo, em proporção maior do que as formulações BMA e BA. As formulações BMA, BMA50 e BA foram mais associadas ao descritor agradável em maior proporção. A amostra BMA50, foi relacionada à surpresa, enquanto a amostra BA foi associada ao atributo gostoso. A formulação BMA, associada em maior proporção à indiferença.

Gráfico 4 – Descritores Qualitativos

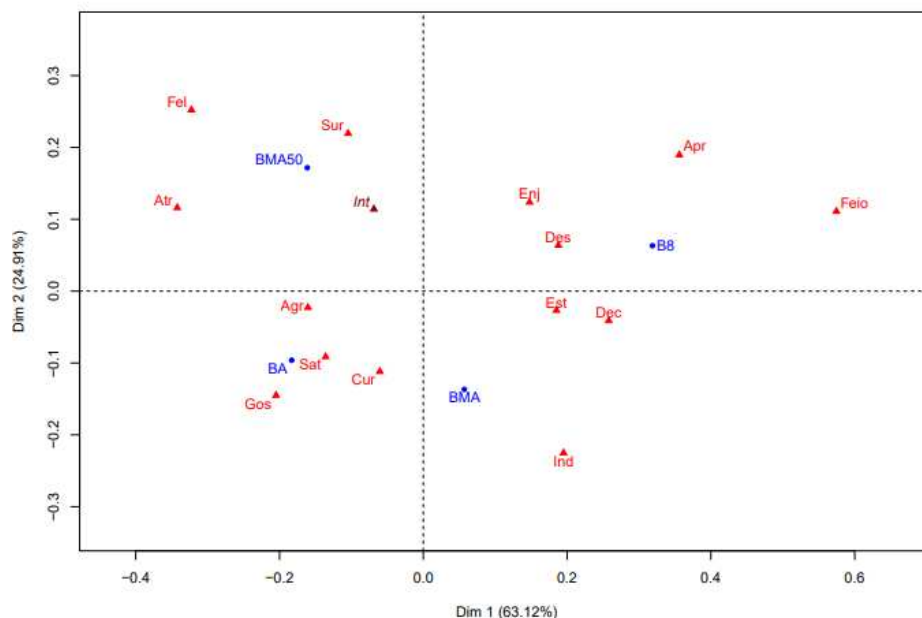


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A primeira e a segunda dimensão da análise de correspondência foram responsáveis por 88,03% da variabilidade (Gráfico 5). Os termos estão distribuídos em quadrantes, os termos mais próximos do eixo, explicam mais a característica da amostra ou está mais associada a ela. A amostra B8 foi associada em maior proporção aos termos considerados negativos para a bebida, como enjoativo, apreensão, feio (visual), estranheza e decepção. Isso é explicado pelo fato dessa amostra não ter sido otimizada

em relação à doçura, confirmando as respostas dos provadores na análise sensorial da escala hedônica, em que a amostra B8 foi menos aceita nos atributos sabor, doçura, amargor e textura.

Gráfico 5 – Análise de Correspondência dos atributos qualitativos



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A bebida BMA50 foi mais associada aos atributos atraente, surpresa, interessante e felicidade, mesmo que ela tenha sido igualmente associada ao termo enjoativo na análise de dados, o atributo enjoativo ficou mais próximo da amostra B8 no gráfico (Gráfico 5).

A amostra BMA ficou associada ao descritor indiferente, e os termos estranheza e decepção estão mais próximas da amostra B8. Apesar de se verificar a frequência do termo agradável para a amostra BMA, ela não despertou tanto interesse aos provadores como as amostras BMA50 e BA. Pode-se verificar que a amostra BMA, tem em sua composição, mais proporção de mel do que açúcar, e este fato pode ter interferido para essa indiferença do provador, visto que havia uma amostra somente com mel em sua composição, provavelmente, com sabor mais desagradável, ficou marcado para o provador, a amostra B8.

Os termos gostoso, curioso, satisfação e agradável ficaram associados à amostra BA, mesmo que o termo atraente tenha sido destacado, no gráfico, ficou

distante da amostra BA. Pode-se verificar que a amostra BA obteve maior número de frequência em curioso, estranheza, agradável, interessante e gostoso, mas interessante e estranheza se distanciaram dela no gráfico, não sendo associadas a ela.

4.16.5 CATA Quantitativo (Termos Descritivos)

Para análise descritiva, utilizou-se uma escala de intensidade com vinte atributos (Tabela 55). Somente as características homogêneo, sabor doce e sabor amargo apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo Teste Kruskal-Wallis e quando necessário, o Teste Mann-Whitney para confirmar a rejeição da hipótese nula (de igualdade das médias). As demais características não apresentam diferença estatística, o que infere a semelhança entre as amostras. As diferenças entre sabor doce e sabor amargo são justificadas pelas formulações, pois apenas a proporção mel e açúcar ou ausência de mel é que diferencia uma amostra da outra, o que impacta diretamente nos atributos de doçura e amargor das bebidas.

As formulações BA e BMA50 foram consideradas mais homogêneas e com sabor doce mais intenso do que a amostra B8, e para sabor amargo, a amostra B8 apresentou maior média e a amostra BA, menor média. Ou seja, a amostra B8 foi caracterizada por ter sabor amargo, não ser doce e não ser homogênea. Os resultados confirmaram que o açúcar demerara amenizou a sensação de amargor nas formulações que foram otimizadas.

Tabela 55 – Termos descritivos do CATA quantitativo (continua)

Descritores	B8	BMA	BMA50	BA
Homogêneo	4,78 ^b	5,22 ^{ab}	5,72 ^a	5,60 ^a
Textura visual	4,90 ^a	4,73 ^a	4,29 ^a	5,05 ^a
Presença de partículas	3,74 ^a	3,58 ^a	3,36 ^a	3,16 ^a
Presença de bolhas	2,36 ^a	3,13 ^a	2,95 ^a	3,27 ^a
Cor marrom	6,59 ^a	6,89 ^a	6,88 ^a	6,97 ^a
Cor de achocolatado	6,60 ^a	6,80 ^a	6,67 ^a	6,94 ^a
Aroma doce	4,0 ^a	4,38 ^a	4,67 ^a	4,82 ^a
Aroma de cacau	5,23 ^a	5,52 ^a	5,64 ^a	5,49 ^a

Tabela 55 – Termos descritivos do CATA quantitativo (conclusão)

Descritores	B8	BMA	BMA50	BA
Aroma de chocolate	5,02 ^a	5,66 ^a	5,18 ^a	5,49 ^a
Aroma de mel	3,03 ^a	3,37 ^a	3,40 ^a	3,69 ^a
Aroma de canela	2,04 ^a	2,25 ^a	2,23 ^a	2,14 ^a
Sabor doce	3,37 ^c	4,05 ^b	3,97 ^b	4,24 ^a
Sabor de mel	2,53 ^a	3,02 ^a	3,14 ^a	3,02 ^a
Sabor amargo	6,38 ^a	5,97 ^b	6,04 ^b	5,70 ^c
Sabor de chocolate	4,73 ^a	5,22 ^a	5,32 ^a	5,35 ^a
Sabor de gengibre	1,17 ^a	1,60 ^a	1,66 ^a	1,60 ^a
Textura na boca	3,87 ^a	4,24 ^a	4,21 ^a	4,74 ^a
Adstringência	3,23 ^a	3,25 ^a	3,16 ^a	3,30 ^a
Dormência na língua	1,76 ^a	1,53 ^a	1,40 ^a	1,65 ^a
Sensação residual ("travo" na garganta)	2,88 ^a	2,35 ^a	2,55 ^a	2,63 ^a

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

^{a,b,c} Médias com a mesma letra na mesma linha não diferenciam entre si ($p > 0,05$).

