

Agradecimentos

Concluindo este trabalho, quero e devo agradecer a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a sua realização.

Assim, em primeiro lugar agradeço aos meus pais e irmãos, pois sem eles não poderia concretizar este meu objetivo de concluir o Mestrado.

Agradeço à Prof.^a Doutora Beatriz Oliveira, por todo o seu profissionalismo, apoio, empenho, competência e dedicação demonstrada em todos os momentos na orientação deste trabalho.

Ao Prof.^o Doutor Luís Cunha, por toda a ajuda, disponibilidade demonstrada e pela transmissão de conhecimentos.

Agradeço também à Sónia Soares, pelo companheirismo, ajuda, orientação, conselhos, ânimo e compreensão demonstrada.

À Mestre Anabela Costa que sempre se disponibilizou para auxiliar no que fosse preciso e pelos conhecimentos que me transmitiu.

À Associação de Produtores Lousamel, à Cooperativa de Produtores de mel da Terra Quente, ao Agrupamento de Apicultores de Mel do Barroso e à Associação de Apicultores do Parque Natural de Montesinho.

Ao Eng.^o Paulo Russo que gentilmente se disponibilizou a ajudar e a ensinar como fazer a análise polínica das amostras de méis.

À auxiliar de laboratório, Anabela Borges e a todas as pessoas do Laboratório de Bromatologia que prontamente se disponibilizaram a ajudar em diversas situações.

Um obrigado às funcionárias do laboratório Sense Test, especialmente à Célia Rocha, pela ajuda dispensada na parte da análise sensorial.

Um agradecimento muito especial aos meus grandes amigos, em especial, à Diana Nascimento, Rosana Madureira, Sílvia Nunes e Catarina Monteiro, pelo apoio e paciência que tiveram comigo. O meu muito Obrigado.

Por fim, agradeço a todos os restantes que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

O mel é utilizado pelo Homem desde a pré-história. Nos últimos anos, este produto, tem sido descrito como uma importante fonte de antioxidantes naturais, os quais estão associados à redução do risco de determinadas patologias, nomeadamente, doenças cardíacas, cancro, doenças do sistema imunológico, entre outras.

Este trabalho teve como objetivo a determinação da atividade antioxidante de diferentes méis mono e multiflorais de Urze, Rosmaninho, Laranjeira, Eucalipto, Mirtilo, Castanheiro, Rosmaninho e tília, Rosmaninho e flor de amendoeira, de diferentes origens geográficas, bem como a quantificação do teor em fenóis e flavonoides totais. No sentido de tentar perceber qual a perspetiva dos consumidores de mel, em Portugal, relativamente aos riscos e benefícios associados ao consumo de mel, foi realizado um inquérito a 78 consumidores. Como forma de complemento para o presente trabalho, foi realizada a análise sensorial a 5 dos méis em estudo, usando a técnica de *Flash Profile*.

Após a realização dos ensaios laboratoriais verificou-se que as amostras de Urze e Castanheiro foram as que apresentaram uma maior atividade antioxidante e maior teor de fenóis totais e flavonoides totais. Por outro lado, as amostras que apresentaram uma capacidade antioxidante mais baixa e um valor menor de fenóis e flavonoides totais, foram as amostras de Laranjeira, Eucalipto e Rosmaninho. De um modo geral, constatou-se que as amostras mais escuras apresentaram maiores valores de atividade antioxidante e maior teor dos compostos bioativos analisados, quando comparadas com as amostras mais claras. Contrariamente à origem floral, a origem geográfica das amostras não permitiu tirar conclusões acerca da sua influência na atividade antioxidante e na composição em compostos bioativos do mel.

A análise polínica das amostras permitiu concluir que a maioria das amostras apresentavam maioritariamente grãos de pólen de origem floral semelhante à origem indicada pelo apicultor.

Da análise dos inquéritos aplicados a 78 consumidores de mel, constatou-se que o mel com denominação de origem protegida (DOP) é ainda pouco conhecido e pouco consumido pela maioria dos consumidores de mel. O efeito terapêutico no tratamento de gripes e constipações é o principal benefício apontado pelos inquiridos. Por outro

lado, a Diabetes é o risco mais associado ao consumo de mel. A qualidade e a segurança são os principais fatores diferenciadores entre os méis DOP e os restantes.

