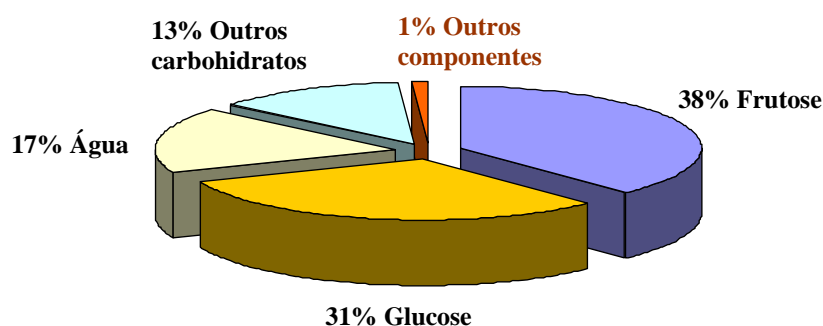


# As Propriedades Antioxidantes do Mel

M. Celeste de Carvalho Serra  
Centro de Estudos de Engenharia Química  
Instituto Superior de Engenharia de Lisboa

Nos últimos anos tem-se assistido a uma intensa pesquisa sobre as propriedades antioxidantes de produtos naturais. O conhecimento das importantes funções que os antioxidantes desempenham na inibição dos radicais livres resultantes do metabolismo celular, tem motivado o interesse pela análise destes compostos em diversos produtos alimentares. Os estudos realizados têm mostrado que os antioxidantes contribuem para a prevenção de doenças associadas ao envelhecimento, diminuindo o risco de doenças cardiovasculares e o aparecimento de cancro<sup>1,2</sup>. Os antioxidantes actuam, também, como conservantes alimentares inibindo reacções de oxidação responsáveis pela degradação dos alimentos<sup>1</sup>.

Embora se caracterize por ser uma mistura com uma elevada concentração em açúcares, o mel apresenta uma composição complexa da qual fazem parte cerca de 180 componentes diferentes. É principalmente constituído por frutose e glucose, mas apresenta, também, outros carboidratos, água e diversos constituintes nos quais se incluem compostos fenólicos e flavonóides, minerais, enzimas, aminoácidos e vitaminas<sup>2</sup> (*Figura 1*).



*Figura 1:* Composição do mel

A composição do mel é, contudo, muito variável uma vez que depende não só da sua origem floral e da espécie de abelhas que o fabricam como também das condições ambientais da zona onde é produzido (tipo de solo e clima) e do modo como é recolhido e posteriormente processado.

Diversos estudos têm comprovado a acção terapêutica do mel, existindo actualmente interesse em avaliar a sua capacidade antioxidante. O mel apresenta na sua constituição compostos que lhe podem conferir propriedades antioxidantes tais como os polifenóis e os flavonóides. Alguns destes compostos já foram identificados no mel nomeadamente os ácidos cinâmico, cafeico, ferúlico e cumárico, a quercetina, a crisina e o canferol<sup>3</sup>.

Os estudos realizados por Tomás-Barberán *et al*<sup>3</sup> demonstraram ainda que a presença de determinados flavonóides pode constituir uma importante ferramenta para a determinação da origem floral e geográfica do mel. Assim, por exemplo, a análise de flavonóides no mel de laranja revelou a presença de um flavonóide característico, a hesperitina. Este composto pode, deste modo, funcionar como indicador da origem floral do mel de laranja. As pesquisas realizadas mostraram, também, a presença de ácido abscísico no mel de urze, canferol no mel de alecrim e quercetina no mel de girassol, os quais constituem importantes indicadores da origem floral de cada um destes tipos de mel. Este assunto reveste-se do maior interesse uma vez que a certificação da origem floral através da identificação no mel de compostos químicos característicos de determinadas espécies florais pode apresentar vantagens significativas em relação à análise polínica actualmente utilizada.

Por outro lado, a quantificação de compostos antioxidantes no mel pode conduzir a uma valorização do produto junto do consumidor em virtude do seu uso tradicional como adoçante poder constituir uma alternativa mais

saudável. A existência destas propriedades pode ainda favorecer a utilização do mel como conservante alimentar natural, sendo já conhecida a sua acção inibidora sobre a reacção que provoca o escurecimento de alimentos<sup>4</sup>.