Pode-se verificar que os dez descritores apontados com maior intensidade por todas as amostras são cor marrom, cor de achocolatado, aroma de cacau, aroma de chocolate, aroma doce, homogêneo e textura na boca. Dessa forma, esses descritores caracterizam bem a bebida apresentada. Sabor de gengibre e dormência na língua foram os menos intensos, com médias variando de 1,17 a 1,76, pode-se considerar que esses descritores foram menos percebidos pelos provadores.

Em estudo realizado por Teixeira (2019) com bebidas esportivas e pós-treino à base de leite com café e cacau (100%), as bebidas que continham cacau obtiveram os descritores aparência encorpada, cor marrom, aroma achocolatado, aroma cacau, sabor achocolatado, textura encorpada e textura cremosa. Observa-se alguns descritores em comum com o produto desenvolvido com a bebida de pólen e cacau.

4.17 Atividade Antioxidante das bebidas otimizadas

Os resultados estão dispostos na Tabela 56. Pode-se verificar que não houve

diferença entre as amostras em relação à atividade antioxidante, tanto por ABTS, como por DPPH. Este resultado era esperado, visto que não houve alteração na formulação em relação ao pólen e cacau, principais fontes de compostos fenólicos.

Tabela 56 – Resultados da atividade antioxidante das formulações otimizadas

Análises	B8	BMA	BMA50	BA
ABTS ($\mu\text{mol de Trolox/mL}$)	$10,4 \pm 0,09^a$	$0,80 \pm 0,08^a$	$10,2 \pm 0,17^a$	$10,4 \pm 0,04^a$
DPPH (%)	$5,81 \pm 0,09^a$	$5,77 \pm 0,05^a$	$5,80 \pm 0,10^a$	$5,61 \pm 0,08^a$

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

^{a,b,c} Médias iguais na mesma linha não diferenciam entre si ($p > 0,05$).

O mel e o açúcar demerara, assim como o leite de coco não interferiram nos resultados de atividade antioxidante. Mesmo a amostra B8, com sua formulação original (somente mel), não diferiu da amostra BA (somente açúcar demerara) em relação à atividade antioxidante, confirmando que o pólen apícola e o cacau são os principais influenciadores para os resultados obtidos.

Pode-se verificar que as bebidas apresentaram atividade antioxidante, o que pode gerar um potencial para uma bebida funcional, de produção simples e que garante a presença de compostos bioativos, que trazem muitos benefícios para a saúde.

5 CONCLUSÕES

Através do questionário on-line e grupo de foco foi possível definir um dos ingredientes a ser utilizado na bebida, o leite de coco, uma opção de leite vegetal que tem sido pouco explorada e foi lembrada pelos respondentes. Além disso, bebida trouxe uma percepção de “ser saudável, nutritiva e doce”.

A bebida apresentou compostos fenólicos e flavonoides, assim como confirmação de atividade antioxidante tanto por via ABTS como DPPH, portanto, com potencial de alegação funcional. Nutricionalmente, a bebida apresentou composição centesimal semelhante a produtos comerciais, de acordo com a legislação brasileira, para não serem considerados de “alto teor” de açúcar adicionado e gordura saturada.

As percepções sobre o produto elaborado foram positivas, mostrando que os consumidores acreditam que o produto é nutritivo, saudável e rico em compostos antioxidantes. Além disso, a maioria dos provadores se mostrou disponível para experimentar novos produtos e considerou “Importante” a bebida ser zero lactose e não conter açúcar refinado.

Foi possível otimizar as bebidas em relação à doçura, com substituição parcial ou total do mel por açúcar demerara. O atributo cor foi o mais bem aceito das formulações otimizadas. As formulações que tinham maiores quantidades de açúcar, foram as mais bem aceitas em relação à doçura, sabor, amargor e textura, com destaque para a formulação BA, trazendo a possibilidade de proposição de um novo produto de pólen a ser consumido por todos os públicos (intolerantes à lactose ou não), do tipo “pronto para beber”.

Na análise do CATA qualitativo foi possível obter termos afetivos e emocionais que representaram sensações e sentimentos dos provadores frente às bebidas, com destaque para as formulações BMA e BA, associadas a termos positivos. O CATA quantitativo demonstrou ser efetivo na caracterização do produto, indicando quais atributos são mais marcantes para o consumidor, como cor marrom, cor de achocolatado, aroma de cacau, aroma de chocolate, aroma doce, homogêneo e textura na boca.

Recomenda-se para trabalhos futuros: a utilização de outras matérias-primas que possam conferir maior viscosidade ao produto; estudo para um melhor equilíbrio na quantidade de cacau e adoçante para suavizar o amargor da bebida; teste com variações na forma de consumo, como bebida quente, assim como café ou chocolate quente.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14141**: Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.
- AGÊNCIA SEBRAE. **Pólen apícola tem alto valor comercial**. 2014. Disponível em: <http://www.pi.agenciasebrae.com.br/sites/asn/uf/PI/polen-apicola-tem-alto-valor-comercial,d318d405fe998410VgnVCM2000003c74010aRCRD>. Acesso em: 03 out. 2018.
- AGROLINK. **Mel**: consumo interno no Brasil é um dos menores do mundo. 2023. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/mel--consumo-intermo-no-brasil-e-um-dos-menores-do-mundo_481447.html. Acesso em: 24 de agosto de 2023.
- ALEVIA, M. *et al.* Chemical Extraction and Gastrointestinal Digestion of Honey: Influence on Its Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activities. **Foods**, Basel, v. 10, n. 6, p. 1412, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10061412>
- ALMEIDA, A. M. M. de; SOUZA, L. S.; SILVA, C. A.; VALENTIM, I. B.; COSTA, J. G.; GOULART, M. O. F. Características físico-químicas e microbiológicas de pólen apícola da microrregião de Ribeira do Pombal, BA, Brasil. *In*: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E NUTRACÊUTICOS, 3.; CONFERÊNCIA DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 3., 2012, Aracaju. **Anais [...]**. Aracaju: Universidade Federal de Sergipe, 2012.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. **Legislação nacional e internacional de produtos apícolas**. 2009. Disponível em: <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/115/artigo3.htm>. Acesso em: 15 out. 2018.
- 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**, [S.l.], v. 18, p. 105–111, 2005. DOI:
- ALVARADO, J. L.; DELGADO, M. D. 1985. Flora apícola en Uxpanapa, Veracruz, Mexico. **Biotica**, [S.l.], v. 10, p. 257–275, 1985.
- ALVES, R. F. **Análise palinológica do pólen apícola produzido no Estado de Sergipe, Brasil**. 2013. 71f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2013.
- AMÂNCIO, D. C. P. G. **Compostos bioativos do pólen**. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.
- AHMED, A.; TUL-NOOR, Z.; LEE, D. Effect of honey on cardiometabolic risk factors: a systematic review and meta-analysis. **Nutrition Reviews**, Oxford, v. 81, n. 7, p. 758–774, 2023.

ANDRADE, R. A. M. S. **Fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante do resíduo agroindustrial do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale L.*)**. 2013. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; SALDAMANDO, L.; GIMÉNEZ, A.; ARES, G. Comparison of consumer-based methodologies for sensory characterization: case study with four sample sets of powdered drinks. **Food Quality and Preference**, [S.l.], v. 56, Part A, p. 149–163, 2017.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, D.C.: AOAC, 2005. 1141 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Committee on Microbiological Methods for Foods**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

ARAÚJO, J. S. **Perfil do pólen apícola com indicação monofloral**. 2014. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2014.

ARES, G.; ANTÚNEZ, L.; GIMÉNEZ, A.; ROIGARD, C. M.; PINEAU, B.; HUNTER, D. C.; JAEGER, S. R. Further investigations into the reproducibility of check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization elicited by consumers. **Food Quality and Preference**, [S.l.], v. 36, p. 111–121, 2014.

ARRUDA, V. A. S.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ESTEVINHO, M. L. M. F.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Propriedades biológicas do pólen apícola de coqueiro, coletado na região Nordeste do Brasil. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 25, 2013a.

