

Méis monoflorais portugueses.

Contribuição para a caracterização físico-química, composição volátil e avaliação das propriedades biológicas

Alexandra M. Machado ¹, Miguel Vilas Boas ², Maria Graça Miguel ³, Ana Cristina Figueiredo ¹

¹ Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM Ciências), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Biotecnologia Vegetal (BV), DBV, C2, Piso 1, Campo Grande, 1749 016 Lisboa, Portugal

² CIMO, Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300 253 Bragança, Portugal

³ Faculdade de Ciências e Tecnologia, Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005 139 Faro, Portugal

Introdução

Portugal apresenta uma grande riqueza e diversidade de flora melífera nas diversas regiões do continente e ilhas, o que permite a produção de vários méis monoflorais, isto é, méis com predominância de pólen de uma determinada espécie botânica. De entre estes, destacam-se o de eucalipto, incenso, laranjeira, rosmaninho, e também o mel de urze, Tabela 1, Figura 1. Os méis monoflorais são muito apreciados pelas suas características organolépticas diferenciadas, com aromas únicos, provavelmente com origem no néctar das flores, indicativo da presença de compostos voláteis responsáveis pelas suas fragâncias distintivas. Os méis monoflorais são produzidos maioritariamente a partir do néctar de um determinado tipo de flor, enquanto os méis multiflorais resultam da recolha dos néctares com origens florais diversas (Programa Apícola Nacional 2020-2022, 2019; Jaafar et al., 2020).

Tabela 1. Exemplos de méis monoflorais portugueses e % de pólen que padronizam a sua classificação monofloral.

Mel monofloral / Nome comum da espécie botânica dominante	Nome científico	% pólen ¹
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>	> 10%
Alfarrobeira	<i>Ceratonia siliqua</i>	> 45%
Castanheiro	<i>Castanea sativa</i>	> 77%
Colza	<i>Brassica napus</i> e outras <i>Brassica</i> spp.	> 60%
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	> 83%
Framboesa	<i>Rubus idaeus</i> e outros <i>Rubus</i> spp.	> 53%
Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	> 12%
Medronheiro	<i>Arbutus unedo</i>	8-20%
Incenso	<i>Pittosporum undulatum</i>	> 30%
Laranjeira	<i>Citrus x sinensis</i> e outros <i>Citrus</i> spp.	> 10%
Rosmaninho	<i>Lavandula stoechas</i> , <i>L. pedunculata</i> , <i>L. luisieri</i>	> 15%
Soagem	<i>Echium plantagineum</i> e outros <i>Echium</i> spp.	> 70%
Urze	<i>Erica</i> spp.	> 45%

¹ % de pólen requerida para classificação monofloral de acordo com Machado et al., 2022a.

A análise melissopalínológica permite a identificação e quantificação da percentagem de pólen nos méis por exame microscópico, sendo a técnica utilizada mais frequentemente para determinar a origem botânica e geográfica do mel (Von Der Ohe et al., 2004). Este procedimento analítico requer um analista muito experiente, bem como a disponibilidade de uma coleção abrangente de grãos de pólen para comparação.

Geralmente, um mel é considerado monofloral se a frequência relativa do pólen de uma determinada espécie botânica compreender pelo menos 45% do total de pólenes das plantas nectaríferas presentes na amostra. Porém, verificam-se algumas exceções resultantes da presença de tipos de pólen sub ou sobre representados,