No âmbito do projecto Avaliação do Potencial Antioxidante do Mel Nacional, inserido no Programa Apícola 2007 - Acção 6 e desenvolvido no Centro de Estudos de Engenharia Química do ISEL em colaboração com a Lousãmel, foram analisadas amostras de mel provenientes dos concelhos da Lousã, Góis e Figueiró dos Vinhos. A caracterização da actividade antioxidante foi efectuada através da determinação dos teores em compostos fenólicos e flavonóides e da quantificação da actividade antioxidante e capacidade de aprisionamento de radicais livres, usando métodos de espectrometria de absorção molecular na zona do visível. Em simultâneo foi realizado um estudo semelhante com méis monoflorais provenientes de quatro regiões distintas de Portugal de modo a estabelecer comparações e na tentativa de encontrar eventuais relações entre a origem floral e as propriedades antioxidantes.

As amostras de mel das regiões da Lousã, Góis e Figueiró dos Vinhos foram fornecidas pela Lousãmel e pertenceram à colheita de 2005, sendo a sua origem floral predominante, a urze e o castanheiro. Foram também recolhidas amostras de méis de trevo e incenso dos Açores, eucalipto da Beira Litoral, laranjeira do Algarve e urze da Beira Baixa, produzidos em 2004 e 2005



Figura 2: Aspectos experimentais

A prévia determinação das propriedades fisicoquímicas de cada um dos tipos de mel nomeadamente pH, acidez total, condutividade eléctrica, teor em cinzas, teor em água e hidroximetilfurfural permitiu, por comparação com valores da literatura, considerar a designações florais referidas nos rótulos das embalagens.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu<sup>5</sup>. No doseamento dos flavonóides foi aplicado o método de Dowd com as modificações sugeridas por Meda *et al*<sup>5</sup>. O teor em antioxidantes e a capacidade de resgate de radicais livres foram avaliados através do poder de inibição de radicais de 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) por parte dos diferentes tipos de mel<sup>5</sup>.

No sentido de encontrar possíveis relações entre a actividade antioxidante do mel e algumas características de fácil observação foi, também, avaliada a cor das diversas amostras segundo o método descrito por Beretta *et al*<sup>6</sup>.

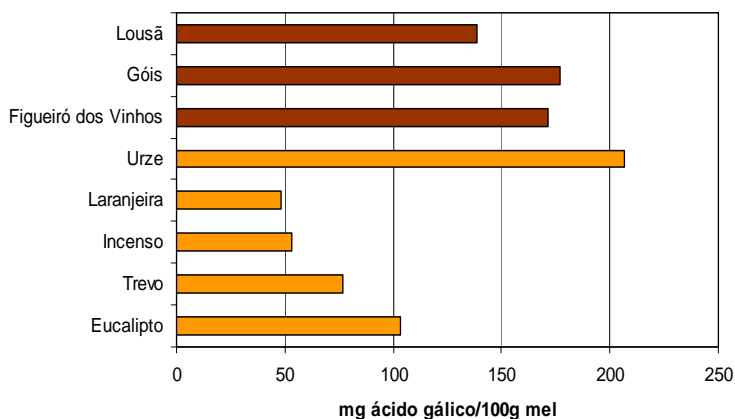
### Teor em compostos fenólicos

O doseamento dos compostos fenólicos em produtos alimentares é frequentemente realizado através do método de Folin-Ciocalteu. Este método fundamenta-se numa reacção de oxidação-redução entre os polifenóis e o reagente de Folin da qual resulta um complexo de cor azul que ao absorver radiação a 765nm permite a quantificação dos compostos fenólicos<sup>1,5</sup>.