ARRUDA, V. A. S.; PEREIRA, A. A. S.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 100-105. 2013b.

ARRUDA, V. A. S. **Pólen apícola desidratado: composição físico-química, qualidade microbiológica, compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante e origem botânica**. 2013. 192 f. Tese (Doutorado em Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO (ASBRAN). **Anvisa altera alegações nutricionais em alimentos**. 2012. Disponível em: <https://www.asbran.org.br/noticias/anvisa-altera-alegacoes-nutricionais-em-alimentos>. Acesso em: 10 set. 2023.

AZEVEDO, J. J. C.; LIBERATO, M. C. T. C.; MORAIS, S. M.; SALUSTIANO, G. L.; MACHADO, L. K. A. Caracterização físico-química de pólen apícola produzido por abelhas *Apis mellifera* no Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 49.,

2009, Porto Alegre. **Anais [...]**. Porto Alegre: Associação Brasileira de Química, 2009.

BARIŠIĆ, V.; ICYER, N. C.; AKYIL, S.; TOKER, O. S.; FLANJAK, I.; AČKAR, Đ. Cocoa based beverages: composition, nutritional value, processing, quality problems and new perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 132, p. 65–75, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.12.011>.

BARRETO, L. M. R.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. Pólen apícola: perfil da produção no Brasil. In: CONGRESO DE APICULTURA DEL MERCOSUR, 1., 2005, Punta del Este. **Anais [...]**. Punta del Este: [s.n.], 2005.

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

BARRETO, L. M.; ORSI, R. C.; OLIVEIRA, R.; NEGRÃO, A. F. Pólen apícola: tendências na produção e diversificação do produto. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, número especial, 2011.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 646–656, jul. 2009.

BIERNATH, André. **Fraudes, escassez e tradição**: por que o brasileiro ainda consome pouco mel? BBC News Brasil, 2022. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-63820747>. Acesso em: 24 ago. 2023.

BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R.; GALLMANN, P. Honey for nutrition and health: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, [S.l.], v. 27, n. 6, p. 677–689, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>

BOGDANOV, S. Pollen: collection, composition, quality. In: BOGDANOV, S. **The bee pollen book**. 2012. Disponível em: <http://www.blackburnbeekeepers.com/Pollen%20Book.pdf>. Acesso em: 15 out. 2022.

BRAINER, M. S. C. P. Coco: produção e mercado. **Caderno Setorial ETENE**, ano 6, n. 206, dez. 2021a. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1043/1/2021_CDS_206.pdf. Acesso em: 20 ago. 2023.

BRAINER, M. S. C. P. Produção de Cacau. **Caderno Setorial ETENE**. ano 6, n. 149, dezembro 2021b. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/650/3/2021_CDS_149.pdf. Acesso em: 20 ago. de 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para misturas para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 30 de março de 1978. Aprova o regulamento técnico especial para alimentos e bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 mar. 1978.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961. Dispõe sobre Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos a Alimentos. **Diário Oficial da União**, 28 de janeiro de 1961.

BRASIL. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 jan. 2001. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=2192>. Acesso em: 15 out. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº 75, de 8 de outubro de 2020. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 out. 2020.

BRASIL. Resolução RDC nº 724/22 e a Instrução Normativa IN nº 161/22. Estabelece novos padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 6 jul. de 2022.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902–908, 2007.

BUCK, A.C.; COX, R.; REES, R. W. M.; EBELING, L.; JONH, A.; Treatment of outflow tract obstruction due to benign prostatic hyperplasia with the pollen extract, cernilton: a double-blind, placebo-controlled study. **British Journal of Urology**, Londres, v. 66, n. 4, p. 398–404, 1990.

BUM, E. N.; DAWACK, D. L.; SCHMUTZ, M.; RAKOTONIRINA, A.; RAKOTONIRINA, S. V.; PORTET, C.; JEKER, A.; OLPE, H.-R.; HERRLING, P. Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction. **Fitoterapia**, Milão, v. 75, p. 309–314, 2004. <https://doi:10.1016/j.fitote.2004.01.012>

CABRAL, I. S. R. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antibacteriana da própolis vermelha brasileira**. 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CADETE, S.; CUNHA, L. M.; LIMA, R. C. Translation into Portuguese and exploratory application of the Food Neophobia Scale and of the Variety Seeking Tendency Scale. In: SENSIBER – IBERO-AMERICAN SENSORY ANALYSIS SYMPOSIUM, 1., 2010, São Paulo. **Anais** [...]. São Paulo: ABCS, 2010.

CAMPOS, M.G.R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; CHRISTIAN, F.; FERREIRA, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research**, [S.l.], v. 47, p. 154–161, 2008.

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil**. 2008. 248 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1818–1825, 2007.

CHAER, G.; DINIZ, R.; RIBEIRO, E. A técnica do questionário na pesquisa educacional. **Evidência**, Araxá, v. 7, n. 7, p. 251–266, 2011.

CODEVASF. **Apoio da CODEVASF fortalece produção de mel e pólen em Sergipe**. 2017. Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br/noticias/2017-1/apoio-da-codevasf-fortalece-producao-de-mel-e-polen-em-sergipe/>. Acesso em: 16 out. 2018.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Standard for cocoa powders (cocoas) and dry mixtures of cocoa and sugars**. CXS 105-1981. 3 p. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

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**, [S.l.], v. 28, p. 622–627, 2003.

CONTE, P.; DEL CARO, A.; BALESTRA, F.; PIGA, A.; FADDA, C. Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. **LWT – Food Science and Technology**, [S.l.], v. 90, p. 1–7, 2018.

CORDER, G. W.; FOREMAN, D. I. **Nonparametric statistics for non-statisticians: a step-by-step approach**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2011.

COUTINHO, M. P. L.; BÚ, E. A técnica de associação livre de palavras sobre o prisma do *software tri-deux-mots (version 5.2)*. **Revista Campo do Saber**, Cabedelo, v. 3, n. 1, p. 219–243, 2017.

CUNHA, A. P. **Farmacognosia e fitoquímica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010. 670 p.

DAMASCENO, B. C.; MENDES, J.; BELIN, P. A. F.; PEGHINELLI, V. V.; LIMA, G. P. P.; DIAMANTE, M. S.; MANI, F. Análise do potencial nutricional e de aminos bioativas em açúcares comerciais (refinado, cristal, mascavo, demerara e de coco). **Revista Simbio-Logias**, Botucatu, v. 9, n. 12, p. 84–85, 2017.

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

DE-MELO, A. A. M.; ESTEVINHO, M. L. M. F.; SATTler, J. A. G.; SOUZA, B. R.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Effect of processing conditions on characteristics of dehydrated bee-pollen and correlation between quality parameters. **LWT - Food Science and Technology**, [S.l.], v. 65, p. 808–815, 2016.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 14, n. 2, p.389–399, 2012.

DIAS, C. A. Grupo focal: técnica de coleta de dados em pesquisas qualitativas. **Informação & Sociedade**: estudos, João Pessoa, v. 10, n. 2, 2000.

DOOLEY, L.; LEE, Y. S.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, [S.l.], v. 21, p. 394–401, 2010.

DONOGHUE, S. Projective techniques in consumer research. **Journal of Family Ecology and Consumer Sciences**, [S.l.], v. 28, p. 47–53, 2000.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. rev. e ampl. Curitiba: Champagnat, 2011. 426 p.

DUTCOSKY, S. D. **Pesquisa sensorial com consumidores**. 2015. Disponível em: <https://docs.ufpr.br/~aanjos/SENSOMETRIA/slides/Sensorial%20Consumidor.pdf>. Acesso em: 07 out. 2018.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p.181–201, 2011.