Os resultados obtidos no teste de aceitação revelaram que os méis DOP são mais apreciados pelos consumidores, sendo o mel do Parque de Montesinho o que obteve melhores classificações em termos sensoriais. Pela aplicação da técnica de *Flash Profile* verificou-se que em termos sensoriais, o mel da Terra Quente foi o que mais se distinguiu das restantes amostras. Por outro lado, as amostras de mel do Parque de Montesinho e do mel da Serra da Lousã foram classificadas como semelhantes, tal como as amostras do mel do Barroso e do mel de Castanheiro.

Palavras-chave: mel, atividade antioxidante, compostos bioativos, análise polínica, qualidade, consumidor.

Abstract

Honey has been used by man since prehistoric times. In recent years, this product has been described as an important source of natural antioxidants which are effective in reducing the risk of certain diseases, including heart disease, cancer, immune system diseases and others.

The aim of this study was to determine the antioxidant activity of different mono and multifloral honeys of Heather, Rosemary, Orange, Eucalyptus, Blueberry, Chestnut, Rosemary and linden, Rosemary and almond blossom, from different geographical origins, as well as the quantification of total content in phenols and flavonoids. In order to understand the perspective of honey consumers in Portugal, concerning the risks and benefits associated with the consumption of honey, an inquiry was performed to 78 consumers. As a form to complement the present work, tests of sensory analysis were conducted to five honeys under study, which were submitted to the technique Flash Profile.

After performing the laboratory tests was verified that samples of Heather and Chestnut showed the higher antioxidant activity and higher value of total phenolics and total flavonoids. On the other hand, honey samples of Orange, Rosemary and Eucalyptus had a lower antioxidant capacity and a smaller value of phenols and flavonoids. Therefore, in a general way, it was found that darker samples had higher antioxidant activity and higher levels of bioactive compounds analyzed when compared with lighter samples. Contrary to the floral origin, geographic origin of the samples did not allow to draw conclusions about its influence on antioxidant activity and composition of bioactive compounds in honeys.

Pollen analysis showed that most of samples had mainly a pollen source similar to the floral origin indicated by the beekeeper.

From the analysis of the questionnaires applied to 78 honey consumers, it was found that honey with denomination DOP is still little known and slightly consumed by most of honey consumers. Its therapeutic effect in the treatment of colds and flus is the main benefit pointed by the individuals inquired. On the other hand, Diabetes is the major risk associated with the consumption of honey. Quality and safety are main factors that distinguish DOP honeys of other honeys.

The results obtained in the acceptance test revealed that DOP honeys are more appreciated by consumers, and the Parque de Montesinho honey was the one that had the best ratings in sensory terms. By applying the technique of Flash Profile it was found that, in sensory terms, Terra Quente honey was the most distinguished of the remaining samples. On the other hand, the honey samples of Parque de Montesinho and Serra da Lousã were classified as similar, as well as honey samples of Barroso and Chestnut.

Keywords: Honey, antioxidant activity, bioactive compounds, pollen analysis, quality, consumer.

Índice

Agradecimentos.....	1
Resumo.....	3
Palavras-chave.....	4
Abstract.....	5
Keywords.....	6
Índice de Tabelas.....	10
Índice de Figuras.....	11
Lista de Abreviaturas.....	13
I. Introdução.....	14
1. Enquadramento teórico.....	14
2. Antioxidantes.....	14
2.1. Compostos bioativos.....	16
2.1.1. Compostos fenólicos.....	16
2.1.1.1. Flavonoides.....	17
3. Atividade antioxidante.....	18
4. Mel.....	20
4.1. Definição.....	20
4.2. Classificação.....	21
4.2.1. Classificação quanto à origem.....	21
4.2.2. Classificação do mel quanto ao processo de produção e/ou apresentação.....	22
4.3. História do mel.....	22