Ao aplicar este método, o teor em polifenóis é frequentemente expresso em termos de concentração em ácido gálico pelo que é necessário construir uma curva de calibração com soluções padrão deste composto. A recta de calibração obtida é válida para o intervalo de concentração em ácido gálico ( $C_{AG}$ ) entre 12,5 e 500 mg/L e tem como equação:

$$A_{765} = 0,0011C_{AG} - 0,0206 \quad (r^2 = 0,9969) \quad (1)$$

Ao analisar as diversas amostras de mel pelo método de Folin e aplicando a recta de calibração anterior, foi possível conhecer o teor em compostos fenólicos nos diversos tipos de mel cujos resultados são apresentados graficamente na *Figura 3*.



*Figura 3:* Teor em compostos fenólicos

Conforme se observa, o teor em compostos fenólicos variou significativamente com o tipo de mel analisado, apresentando valores entre 48 e 207 mg ácido gálico/100g de mel. Os méis da Lousãmel apresentaram uma elevada concentração em polifenóis embora inferior à determinada no mel de urze. Dos méis analisados, o mel de laranjeira foi o que apresentou uma menor concentração nestes compostos.

Ao comparar os resultados com os determinados em estudos semelhantes realizados com méis de outros países e de diferente origem floral, onde se referem teores em polifenóis entre 84 e 100 mg ácido gálico/100 de mel<sup>5</sup>, verificou-se que o intervalo de variação determinado neste trabalho é, sem dúvida, mais alargado.

### Teor em flavonóides

Os flavonóides presentes no mel podem ter origem no pólen, na propólis e no néctar sendo a propólis a fonte mais rica em flavonóides<sup>7</sup>.

Um dos métodos para determinar o teor de flavonóides baseia-se no descrito por Dowd para a quercetina e tem como fundamento a formação de um complexo de cor amarela com o cloreto de alumínio<sup>8</sup>. O catião alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides, originando uma coloração amarela que pode ser avaliada através de uma análise espectrofotométrica a 415nm<sup>5,8</sup>.

O teor em flavonóides é expresso em termos de concentração em quercetina sendo por isso necessário o traçado de uma curva de calibração com soluções padrão de quercetina de diferentes concentrações. A equação da recta de calibração, válida para uma gama de concentrações em quercetina ( $C_{QE}$ ) de 0,5 até 50mg/L, foi a seguinte:

$$A_{415} = 0,0247C_{QE} - 0,0238 \quad (r^2 = 0,9972) \quad (2)$$

Na *Figura 4* são apresentados os resultados da aplicação do método de Dowd às diversas amostras de mel.

O teor em flavonóides variou entre 1 e 8 mg quercetina/100g mel, sendo o mel de eucalipto o que evidenciou uma menor concentração nestes compostos. De um modo geral, os resultados indicam não existir uma diferença muito significativa entre teor em flavonóides nos méis da Lousãmel e o determinado nos méis de trevo, incenso e urze.

Na literatura foram encontrados valores de teor em flavonóides em diversos tipos de mel os quais variam entre 0,2 e 8,4 mg de quercetina/100g de mel<sup>5</sup>. Os resultados determinados neste trabalho estão dentro do intervalo de valores referidos por esses autores.

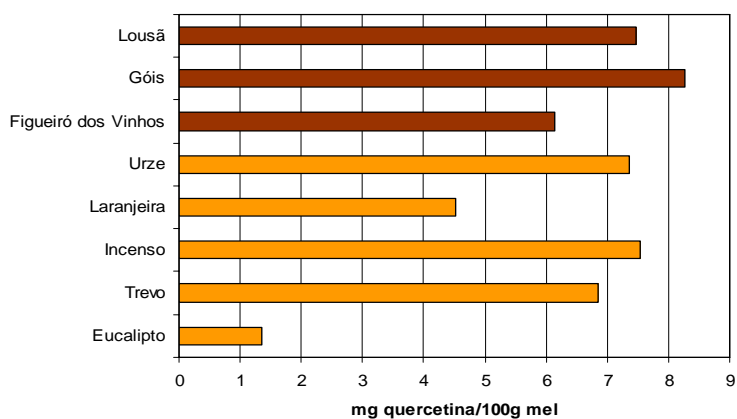


Figura 4: Teor em flavonóides

### Teor em compostos antioxidantes

O estudo da capacidade de inibição de radicais pode ser realizado através de diversos métodos, entre os quais se destaca o que utiliza radicais de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) pela sua frequente aplicação na avaliação da capacidade antioxidante de produtos alimentares<sup>1</sup>. Neste método, os radicais de DPPH, que absorvem a 515nm são, em parte, neutralizados pelos compostos antioxidantes de que resulta uma diminuição da absorvância do sistema reaccional ao referido comprimento de onda.