ENGLER, P. C. **Avaliação da qualidade oxidativa de margarinas adicionadas de extratos de casca de noz-peçã [*Carya illionoinensis* (Wangenh) C. Koch] e de alecrim [*Rosmarinus Officinallis*]**. 2013. 180 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.

EPAGRI. **Produção e processamento de pólen apícola**. Florianópolis: EPAGRI, 2017. 28 p. (Boletim Didático, 140).

ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, Estocolmo, v. 39, p. 561–564, 1960.

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ (ESALQ). **Banco de Imagens de Pólen de plantas apícolas**. 2017. Disponível em: <http://www.lea.esalq.usp.br/polen/>. Acesso em: 10 out. 2018.

ESTEVINHO, L. M.; RODRIGUES, S.; PEREIRA, A. P.; FEÁS, X. Portuguese bee

pollen: Palynological study, nutritional and microbiological evaluation. **International Journal Food Science and Technology**, Oxford, v. 47, p. 429–435, 2012.

EUROMONITOR Internacional. **As 10 principais tendências globais de consumo 2019**. 2019. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4586762/mod_resource/content/1/Artigo%201%20%2010%20Tende%CC%82ncias%20Globais%20de%20Consumo%202019.pdf. Acesso em: 20 mar. 2023.

EYRES L.; EYRES M. F.; CHISHOLM A.; BROWN R.C. Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans. **Nutrition Reviews**, Oxford, v. 74, n. 4, p. 267–80, 2016.

FÉAS, X.; VÁSQUEZ-TATO, M.P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J.A.; IGLESIAS, A. Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, 10 antioxidant activity and microbiological quality. **Molecules**, Basileia, v.17, n.7, p.8359–8377, 2012.

FERREIRA, R. C. **Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* Latreille submetido a diferentes processos de desidratação**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2012.

FERREIRA, E. V. R.; FRANCO, S. P. B.; SANTOS, A. F.; SOUZA, R. C. Allelopathic activity of broom (*Scoparia dulcis* L.) on the germination of invasive plants. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 15, n. 2, e7368, 2020.

FEDERAÇÃO NACIONAL DE APICULTORES PORTUGUESES (FNAP). **Manual de produção de pólen e própolis**. Lisboa: Federação Nacional de Apicultores Portugueses, 2010. 24 p.

FOOD CONNECTION. **Alimentos funcionais: atendendo ao desejo do consumidor**. 2022. Disponível em: <https://www.foodconnection.com.br/ingredientes/alimentos-funcionais-atendendo-ao-desejo-do-consumidor>. Acesso em: 20 jun. 2022.

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

FRIGERIO, C. **Otimização e Influência na bioactividade do processo de secagem por radiação infravermelha de amostras de pólen apícola**. Dissertação (Mestrado em Controle da Qualidade, Água e Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2009.

GARDANA, C.; DEL BO, C.; QUICAZÁN, M. C.; CORRREA, A. R.; SIMONETTI, P. Nutrients, phytochemicals, and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.] v. 73, p. 29–38, 2018.

GOMES, S. R. Grupo focal: uma alternativa em construção na pesquisa educacional. **Cadernos de Pós-Graduação**, [S.l.], v. 4, p. 39–46, 2009.

GIACOMETTI, J.; MUHVIĆ, D.; PAVLETIĆ, A.; ĐUDARIĆ, L. Cocoa polyphenols exhibit antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and anti-necrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 23, p. 177–187, 2016.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 1999.

GIL, M.; URIBE, D.; GALLEGU, V.; BEDOYA, C.; ARANGO-VARELA, S. Traceability of polyphenols in cocoa during the postharvest and industrialization processes and their biological antioxidant potential. **Heliyon**, [S.l.], v. 7, n. 8, e07738, 2021.

GOIS, G. C.; LIMA; C.A.B, SILVA, L. T.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 7, n. 2, p.137–147, 2013.

GONG, G. *et al.* Isorhamnetin: a review of pharmacological effects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 128, 110301, 2020.

GUPTA, A.; SANWAL, N.; BAREEN, M. A.; BARUA, S.; SHARMA, N.; OLATUNJI, O. J.; NIRMAL, N. P.; SAHU, J. K. Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective, **Food Research International**, [S.l.], v. 170, 113046, 2023.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Pre-column Phenylisothiocyanate derivatization and Liquid-Chromatography of Aminoacids in Food. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 72, n. 6, p. 912–916, 1989.

HAMAMOTO, R.; ISHIYAMA, K.; YAMAGUCHI, M. Inhibitory Effects of Bee Pollen *Cistus ladaniferus* Extract on Bone Resorption in Femoral Tissues and Osteoclast-Like Cell Formation in Bone Marrow Cells in Vitro. **Journal of Health Science**, [S.l.] v. 52, n. 3, p. 268–275, 2006.

HASSAN, H. M. M., Chemical Composition and Nutritional Value of Palm Pollen Grains. **Global Journal of Biotechnology and Biochemistry**, Nigéria, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2011.

HUMAN, H.; NICOLSON, S. W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (*Asphodelaceae*). **Phytochemistry**, [S.l.], v. 67, n. 14, p. 1486–1492, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

JAEGER, S. R.; BERESFORD, M. K.; PAISLEY, A. G.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; CADENA, R. S.; *et al.* Check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization by consumers: Investigations into the number of terms used in CATA questions. **Food Quality and Preference**, [S.l.], v. 42, p. 154–164, 2015.

JARAMILLO, S. et al. The flavonol isorhamnetin exhibits cytotoxic effects on human colon cancer cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 20, p. 10869–10875, 2010.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6. ed. EUA: Aspen food science text series, 2000.

JIN, T-Y.; SARAVANAKUMAR, K.; WANG, M-H. In vitro and in vivo antioxidant properties of water and methanol extracts of linden bee pollen. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S.l.], v. 13, p. 186–189, 2018.

JOHNSON, D. Focus groups. In: ZWEIZIG, D.; JOHNSON, D. W.; ROBBINS, J.; BESANT, M. **Tell it! Evaluation sourcebook & training manual**. Madison: SLIS, 1994.

JOY, J.M.; LOWERY, R. P.; WILSON, J. M., PURPURA M., DE SOUZA, E.O.; WILSON, S.M., KALMAN, D. S., DUDECK, J. E., JÄGER, R. The effects of 8 weeks of whey or Rice protein supplementation on body composition and exercise performance. **Nutrition Journal**, [S.l.], v. 12, p. 86, 2013.

JUSTINO, R. F.; PORTELA, M. C. C. **Utilização do pólen apícola e bactérias probióticas no desenvolvimento de iogurte sabor acerola**. 2015. Trabalho acadêmico. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). Disponível em: http://prpi.ifce.edu.br/nl/_lib/file/doc66-Trabalho/RUTE.pdf. Acesso em: 10 out. 2018.

KRYSTYJAN, M.; GUMUL, D.; ZIOBRO, R.; KORUS, A. The fortification of biscuits with bee pollen and its effect on physicochemical and antioxidant properties in biscuits. **LWT- Food Science and Technology**, [S.l.], v. 63, p. 640–646, 2015.

KAMINSKY, T. **Características de qualidade do pólen apícola desidratado**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação e Nutrição), Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

KETKAR, S. S.; RATORE, A. S.; LOHIDASAN, S.; RAO, L.; PARADKAR, A.; MAHADIK, K. R. Investigation of the nutraceutical potential of monofloral Indian mustard bee pollen. **Journal of Integrative Medicine**, [S.l.], v. 12, n. 4, p. 379–389, 2014.

MĂRGHITAȘ, L. A.; STANCIU, O. G.; DEZMIREAN, D. S.; BOBIȘ, O.; POPESCU, O.; BOGDANOV, S.; CAMPOS, M. G. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 115, p.878–883, 2009.

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

MATOS, V. R. **Caracterização química e palinológica da própolis produzida no litoral norte do estado da Bahia**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Botânica),

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2012.