4.4. Produção e consumo	22
4.5. Mel DOP.....	24
4.6. Propriedades	30
4.6.1. Composição.....	30
4.6.2. Propriedades físico-químicas.....	31
4.6.2.1. Hidratos de carbono.....	32
4.6.2.2. Água.....	32
4.6.2.3. Ácidos orgânicos.....	32
4.6.2.4. Minerais.....	33
4.6.2.5. Cinzas.....	33
4.6.2.6. Compostos azotados.....	33
4.6.2.7. Compostos voláteis.....	33
4.6.2.8. Cor.....	33
4.6.2.9. Espectro polínico.....	34
4.6.3. Propriedades bioativas	34
4.6.3.1. Atividade antimicrobiana.....	34
4.7. Caracterização organolética/sensorial, qualidade e percepção do consumidor.....	35
II. Objetivos e Âmbito.....	38
III. Material e métodos.....	39
1. Amostragem.....	39
2. Reagentes, instrumentos e/ou equipamentos.....	40
3. Determinação de compostos bioativos.....	41

3.1. Fenóis totais.....	41
3.2. Flavonoides totais.....	42
4. Determinação da atividade antioxidante.....	43
4.1. Atividade captora dos radicais DPPH [•]	43
4.2. Poder antioxidante por redução do ião férrico (FRAP)	44
5. Análise Polínica.....	45
6. Inquérito ao consumidor.....	45
7. Análise sensorial.....	45
8. Análise estatística.....	48
IV. Resultados e discussão.....	49
1. Determinação de compostos bioativos.....	49
1.1. Determinação de fenóis totais.....	49
1.2. Determinação de flavonoides totais.....	50
2. Determinação da atividade antioxidante.....	52
2.1. Atividade captora dos radicais DPPH [•]	52
2.2. Poder antioxidante de redução do ião férrico (FRAP)	54
3. Análise polínica.....	55
4. Inquérito de percepção do consumidor.....	59
5. Análise sensorial.....	62
5.1. Estudo de aceitação.....	62
5.2. <i>Flash Profile</i>	63
V. Conclusão.....	68
VI. Referências bibliográficas.....	70
Anexos.....	79

Índice de Tabelas

Tab. 1 - Produção de mel em Portugal. Adaptado de: Anual - INE, Estatísticas da Produção Animal (2012)	23
Tab. 2 - Consumo humano de mel em Portugal. Adaptado de: Anual - INE, Balanços de Aprovisionamento de Produtos Vegetais (2012)	23
Tab. 3 - Caraterísticas físico-químicas e melissopalínológicas dos méis DOP	26
Tab. 4 - Caracterização dos diferentes tipos de mel analisados – origem floral, origem geográfica e ano de produção/aquisição.....	40
Tab. 5 - Tipos de pólen presentes no mel.....	57
Tab. 6 - Alguns exemplos de listas de descritores utilizadas pelos provadores para avaliar as diferentes amostras.....	64

Índice de Figuras

Fig. 1 - Classificação dos antioxidantes. Adaptado de Liu (2004).....	15
Fig. 2 - Estrutura química base dos compostos fenólicos.....	17
Fig. 3 - Estrutura molecular base dos flavonoides.....	18
Fig. 4 - Mapa das zonas geográficas com Denominação de Origem Protegida (Fonte: DGADR do Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Programa Apícola Nacional Triénio de 2011-2013)	25
Fig. 5 - Modelo da qualidade alimentar (Grunert <i>et al.</i> , 1996)	36
Fig. 6 - Curva de calibração de ácido gálico, utilizada para quantificar os compostos fenólicos totais das amostras.....	42
Fig. 7 - Curva de calibração de epicatequina, utilizada para quantificar os flavonoides totais das amostras.....	43
Fig. 8 - Curva de calibração utilizada para determinar o poder antioxidante por redução do ião férrico (FRAP) das amostras de mel.....	44
Fig. 9 - Aspeto geral da cabine de prova, com a apresentação das amostras codificadas, água, bolachas e cuspideira para utilização facultativa.....	46
Fig. 10 - Escala utilizada na avaliação da aceitação dos méis.....	47
Fig. 11 - Fenóis totais das amostras de mel. As letras (a, b, c, d, e e f) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de scheffe com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.....	49
Fig. 12 - Flavonoides totais das amostras de mel. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de scheffe com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.....	50
Fig. 13 - Atividade antioxidante das amostras de mel, expressa em % de inibição. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de tukey com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.....	53
Fig. 14 - Atividade antioxidante das amostras de mel, calculada pelo método FRAP. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de tukey com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.....	54
Fig. 15 - Conhecimento de mel DOP.....	59
Fig. 16 - Benefícios do consumo de mel.....	60
Fig. 17 - Perigos associados ao consumo de mel.....	61