Em virtude da actividade antioxidante poder ser expressa em termos da concentração em ácido ascórbico foi construída uma curva de calibração usando soluções padrão deste composto com concentrações ( $C_{AA}$ ) entre 0,25 e 20mg/L. A recta de calibração assim obtida apresentou como equação:

$$A_{517} = -0,0518C_{AA} + 0,6286 \quad (r^2 = 0,9988) \quad (3)$$

Ao analisar as amostras de mel foram encontrados teores em compostos antioxidantes que variaram entre 7 e 59 mg de AA/100g de mel. Conforme se observa na Figura 5, o mel de urze apresentou um teor em antioxidantes significativamente mais elevado, seguido dos méis da Lousãmel. Os méis de laranjeira e incenso foram os que demonstraram uma menor concentração em compostos antioxidantes.

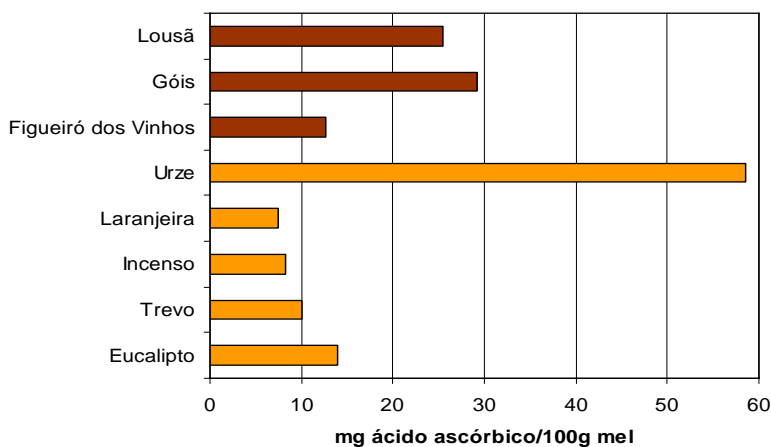


Figura 5: Teor em compostos antioxidantes

Ao comparar com resultados de estudos semelhantes, os quais indicam teores em antioxidantes entre 10 e 64 mg de AA/100g de mel<sup>5</sup>, verificou-se que os valores determinados neste trabalho se encontram na referida gama de valores.

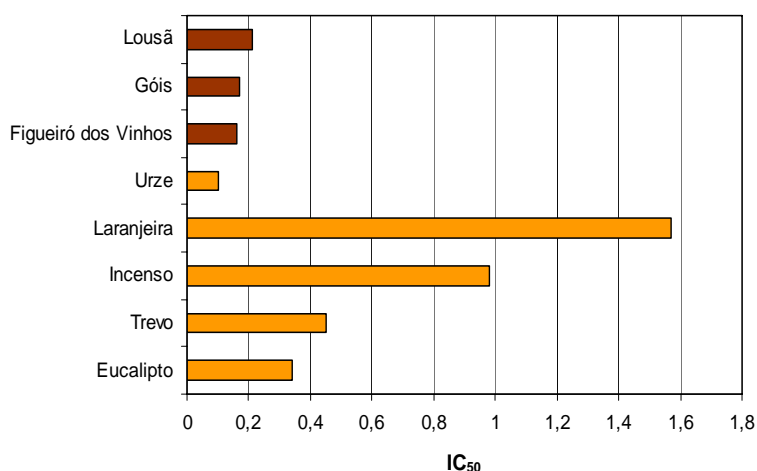
### Capacidade de resgate de radicais livres

A capacidade de resgate de radicais livres pode ser quantificada através do parâmetro IC<sub>50</sub> que representa a concentração do material em análise necessária para inibir 50% de radicais livres. Deste modo, quanto mais elevado for o valor de IC<sub>50</sub> menor será a capacidade da amostra em análise para neutralizar os radicais. A determinação deste parâmetro para os diferentes tipos de mel foi efectuada com base na sua acção sobre os radicais de DPPH.