MATTAR, F. N. **Pesquisa de Marketing: Metodologia, Planejamento**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 1999. 335 p.

MEDEIROS, M. de L.; MACHADO, D. F. C.; PASSADOR, J. L. Técnicas projetivas: aplicações, limitações e potenciais para o uso em pesquisas em turismo. **Marketing & Tourism Review**, Belo Horizonte, v. 2, n. 1, p. 1–29, 2017.

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL (LANUTRI). **Tipos de açúcar**. 2014. Disponível em: <https://lanutri.injc.ufjf.br/2019/12/09/tipos-de-acucar0>. Acesso em: 20 ago. 2023.

LeBLANC, B.W.; DAVIS, O.K.; BOUE, S.; DELUCCA, A.; DEEBY, T. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. **Food Chemistry**, [S.l.], v.115, p. 1299–1305, 2009.

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

LI, J.; WANG, G.; DU, S. Research progress on antitumor effect and mechanism of isorhamnetin, **Shanxi Medical Journal**, Tayuan, v. 40, n. 12, p. 1215–1217, 2011.

LI, Q. Q.; WANG, K.; MARCUCCI, M. C.; SAWAYA, A. C. H. F. HU, L.; XUE, X-F.; WU, L. M.; HU, F-L. Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 49, p. 472–484, 2018.

LIEBSCHER, P. Quantity with quality? Teaching quantitative and qualitative methods in a LIS Master's program. **Library Trends**, [S.l.], v. 46, n. 4, p. 668–680, 1998.

LILEK, N.; GONZALES, A.P.; BOŽIČ, J.; BOROVŠAK, A.K.; BERTONCEL, J. Chemical composition and content of free tryptophan in Slovenian bee pollen. **Journal of Food and Nutrition Research**, Nova Jersey, v. 54, n. 4, p. 323–333, 2015.

LIMA, L.C.L.; SILVA, F.H.M.; SANTOS, F.A.R. Palinologia de espécies de Mimosa L. (Leguminosae - Mimosoideae) do Semiárido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 794–805, 2008.

LOPES, S. A. **Desenvolvimento de uma barra de cereais com potencial atividade antioxidante utilizando pólen apícola desidratado**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, 2016.

LOPES, A.C.; MORAES, A.; BOBEK, V.B. Pesquisa fitoquímica em Panes da região dos campos gerais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 20, p. 35–44, 2019.

KAŠKONIEN, V.; RUOČKUVIENĖ, G.; KAŠKONAS, P.; AKUNECA, I.; MARUŠKA, A. Chemometric Analysis of Bee Pollen Based on Volatile and Phenolic

Compound Compositions and Antioxidant Properties. **Food Analytical Methods**, [S.l.] v. 8, p. 1150–1163, 2015.

MANOUSHI, N.; SARA KATS IANOS, I.; SAMANIDOU, V. Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds from Medicinal and Aromatic Plants. **Engineering Tools in the Beverage Industry**, [S.l.], v. 3, p. 283–314, 2019.

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**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 949–953, 2006.

MEDEIROS, A. J. D. **Pólen apícola coletado por abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas) no semiárido potiguar**. 2017. 155 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2017.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.

MELO, A. A. M. **Perfil químico e microbiológico, cor, análise polínica propriedades biológicas do pólen apícola desidratado**. Tese (Doutorado em Bromatologia), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

MENEZES, J. D. S. **Compostos bioativos do pólen apícola**. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

MENEZES, J. D. S.; MACIEL, L. F.; MIRANDA, M. S.; DRUZIAN, J. I. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 233–42, 2010.

MILFONT, M. O.; FREITAS, B. M.; ALVES, J. E. **Pólen apícola: manejo para a produção de pólen no Brasil**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2011.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013. 332 p.

MODRO, A. N. H.; MESSAGE, D.; LUZ, C. F. P.; MEIRA NETO, J. A. A. Flora de importância polinífera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.5, p.1145–1153, 2011.

MOHDALY, A. A. A.; MAHMOUD, A. A.; MOHAMED, H. H. R.; SMETANSKA, I.; RAMADAN, M. F. Phenolic Extract from Propolis and Bee Pollen: Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities. **Journal of Food Biochemistry**, [S.l.], v. 39, 2015.

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World**, [S.l.], v. 73, n. 1, p. 5–28, 1992.

MORAIS, G. Q.; BURGOS, M. G. P. A. Impacto dos nutrientes na saúde óssea: novas tendências. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 42, n. 7, p. 189–194, 2007.

MOURA, J. T. **Importância e valor nutricional do pólen de *Cocos nucifera* para abelhas africanizadas cultivadas no litoral alagoano**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014.

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

NASCIMENTO, M. E. N. *et al.* Avaliação físico-química e microbiológica de diferentes marcas de bebidas lácteas tipo Ultra High Temperature (UHT) sabor chocolate comercializadas em Sobral – Ceará. *In*: CORDEIRO, C. A. M.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. (org.). **Ciência e tecnologia de alimentos: o avanço da ciência no Brasil**. Guarujá, SP: Editora Científica Digital, 2022. v. 1.

NEGRÃO, A. F. **Efeito da sazonalidade no teor proteico e composição de aminoácidos no pólen apícola produzido em Botucatu**. 2014. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

NEGRI, G.; BARRETO, L. M. R. C.; SPER, F. L.; CARVALHO, C.; CAMPOS, M. G. R. Phytochemical analysis and botanical origin of *Apis mellifera* bee pollen from the municipality of Canavieiras, Bahia State, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2016176, 2018.

NOBUYOKI, I. Antioxidants: carcinogenic and chemopreventiv properties. **Encyclopedia of Cancer**, [S.l.], v.1, n.1, p.89–101, 2003.

NOGUEIRA, C. M. P. **Estudo do pólen apícola comercial**. 2012. 92 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2012.

NOGUEIRA, C.; IGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHO, L. M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 9, p. 11173–11187, 2012.

NOVAIS, J.S.; LIMA, L.C.L; SANTOS, F.A.R. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, Londres, v. 48, p. 224–234, 2009.

OLIVEIRA, A. F. **Análise sensorial dos alimentos**. Londrina: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2010.

OLIVEIRA, G. L. S. Capacidade antioxidante celular da rutina frente ao dano oxidativo induzido em linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 36, n. 3, p. 461–466, 2015.

OS ANTIOXIDANTES. Food Ingredients Brasil, n. 6, p. 16–30, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso em: 14 out. 2018.

OSELAME, C. J. **Produção de bebida láctea não fermentada achocolatada com adição de permeado de soro de leite.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

PARK J.W.; OH, J.H.; HWANG, D.; KIM, S.M.; MIN, J.H.; SEO, J.Y.; CHUN, W.; LEE, H.J.; OH, S.R.; LEE, J.W.; AHN, K.S. 3,4,5-Trihydroxycinnamic acid exerts anti-inflammatory effects on TNF- α /IFN- γ -stimulated HaCaT cells. **Molecular Medicine Reports**, Londres, v. 24, n. 1, p. 509, 2021.

PEGORARO, A. **Técnicas para boas práticas apícolas.** Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2007.

PEGORARO, A.; FERRAZ, M. M.; PFAW, E.; MOURA, M. E. K.; NUNES, T. M. D.; NIENOW, V. V.; POLAK, L.; BORIO, C. L.; KRÜGER, E.; TEIXEIRA, R. A.; LIMA, M. A. O.; COSTA, D. C. P. B.; MARTINS, W. J.; MERCER, A. S.; BORSSATI, F. **Aspectos práticos e técnicos da apicultura no Sul do Brasil.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2017. 282 p.

PEGORARO, B. **Desenvolvimento de um iogurte com geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola.** 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

PEREIRA, G. N. O. **Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea não fermentada adicionada de concentrado proteico de soro de leite (WPC) e sucralose.** 2019. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

PINHEIRO, F. D. M.; COSTA, C. V. P. das N.; BAPTISTA, R. D. C.; VENTURIERI, G. C.; PONTES, M. A. N. 2012. **Pólen de abelhas indígenas sem ferrão *Melipona fasciculata* e *Melipona flavolineata*: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial.** Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/408842>. Acesso em: 05 out. 2020.