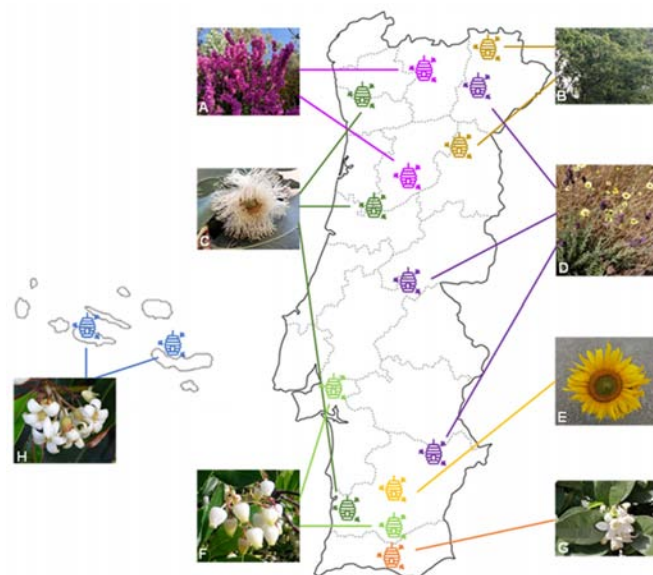


Figura 1. Exemplos da flora melífera de Portugal continental e das ilhas dos Açores: (A) urze, (B) castanheiro, (C) eucalipto, (D) rosmaninho, (E) girassol, (F) medronheiro, (G) laranjeira, (H) incenso (Adaptado do Programa Apícola Nacional 2020-2022, 2019)

o que poderá influenciar as percentagens polínicas mínimas para classificar os méis como monoflorais, Tabela 1. Os méis de *Citrus* spp. (laranjeira), ou de *Arbutus unedo* (medronheiro) são exemplos de méis com percentagens de pólen sub-representados em relação ao néctar, enquanto os méis de *Castanea sativa* (castanheiro) ou *Eucalyptus* spp. (eucalipto), apresentam elevadas taxas de pólen comparativamente ao néctar (Persano Oddo and Bogdanov, 2004; Von Der Ohe et al., 2004; Juan-Borrás et al., 2015).

O mel, reconhecido como um produto alimentar de elevada qualidade, é um dos produtos mais adulterados a nível mundial, depois do azeite e do leite (García, 2018; Fakhlaei et al., 2020). Este fator, associado com o crescente número de consumidores preocupados com a autenticidade do mel, aumentou a procura por métodos analíticos fiáveis, de modo a estabelecer critérios que garantam a respetiva autenticidade.

Para além dos elevados teores em hidratos de carbono, o mel apresenta ainda na sua composição vários compostos bioativos em menor quantidade, cujas propriedades biológicas são o alvo de estudos aprofundados nos últimos anos, destacando-se a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante de feridas, antioxidante ou anticancerígena. Estas características fazem do mel mais do que um simples alimento com propriedades nutricionais elevadas, funcionando também como uma valiosa fonte dietética de compostos com propriedades benéficas ao organismo.

Apesar de se produzir em Portugal uma grande diversidade de méis monoflorais, a caracterização destes méis em termos físico-químicos e das suas propriedades biológicas permanece escassa.

O presente artigo resultou de um trabalho de Doutoramento (Machado, 2022), que visou contribuir para o conhecimento da composição e avaliação das propriedades biológicas de 51 méis portugueses rotulados pelos produtores como monoflorais, produzidos em diferentes regiões de Portugal continental, incluindo as ilhas dos Açores, Figura 2. A investigação incidiu sobre 12 tipos de méis monoflorais, designadamente de alecrim, alfarrobeira, castanheiro, eucalipto, framboesa, girassol, incenso, laranjeira, medronheiro, rosmaninho, soagem e urze, Tabela 1. Estes méis foram avaliados em termos de: a) confirmação melissopalínológica, b) controlo da qualidade microbiológica, c) caracterização físico-química ao nível da cor, humidade, condutividade elétrica, acidez livre, lactónica e total, teor em hidroximetilfurfural, índice diastásico, teor em prolina e perfil de açúcares d) perfil volátil, e) diferenciação da origem botânica entre os diferentes tipos de mel, f) atividade biológica *in vitro* e g) composição fenólica em méis selecionados.

Análise melissopalínológica

A análise polínica classificou 53% dos méis analisados como monoflorais, confirmando a informação na rotulagem, e os restantes como multiflorais. Da totalidade dos méis, 16% foram classificados como multiflorais com predominância de um tipo específico de pólen (Machado et al., 2022a).



Figura 2. Determinações realizadas nos méis em estudo

Controlo da qualidade microbiológica

No que diz respeito ao controlo microbiológico, verificou-se que os méis avaliados apresentaram uma qualidade microbiológica conforme com os critérios de aceitação para os vários microrganismos analisados, nomeadamente, bactérias aeróbias mesófilas, $<10^3$ unidades formadoras de colónias (UFC)/g, e para leveduras e bolores, $<10^2$ UFC/g. Foi, no entanto, detetada a presença de *Clostridium* spp. numa das amostras, o que poderá ser indicativo de contaminação através de equipamentos, instalações, ou mesmo poluição ambiental. Ao invés, verificou-se a ausência de *Enterobacteriaceae*, <10 UFC/g, incluindo *E. coli* (Machado et al., 2022a). >>

Pub.