No sentido de avaliar a capacidade de resposta do método determinou-se, inicialmente, o poder de resgate de radicais de DPPH por parte do ácido ascórbico. Prepararam-se várias soluções com diferentes concentrações em ácido ascórbico e determinou-se a capacidade de inibição de radicais de DPPH de cada uma delas através de medidas de absorvância a 515 nm. Os resultados permitiram determinar a concentração de ácido ascórbico que inibiu 50% de radicais de DPPH a qual foi de 1,9±0,1mg AA/L. Ao comparar com resultados da literatura, o valor encontrado apresenta uma boa concordância com o referido por outros autores (1,8±0,4 mg ácido ascórbico/L)<sup>5</sup>.

Procedendo de um modo semelhante, determinou-se IC<sub>50</sub> para cada tipo de mel, ou seja a concentração da solução de mel que inibe 50% dos radicais de DPPH. Os valores de IC<sub>50</sub> variaram entre 0,1 e 1,5 mg de mel/L e são apresentados na *Figura 6*.

Os méis da Lousãmel apresentaram uma elevada capacidade de resgate de radicais de DPPH embora inferior à determinada no mel de urze. O mel de laranjeira, com o maior valor de IC<sub>50</sub>, mostrou ser o menos eficaz na inibição dos radicais. Por sua vez, o mel de urze revelou a maior capacidade de resgate de radicais de DPPH.



*Figura 6:* Capacidade de resgate de radicais de DPPH (IC<sub>50</sub>)

### Avaliação da intensidade da cor

A determinação da intensidade da cor dos diferentes méis foi realizada com o objectivo de encontrar uma possível relação entre este parâmetro de fácil detecção e a actividade antioxidante. Para a determinação da intensidade da cor de cada um dos méis utilizou-se o método referido por Beretta *et al*<sup>6</sup>.o qual envolveu medidas de absorvância de soluções de mel com igual concentração, ao comprimento de onda de 450 e 720nm.

Conforme se observa no gráfico da *Figura 7*, o mel de flor de laranjeira foi o que apresentou uma menor intensidade de cor tal como era esperado, uma vez que se tratava do mel mais claro. O mel de urze aparentava ser o

mais escuro como se confirmou pela medida da intensidade da cor. Os méis da Lousãmel e o mel de eucalipto eram também escuros e, de facto, apresentaram uma elevada intensidade de cor.

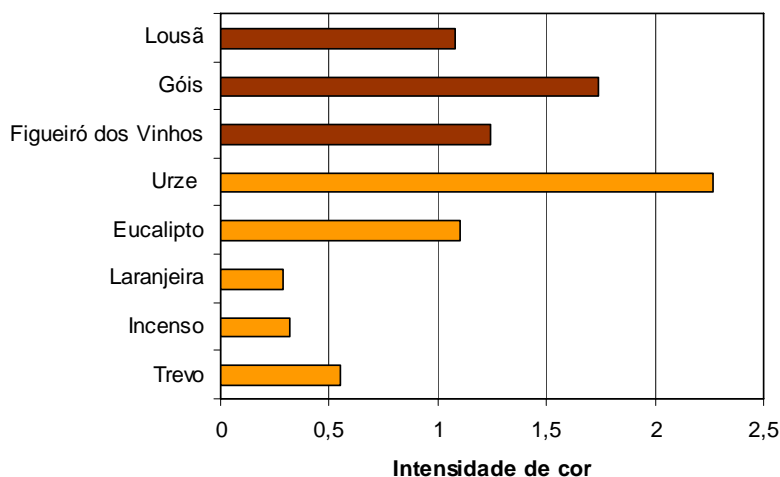


Figura 7: Intensidade de cor

### Correlação entre os parâmetros avaliados

No sentido de procurar possíveis relações entre os diferentes parâmetros em estudo, foi desenvolvida a matriz de correlação apresentada na *Tabela 1*.