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

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 179–187, 2006.

PITARO, S. P.; JORGE, N.; FIORANI, L. V. Efeito antioxidante do extrato de manjerição em óleo de soja sob condições de oxidação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, 2012.

PLINER, P.; HOB DEN, K. Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. **Appetite**, [S.l.], v. 19, p. 105–120, 1992.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RAMAN, M.; AMBALAM, P.; DOBLE, M. Probiotics, prebiotics, and fibers in nutritive and functional beverages. In: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (org.). **Nutrients in beverages**. London: Academic Press, 2019. p. 315–367.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, [S.l.], v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REBELO, K. S.; FERREIRA, A. G.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 5, p. 927–932, 2016.

ROCHA, J. F. M. **Avaliação do efeito de armazenamento na qualidade do pólen apícola**. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Instituto Politécnico Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2013.

RODRIGUES, D. P. **Efeito do congelamento sobre a estabilidade da polpa de kiwi adicionada de extrato aquoso de pólen apícola**. 2013. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Pato Branco, 2013.

ROININEN, K.; LÄHTEENMÄKI, L.; TUORILA, H. Quantification of Consumer Attitudes to Health and Hedonic Characteristics of Foods. **Appetite**, Finlândia, v. 33, n. 1, p. 71–88, 1999.

SANTOS, D.C.; NETO, L.G.M.; MARTINS, J.N.; SILVA, K.F.N.L. Avaliação da qualidade físico-química de amostras de méis comercializadas na região do Vale do Jaguaribe-CE. **Revista Verde**, Juazeiro, v. 4, p. 21–26, 2009.

SANTOS, F.A.R. Identificação botânica do pólen apícola. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, p. 4–9, 2011.

SANTOS, C. F. O. Variação do tamanho de grãos de pólen pelo método da acetólise. **An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 18, p. 235–242, 1961.

SASSE, A.; COLINDRES, P.; BREWER, M. S. Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of cooked, frozen pork patties. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n. 1, p. 30–35, 2009.

SATTLER, J. A. G.; ALMEIDA-MURADIAN, L. G. Análises de qualidade de pólen apícola. In: GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle de qualidade de alimentos e bebidas: uma abordagem teórico-prática**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS DO CEARÁ (SEBRAE). **Técnicas de manejo para produção do pólen**. 2015. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/tecnicas-de-manejo-para-producao-do-polen,3f58fa2da4c72410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 05 out. 2018.

SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS DO CEARÁ (SEBRAE). **Estudo de mercado – Agronegócios: Produção do Pólen**. 2017. SEBRAE –BA. Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas Bahia. Disponível em: <http://m.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/BA/Anexos/P%C3%B3len%20na%20Bahia.pdf>. Acesso em: 05 out. 2018.

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL (SENAR). **Cacau**: produção, manejo e colheita. Brasília, DF: SENAR, 2018.

SERAFINI, L. F. **Atividade antioxidante dos extratos de manjerona e pólen apícola**: efeitos na qualidade de hambúrguer. 2013. 136f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2013.

SERAGLIO, S.K.T.; VALESE, A.C.; DAGUER, H.; BERGAMO, G.; AZEVEDO, M.S.; NEHRING, P.; GONZAGA, L.V.; FETT, R.; COSTA, A.C.O. Effect of in vitro Gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of Mimosa scabrella benthham Honeydew honeys. **Food Research International**, [S.l.], v. 99, p. 670–678, 2017.

SERRA BONVEHÍ, J.; SOLIVA TORRENTÓ, M.; CENTELLES LORENTE, E. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honey bee collected pollen produced in Spain. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Cambridge, v. 9, n.4, p.1848-1853, 2001.

SERVIÇO SOCIAL DA INDÚSTRIA (SESI). **Alimente-se bem**. 2021. Disponível em: <https://alimentesebem.sesisp.org.br/arquivos/noticia/tipos-de-acucar>. Acesso em: 09 jul. 2023.

SILVA, E. V. C.; MEDEIROS, L. F. P. S.; MONTEIRO, D. B.; SILVA, G. F. Elaboração de bebida láctea pasteurizada sabor bacuri enriquecida com pólen. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 01–09, 2010.

SILVA, E. V. C. da; OLIVEIRA, E. M.; GOMES, L. M. Elaboração e caracterização de biscoito enriquecido com pólen coletado pelas abelhas *Apis mellifera*. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23, p. 170–171, 2009.

SILVA, C. E. F.; ANDREOLA, K.; ALMEIDA, R. M. R. G.; SOUZA, J. E. A.; TARANTO, O. P.; ABUD, A. K. S. Diversificação tecnológica da cadeia produtiva de polpa de fruta com o uso de fontes de proteína natural: desenvolvimento de produtos funcionais. In: ISTI/SIMTEC, 2016, Aracaju, SE. **Anais [...]**. Aracaju: [s.n.], 2016. v. 3, n. 1, p. 496–502.

SILVEIRA, T. D.; WOBETO, C. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de mel e

pólen apícola de Mato Grosso. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (CBCTA), 25., 2016, Gramado. **Anais [...]**. Gramado: [s.n.], 2016.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 28, p. 49–55, 1977.

SINIMU, F. **Mapa da flora vai orientar apicultores no Nordeste** - EMBRAPA Meio Norte. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/23881474/mapa-da-flora-vai-orientar-apicultores-no-nordeste>. Acesso em: 20 out. 2018.

SMITH, D. F. Benefits of flavanol-rich cocoa-derived products for mental well-being: A review. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 5, p. 10–15, 2013.

SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, Washington DC, v. 39, n.10, p.1412–1415, 1967.

STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 103, n. 2, p. 215–223, 2003.

SOARES, J. S.; MORAIS, J. B. S.; FREITAS, T. E. C. Aspectos Metabólicos e Nutricionais do Magnésio. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, Madri, v. 35, n. 2, p. 67–74, 2015.

SOARES, L. L. S.; DELIZA, R.; GONÇALVES, E. B. Attitudinal scales used in consumer studies: translation and validation to the Portuguese language. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n.1, p. 51–64, 2006.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. 3. ed. London: Elsevier Academic Press, 2004. 377 p.

SZCZĘSNA, T. Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen from selected botanical origins. **Journal of Apicultural Science**, London, v. 50, n. 2, 2006.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO (NEPA). **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP, 2011.

TAHA, E.-K. A.; AL-KAHTANI, S. A.; TAHA, R. Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S.l.], v. 26, p. 232–237, 2019.

TAKETOMI, E. A.; SOPELETE, M. C.; MOREIRA, P. F. S.; VIEIRA, MACHADO, F. A. Pollen allergic disease: pollens and its major allergens. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 562–567, 2006.

TAVARES, L. M. **Dormideira - Vida em Destaque**. 2012. Disponível em: <https://www.fcencias.com/2012/09/21/planta-em-destaque-dormideira/>. Acesso em: 03 de out. 2018.

TEIXEIRA, R. M. **Elaboração e análise sensorial de bebidas esportivas pós-treino à base de leite com café e cacau**. 2019. 116 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

TOMCZYK, M.; ZAGULA, G.; DZUGAN, M. A simple method of enrichment of honey powder with phytochemicals and its potential application in isotonic drink industry. **LWT – Food Science and Technology**, [S.l.], v. 125, 2020.

TULASHIE, S. K.; AMENAKPOR, J.; ATISEY, S.; ODAI, R.; AKPARI, E. E. A. Production of coconut milk: a sustainable alternative plant-based milk. Case Studies in Chemical and Environmental Engineering, [S.l.], v. 6, 100206, 2022.