Caracterização físico-química

Em termos de parâmetros físicos foram avaliadas a cor, a humidade e a condutividade elétrica, e nos parâmetros químicos, a acidez livre, lactónica e total, o teor em hidroximetilfurfural, o índice diastásico, a prolina e o perfil em açúcares. Os parâmetros físico-químicos avaliados indicaram concordância com os limites definidos na legislação nacional e europeia referentes ao mel, contribuindo desta forma para certificar a sua qualidade. De entre os parâmetros analisados, 5 destacaram-se pelo seu potencial em contribuir para a diferenciação entre os méis monoflorais, em particular, a condutividade elétrica, a cor, a acidez livre e total, e o índice diastásico. Já a análise do perfil em açúcares, concordante com os índices de qualidade exigidos para méis de néctar, não permitiu identificar diferenças associadas à origem botânica (Machado et al., 2022a).

Perfil volátil

Na avaliação do aroma dos méis foram identificados 192 compostos voláteis (Machado et al., 2021). Este estudo implicou a recolha da componente volátil por hidrodestilação, identificando-se como compostos maioritários (e" 5%) os hidrocarbonetos, na sua maioria alcanos (*n*-nonadecano, *n* heneicosano, *n*-tricosano e *n*-pentacosano) e ácidos gordos de cadeia longa (ácidos palmítico, linoleico e oleico), incluindo os seus ésteres. Em menor percentagem foram identificados monoterpenos oxigenados [óxido de *cis*- e *trans*- linalol (furanóide), hotrienol] e sesquiterpenos. Identificaram-se ainda o fenilacetaldéido e o 3,4,5-trimetilfenol, presentes em todas as amostras analisadas. No mel de medronheiro, os compostos dominantes foram os apocarotenóides, nomeadamente a á-isoforona. Foram também identificados compostos voláteis comuns a outros méis monoflorais de diversos países, indicativo da presença de possíveis compostos marcadores específicos a alguns tipos de méis. A título de exemplo, referem-se o antranilato de metilo e os aldeídos de lilás no mel de laranja, ou a 2' aminoacetofenona e a acetofenona para o mel de castanheiro (Machado et al., 2020).

Atividade biológica

Na avaliação das atividades biológicas *in vitro* destacaram-se, devido à sua atividade antimicrobiana, os méis de castanheiro, eucalipto, medronheiro e urze. Esta atividade foi mais relevante contra bactérias como a *Staphylococcus aureus*, e, embora mais fraca, contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, mas também contra leveduras como a *Candida albicans*. Estes méis confirmaram também um elevado poder antioxidantes. Já os méis de incenso e de laranja destacaram-se na capacidade de cicatrização de feridas em células de uma linha celular humana de queratinócitos (HaCat). Importa ainda referir que ao nível das doses testadas nos ensaios de atividade biológica, nenhum dos méis em análise apresentou citotoxicidade (Machado, 2022; Machado et al., 2022b).

Composição fenólica

A análise do perfil fenólico permitiu identificar vinte e seis compostos fenólicos (dez ácidos fenólicos e dezasseis flavonóides), para além de dois isoprenóides (isómeros do ácido abscísico). Entre os ácidos fenólicos identificados, quatro são derivados do ácido benzóico e

seis são derivados do ácido cinâmico. Os dezasseis flavonóides identificados estão distribuídos pelas diferentes classes: sete flavonóis, quatro flavonas, duas flavanonas e três di-hidroflavonóis. Os méis de medronheiro e de urze, em particular o primeiro, destacaram-se pelo maior teor em fenóis totais (Machado, 2022; Machado et al., 2022b).

Conclusão

Os resultados obtidos no âmbito deste estudo contribuem para a valorização dos méis monoflorais portugueses quer no mercado nacional quer internacional, bem como para o incentivo da preservação da biodiversidade e promoção de ecossistemas equilibrados. É igualmente relevante a urgente necessidade de legislar os méis monoflorais e, em particular, avaliar uma correta rotulagem do mel, de modo a garantir ao consumidor a confirmação da origem botânica do mel.