Tabela 1: Matriz de correlação

	Teor em polifenóis	Teor em flavonóides	Teor em antioxidantes	1/IC <sub>50</sub>	Intensidade cor
Teor em polifenóis	1	0,1124	0,6329	0,9410	0,9114
Teor em flavonóides	0,1124	1	0,1316	0,1203	0,0546
Teor em antioxidantes	0,6329	0,1316	1	0,7843	0,7972
1/IC <sub>50</sub>	0,9410	0,1203	0,7843	1	0,9151
Intensidade cor	0,9114	0,0546	0,7972	0,9151	1

Analisando os resultados, verifica-se que existe uma boa correlação entre o teor em compostos fenólicos, a intensidade da cor e a capacidade de inibição de radicais livres. De facto, os méis mais escuros foram os que apresentaram maior teor em compostos fenólicos e maior capacidade de resgate de radicais.

O teor em antioxidantes está também relacionado de modo significativo com a intensidade da cor, teor em polifenóis e capacidade de resgate de radicais. Ao considerar por exemplo, o mel de urze verificou-se que este tipo de mel apresentou o teor mais elevado em antioxidantes e polifenóis, o maior poder de resgate de radicais, sendo também o mais escuro.

Em relação aos flavonóides não foram encontradas correlações significativas. Situações semelhantes são referidas na literatura<sup>5</sup> e parecem estar relacionadas com o facto do método de Dowd poder conduzir a uma quantificação parcial dos flavonóides.

## Conclusões

De um modo geral, todos os méis de origem nacional que foram analisados apresentaram uma significativa actividade antioxidante, Estas propriedades devem ser divulgadas de modo a promover o consumo do mel e a valorizar o produto junto do consumidor.

Dos méis analisados, o mel de urze foi o que apresentou o teor mais elevado em compostos fenólicos, a maior capacidade antioxidante e o maior poder de resgate de radicais sendo, também, o mel mais escuro.

Os méis da Lousãmel apresentaram parâmetros de caracterização da actividade antioxidante com valores mais elevados do que os determinados nos outros tipos de mel, à excepção do mel de urze. Estas características devem ser resultantes dos méis da Lousãmel serem produzidos em zonas onde a urze é uma das espécies predominantes.

Finalmente, de acordo com este estudo e segundo alguns autores<sup>2,9</sup>, o mel apresenta uma actividade antioxidante semelhante à determinada em frutos e vegetais e por isso, ao ser usado como adoçante constitui uma saudável alternativa ao açúcar na medida em que pode funcionar como uma fonte importante de antioxidantes.

## Bibliografia

1. Pokorný, J., Yanishlieva, G., *Antioxidants in food: Practical applications*, Woodhead (2001).
2. Gheldof, N., Wang, X., Engeseth, N., Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 5870-5877 (2002).
3. Tomás-Barberán, F. A., Martos, I., Ferreres F., Radovic, B. S., Anklam, E., HPLC flavonoid profiles as markers for the botanic origin of European unifloral honeys, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 485-496 (2001).
4. McKibben, J., Engeseth, N. J., Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground turkey, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 592-595 (2002).
5. Meda, A., Lamien, C., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O., Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity, *Food Chemistry*, **91**, 571-577 (2005).
6. Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Facino, M., Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics, *Analytica Chimica Acta.*, **523**,185-191 (2005).
7. Ferreira, M., Andrade, P., Oliveira, M., Ferreira, I., Leitão, R., Seabra, R., Os compostos fenólicos como possíveis marcadores da autenticidade dos produtos de origem vegetal, *Ciência y Tecnologia Alimentaria*, **1**, 4, 56-63 (1997).
8. Dowd, L. E., Spectrophotometric determination of quercetin, *Analytical Chemistry*, **31**, 7, 1184-1187 (1959).
9. Gheldof, N., Engeseth, N. J, Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3050-3055 (2002).

## Agradecimentos

À Eng<sup>a</sup> Nair Alua e às colaboradoras Eng<sup>as</sup> Vanda Rodrigues e Vanessa Taveira pela activa participação no trabalho experimental; À Lousãmel pelo interesse e colaboração no desenvolvimento do projecto; Ao Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas pelo financiamento concedido.