UNITED STATES. **USDA national nutrient database for standard reference, release 25**. Nutrient Data Laboratory, 2012. Traduzida pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Disponível em: <https://tabnut.dis.epm.br/alimento/19165/cacau-po-seco-sem-adocante>. Acesso em: 17 set. 2023.

VASCONCELOS, M. R. S.; DUARTE, A. W. F.; GOMES, E. P.; SILVA, S. C.; LÓPEZ, A. M. Q. Physicochemical composition and antioxidant potential of bee pollen from different botanical sources in Alagoas, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 4, p. 447–458, 2017.

ZULUAGA, C.; MARTÍNEZ, A.; FERNÁNDEZ, J.; LÓPEZ-BALDÓ, J.; QUILES, A.; RODRIGO, D. Effect of high pressure processing on carotenoid and phenolic compounds, antioxidant capacity, and microbial counts of bee-pollen paste and bee-pollen-based beverage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 37, p. 10–17, 2016.

ZULUAGA-DOMÍNGUEZ, C.; SERRATO-BERMÚDEZ, J.; QUICAZÁN, M. Influence of drying-related operations on microbiological, structural and physicochemical aspects for processing of bee-pollen. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, [S.l.], v. 11, n. 2, p. 57–64, 2018.

WAGENLEHNER, F. M.; SCHNEIDER, H.; LUDWIG, M.; SCHNITKER, J.; BRÄHLER, E.; WEIDNER, W. A pollen extract (Cernilton) in patients with inflammatory chronic pelvic pain syndrome: a multicentre, randomized prospective, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. **European Urology**, [S.l.], v. 56, n. 3, p. 544–551, 2009.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino acids analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, [S.l.], v. 8, n. 4, p. 170–177, 1986.

YILDIZ, R.; MASKAN, M. Optimization of a green tea beverage enriched with honey and bee pollen. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [S.l.], v. 30, 100597, 2022.

APÊNDICE A – PESQUISA SOBRE BEBIDA DE PÓLEN ON-LINE

PESQUISA SOBRE BEBIDA DE PÓLEN

Prezado(a) entrevistado(a),

Contamos com a sua colaboração para responder ao questionário a seguir, de um projeto de pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sobre consumo de uma bebida funcional e hábitos de consumo. Um dos ingredientes é o pólen apícola. Pólen apícola é “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”. Você não é obrigado a participar. Os dados são sigilosos e destinam-se estritamente a atividades de pesquisa. Suas respostas são de extrema importância para traga as informações confiáveis. Caso tenha alguma dúvida, poderá entrar em contato com as pesquisadoras: Micheline Lopes (michelinetl@yahoo.com.br) – Doutoranda da Universidade Federal ou Jennifer Lima (jennylima10@gmail.com) – Bolsista de Iniciação Científica da Universidade Federal do Ceará.

☐ Li e confirmo a aceitação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

*Faixa etária

- menos de 20 anos
- 20 a 29 anos
- 30 a 39 anos
- 40 a 49 anos
- 50 anos ou mais.

*Gênero

- Feminino
- Masculino
- Prefiro não dizer

*Situação civil

- casado (a)
- solteiro (a)
- divorciado (a)
- Viúvo
- Outro

*Grau de escolaridade

- ensino fundamental completo
- ensino médio incompleto
- ensino médio completo
- ensino superior incompleto
- ensino superior completo
- pós-graduação completa

1. Pólen apícola é “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”. Sabendo disso, você consumiria esse

produto?



- sim
- não

2. Se respondeu sim, de que forma consumiria?

- in natura
- com leite
- com suco
- com iogurte
- com chá
- com café
- outro: _____

3. Se respondeu não, por que não consumiria?

4. Você consome quais itens abaixo:

- aveia
- chia
- linhaça
- amaranto
- granola
- quinoa
- não consumo

5. Pólen apícola é considerado um alimento nutritivo, contém carboidratos, proteínas, aminoácidos essenciais, lipídios, vitaminas, minerais e compostos bioativos como carotenoides, flavonoides e fitoesteróis. Além disso tem atividade antioxidante e antimicrobiana. Sabendo disso, você consumiria esse produto?

- sim
- não

6. Você consumiria uma bebida à base de pólen apícola?

- sim
- não
- talvez

7. Quais dos itens abaixo você gostaria que tivesse na bebida de pólen apícola:

- suco de frutas cítricas

- suco de frutas como manga, goiaba, maçã
- leite de origem animal
- “leite” de coco
- “leite” de castanha de caju
- “leite” de soja

8. Em que momento do dia você consumiria a bebida de pólen apícola?

- lanche da manhã
- almoço
- lanche da tarde
- jantar

9. Você pratica algum tipo de esporte ou frequenta academia regularmente?

- sim
- não

10. Entre uma bebida rica em proteínas e uma bebida tradicional, qual você escolheria?

- rica em proteínas
- tradicional
- não faz diferença

11. Entre uma bebida rica em proteínas e uma rica em compostos antioxidantes, qual você escolheria?

- rica em compostos antioxidantes
- rica em proteínas
- não faz diferença

12. Por favor, escreva de forma espontânea as quatro primeiras palavras, termos, frases, sentimentos ou sensações que vêm a sua mente ao pensar em uma bebida rica em proteínas à base de pólen, sem glúten e com adição de “leite” vegetal.

APÊNDICE B – FICHA DA 1ª ANÁLISE SENSORIAL

ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA À BASE DE PÓLEN

P_____

Sexo: () Feminino () Masculino

Faixa etária: () menos de 18 () 19 – 25 () 26 – 35 () 36 – 45 () 46 – 55 () + de 56

Estado civil: () Casado () Solteiro () Separado ou Divorciado () Outros

Grau de instrução: () Fundamental () Médio () Superior incompleto

() Superior completo () Pós-graduação () Outros

1. Você consome produtos com cacau?

() Sim () Não Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

2. Qual sua frequência de consumo de produtos com cacau?

() Diariamente () Entre 3 e 5 vezes por semana () Quinzenalmente () Mensalmente () Raramente

3. Você consome produtos com leite de coco?

() Sim () Não Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

Qual a frequência? () Diariamente () Entre 3 e 5 vezes por semana () Quinzenalmente () Mensalmente () Raramente

4. Você consome produtos com mel?

() Sim () Não Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

Qual a frequência? () Diariamente () Entre 3 e 5 vezes por semana () Quinzenalmente () Mensalmente () Raramente

5. Você já consumiu pólen?

() Sim () Não

6. Se sim, de que forma?

() *In natura* () Cápsula () No Suco () Outro: _____

7. Quanto você gostou do produto?

() Gosto MUITÍSSIMO () Gosto Muito () Gosto Moderadamente

8. O que o motivaria o consumo do produto de pólen?

() Benefícios a saúde () Curiosidade () Produto Nutritivo () Outro: _____

9. Você é intolerante à lactose?

() Sim () Não

10. Por favor, escreva, de forma espontânea, as quatro primeiras palavras, termos, frases, sentimentos ou sensações que vem a sua mente ao pensar em uma bebida à base de pólen, com leite de coco, mel e cacau em pó.