Nesse sentido, os resultados deste trabalho permitiram formular uma recomendação global de parâmetros, métodos e valores que podem ser usados como referência na caracterização de um mel monofloral. Também do ponto de vista da composição volátil foi possível definir determinadas características específicas, que podem contribuir para a avaliação da respetiva qualidade. Pretendeu-se assim, preencher lacunas no conhecimento e contribuir para definir métodos, parâmetros e ações a definir no futuro.

Este trabalho constituiu um ponto de partida no estudo da diversidade dos méis monoflorais Portugueses. Vários aspetos merecem destaque e deverão ser futuramente explorados, de forma a contribuir para o desenvolvimento do conhecimento nesta área, dos quais se evidenciam, entre outros: i) avaliar um maior número de amostras por tipo de mel, de modo a validar alguns dos parâmetros físico-químicos como discriminantes entre méis monoflorais, ii) determinar compostos voláteis e/ou fenólicos específicos dos vários méis monoflorais, iii) avaliar a atividade antimicrobiana contra diferentes microrganismos, iv) determinar a relação entre a composição química e as atividades biológicas demonstradas, v) desenvolver e caracterizar a eficácia de formulações para uso tópico, ou outros, de acordo com as atividades biológicas evidenciadas por méis monoflorais selecionados.

Agradecimentos. Os autores agradecem aos apicultores a cedência graciosa de algumas das amostras de mel utilizadas neste estudo. Agradecem ainda a inestimável colaboração dos coautores das publicações que contribuíram para este trabalho. Alexandra M. Machado agradece à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT/MCTES) a bolsa de Doutoramento SFRH/BD/117013/2016. Os autores agradecem à FCT/MCTES o apoio financeiro no âmbito do CESAM UIDB/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020, CIMO UIDB/AGR/00690/2020, MED UIDB/05183/2020.

Referências Bibliográficas

- Fakhlaei, R., Selamat, J., Khatib, A., Razis, A.F.A., Sukor, R., Ahmad, S. and Babadi, A.A. 2020. The toxic impact of honey adulteration: A review. *Foods* 9: 1538.
- Garcia, N.L. The current situation on the international honey market. 2018. *Bee World* 95: 89–94.
- Jaafar, M.B., Othman, M.B., Yaacob, M., Talip, B.A., Ilyas, M.A., Ngajikin, N.H. and Fauzi, N.A.M. A review on honey adulteration and the available detection approaches. 2020. *International Journal of Integrated Engineering* 12: 125–131.
- Juan Borrás, M., Perliche, A., Domenech, E. and Escriche, I. 2015. Correlation between methyl anthranilate level and percentage of pollen in Spanish citrus honey. *International Journal of Food Science & Technology* 50: 1690–1696.
- Machado A.M., Miguel, M.G., Vilas-Boas, M. and Figueiredo, A.C. 2020. Honey volatiles as a fingerprint for botanical origin – a review on their occurrence on monofloral honeys. *Molecules* 25: 374.
- Machado A.M., Antunes, M., Miguel, M.G., Vilas-Boas, M. and Figueiredo, A.C. 2021. Volatile profile of Portuguese monofloral honeys: significance in botanical origin determination. *Molecules* 26: 4970.
- Machado A.M. 2022. Volatile chemical characterization and biological activity assessment of Portuguese honey types – importance of botanical origin, Doutoramento em Biologia, Especialidade de Biotecnologia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Machado, A.M., Tomás, A., Russo-Almeida, P., Duarte, A., Antunes, M., Vilas-Boas, M., Miguel, M.G. and Figueiredo, A.C. 2022a. Quality assessment of Portuguese monofloral honeys. Physicochemical parameters as tools in botanical source differentiation. *Food Research International* 157: 111362.
- Machado A.M., Marto, J., Gonçalves, L.M., Ribeiro, H.M., Duarte, A., Tomás, A., Falcão, S.I., Vilas-Boas, M., Miguel, M.G. and Figueiredo, A.C. 2022b. Biological activities and phenolic profile of selected Portuguese monofloral honeys. (Em preparação)
- Persano Oddo, L. and Bogdanov, S. 2004. Determination of honey botanical origin: Problems and issues. *Apidologie* 35: S2–S3.
- Programa Apícola Nacional 2020–2022. 2019. <https://www.gpp.pt/index.php/pan/programa-apicola-nacional-2020-2022>.
- Von Der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M.L., Morlot, M. and Martin, P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35: S18–S25.