Obrigada

P _____

TESTES

1. Agora, você irá degustar as amostras. Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto com relação à: **IMPRESSÃO GLOBAL, APARÊNCIA, AROMA, SABOR, DOÇURA E TEXTURA.**

- (1). Desgostei muitíssimo
 (2). Desgostei muito
 (3). Desgostei moderadamente
 (4). Desgostei ligeiramente
 (5). Nem gostei, nem desgostei
 (6). Gostei ligeiramente
 (7). Gostei moderadamente
 (8). Gostei muito
 (9). Gostei muitíssimo

Amostra	Impressão Global	Aparência	Aroma	Sabor	Doçura	Textura (Corpo)

O que mais gostou? _____

O que menos gostou? _____

2. Indique sua intenção de compra em relação às amostras:

- (5). Certamente compraria
 (4). Provavelmente compraria
 (3). Talvez compraria
 (2). Provavelmente não compraria
 (1). Certamente não compraria

Amostra	Nota

3. Por favor, agora avalie a doçura e a textura da bebida conforme a Escala do Ideal:

- (-4) Extremamente menos forte que o ideal
 (-3) Muito menos forte que o ideal
 (-2) Moderadamente menos forte que o ideal
 (-1) Ligeiramente menos forte que o ideal
 (0) Ideal
 (+1) Ligeiramente mais forte que o ideal
 (+3) Muito mais forte que o ideal
 (+2) Moderadamente mais forte que o ideal
 (+4) Extremamente mais forte que o ideal

Amostra	Doçura	Amargor	Textura (Corpo)

4. Por favor, ordene as amostras na ordem de preferência (da menos preferida para a mais preferida):

- preferida

+ preferida

APÊNDICE C – FICHA DA 2ª ANÁLISE SENSORIAL**ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA COM PÓLEN**

P. _____

Sexo: () Feminino () Masculino**Faixa etária:** () menos de 18 () 19 – 25 () 26 – 35 () 36 – 45 () 46 – 55
() mais de 56**Estado civil:** () Casado () Solteiro () Separado ou Divorciado () Outros**Grau de instrução:** () Fundamental () Médio () Superior incompleto ()
Superior completo () Pós-graduação () Outros**Qual a sua renda familiar (SM=salários-mínimos)?**

() Até 2 SM () Entre 2 e 6 SM () Entre 6 e 10 SM () Entre 11 e 30 SM () + 30 SM

Você consome produtos com cacau? () Sim () Não

Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

Quais produtos com cacau?() Chocolate com cacau 50% () Chocolate com cacau 70%-80 () Manteiga de
cacau () Nibs de cacau () Outros: _____**Qual sua frequência de consumo de produtos com cacau?**

() Diariamente () Entre 3 e 5 vezes por semana () Quinzenalmente

() Mensalmente () Raramente

Você consome produtos com leite de coco? () Sim () Não

Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

Quais produtos com leite de coco?() Leite de coco *in natura* () Leite de coco em pó () Doce de leite de coco

() Em preparações salgadas (ex.: moquecas e outras) () Outros _____

Qual a frequência de consumo de produtos com leite de coco?

() Diariamente () Entre 3 e 5 vezes por semana () Quinzenalmente

() Mensalmente () Raramente

Você consome produtos com mel? () Sim () Não

Se sim, você: () Gosta MUITÍSSIMO () Gosta Muito () Gosta Moderadamente

Quais produtos com mel?

() mel puro () hidromel () mel com frutas () mel com cereais () em molhos

Outros: _____ **Qual a frequência?** () Diariamente () Entre 3 e 5

vezes por semana () Quinzenalmente () Mensalmente () Raramente

Você já consumiu pólen apícola? () Sim () Não **Se sim, de que forma?**() *In natura* () Cápsula () Outro: _____**Quanto você gostou do produto com pólen apícola?**

() Gosto MUITÍSSIMO () Gosto Muito () Gosto Moderadamente

O que o motivaria o consumo do produto com pólen apícola?

() Benefícios a saúde () Curiosidade () Produto Nutritivo () Outro:

Você se identifica com qual (is) das alternativas abaixo?

() Sou vegano (a). () Sou vegetariano (a). () Flexitariano. () Sou intolerante a lactose.

() Sou alérgico a proteína do leite. () Tenho intolerância alimentar. () Eu como de
tudo. () Nenhuma.**Quantas vezes por semana você pratica atividade física?**() nenhuma () uma a duas () três a quatro () cinco a seis () todos os
dias

FICHA DO TESTE DE ACEITACAO

P _____

1. Agora, você irá degustar as amostras. Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto com relação à: **IMPRESSÃO GLOBAL, APARÊNCIA, COR, AROMA, SABOR, DOÇURA, AMARGOR E TEXTURA (CORPO).**

- (9). Gostei muitíssimo
 (8). Gostei muito
 (7). Gostei moderadamente
 (6). Gostei ligeiramente
 (5). Nem gostei, nem desgostei
 (4). Desgostei ligeiramente
 (3). Desgostei moderadamente
 (2). Desgostei muito
 (1). Desgostei muitíssimo

Amos- tra	Impres- são Global	Apa- rência	Cor	Aroma	Sabor	Doçura	Amar- gor	Textura (corpo)

2. Indique a sua intenção de compra do produto avaliado, de acordo com a escala abaixo:

- (5). Certamente compraria
 (4). Provavelmente compraria
 (3). Talvez compraria
 (2). Provavelmente não compraria
 (1). Certamente não compraria

Amostra	Nota

Em quais ocasiões consumiria o produto?

- () refeições () lanches () ocasiões especiais () em qualquer ocasião
 () outros _____

3. Por favor, agora avalie a doçura, o amargor e a textura da bebida conforme a Escala do Ideal:

- (-4) Extremamente menos forte que o ideal
 (-3) Muito menos forte que o ideal
 (-2) Moderadamente menos forte que o ideal
 (-1) Ligeiramente menos forte que o ideal
 (0) Ideal
 (+1) Ligeiramente mais forte que o ideal
 (+2) Moderadamente mais forte que o ideal
 (+3) Muito mais forte que o ideal

Amostra	Doçura	Amargor	Textura (Corpo)

(+4) Extremamente mais forte que o ideal

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL – QUALITATIVA

Por favor, analise se as sensações descritas abaixo se aplicam ao produto que você está degustando. Se sim, marque-as. Em seguida, somente nos termos que foram marcados, insira o grau de intensidade de acordo com a escala:

CÓD. AMOSTRA _____

- () Interessante
- () Estranheza
- () Atraente
- () Enjoativo
- () Agradável
- () Desagradável
- () Satisfação
- () Apreensão
- () Gostoso
- () Felicidade
- () Surpresa
- () Indiferença
- () Curioso
- () Decepção
- () Feio

Cor marrom

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Claro ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ Escuro

Cor de achocolatado

[illegible]

Aroma doce

[illegible]

Aroma de cacau

[illegible]

Aroma de chocolate

[illegible]

Aroma de mel

[illegible]

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado por **Maria Micheline Teixeira Lopes** como participante da pesquisa intitulada **“BEBIDA À BASE DE PÓLEN: PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E AVALIAÇÃO SENSORIAL”**. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos. **Objetivo do estudo:** Avaliar a aceitabilidade e descrever as principais características sensoriais da bebida com pólen. **Benefícios:** Obter uma bebida de boa qualidade nutricional e sensorial. **Riscos:** A degustação e o preenchimento do formulário não representarão quaisquer riscos de ordem física ou psicológica, salvo se o (a) senhor (a) possuir qualquer tipo de **ALERGIA** ao pólen apícola, leite de coco, cacau em pó, mel ou açúcar demerara. Sendo assim, você **NÃO PODERÁ PARTICIPAR** desta pesquisa, inclusive **GESTANTES, LACTANTES e DIABÉTICOS**. **Sigilo:** As informações fornecidas por você terão sua privacidade garantida pelo pesquisador responsável. **Direito de recusar ou desistir do consentimento:** O senhor (a) não tem que participar desta pesquisa se não desejar ou, pode ainda escolher participar e posteriormente desistir, sem prejuízo para ambas as partes. **Endereço da responsável pela pesquisa:** Avenida Doutor Guarani, 317, Jocely Dantas de Andrade Torres, Sobral – CE. CEP: 62.042 - 030. Nome: Maria Micheline Teixeira Lopes, pelo telefone: (88) 99911-6544.

Eu, _____, RG: _____ declaro que é de livre e espontânea vontade que estou como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas.

Sobral, _____ Data ____/____/____
Nome do participante da pesquisa

Sobral, _____ Data ____/____/____
Nome do Pesquisador