Fig. 18 - Vantagens do mel DOP comparativamente aos restantes méis.....	61
Fig. 19 - Box-plot construído a partir da mediana das diferenças, intervalo inter-quartil, mínimo e máximo. As letras (a, b, c, d) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste não-paramétrico de wilcoxon com significância de $p < 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.....	62
Fig. 20 - Biplot de projeção das diferentes amostras na aplicação do <i>Flash Profile</i>, no plano definido pelas duas dimensões principais do consenso.....	65
Fig. 21 - Biplot de projeção dos descritores utilizados na caracterização das diferentes amostras na aplicação do <i>Flash Profile</i>, no plano definido pelas duas dimensões principais do consenso.....	66

Lista de Abreviaturas

Abs (Absorvência)

AlCl₃ (Cloreto de alumínio)

DGADR (Direção Geral da Agricultura e Desenvolvimento Rural)

DL (Decreto-Lei)

DOP (Denominação de Origem Protegida)

DPPH[•] (Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo)

EAG (Equivalentes ácido gálico)

EC (Epicatequina)

eNOS (Óxido nítrico endotelial)

FCR (Método de Folin-Ciocalteu)

FNAP (Federação Nacional dos Apicultores dos Portugal)

FRAP (Poder antioxidante por redução do ião férrico)

HMF (Hidroximetilfurfural)

HO[•] (radical hidroxilo)

H₂O (Água)

HO₂[•] (radical hidroperóxilo)

INE (Instituto Nacional de Estatística)

NaCO₃ (Carbonato de sódio)

NaNO₂ (Nitrito de sódio)

NaOH (Hidróxido de sódio)

NP (Norma Portuguesa)

¹O₂ (Singleto de oxigénio)

O₂^{•-} (Anião superóxido)

PAN (Programa Apícola Nacional)

QDA (Análise Descritiva Quantitativa)

RFC (Reagente Folin-Ciocalteu)

RNS (Espécies reativas de azoto)

RO[•] (Radical alcóxido)

ROO[•] (Radical peróxido)

ROS (Espécies reativas de oxigénio)

TPTZ (2,4,6 – Tripyridyl-s-Triazine)

I. Introdução

1. Enquadramento teórico

Atualmente, o mercado agroalimentar revela um novo perfil de consumidor, mais consciente, mais racional e, conseqüentemente, mais exigente. A busca pela conveniência, autenticidade, qualidade, segurança, bem como a crescente preocupação com o ambiente e a saúde, constituem as principais razões para as mudanças que têm vindo a ser observadas no comportamento do consumidor face às suas escolhas na aquisição de produtos.

O grau de exigência tem vindo a aumentar essencialmente devido a uma maior informação e consciencialização, por parte dos consumidores, relativamente aos possíveis riscos associados ao que ingerem. Neste sentido, com vista a responder às suas exigências, a indústria alimentar reúne esforços com o intuito de disponibilizar ao consumidor produtos alimentares que satisfaçam as suas necessidades e/ou vontades.

Os alimentos ricos em antioxidantes assumem um papel cada vez mais importante na promoção da saúde, em resultado da presença de compostos bioativos, encontrados naturalmente nos alimentos e que têm despertado grande interesse devido aos efeitos benéficos, destacando-se a sua ação ao nível da prevenção de doenças.

2. Antioxidantes

Segundo Al Mamary *et al.* (2002) um antioxidante define-se como sendo, qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, em relação ao substrato oxidável, atrasa consideravelmente ou previne a oxidação desse mesmo substrato.

Os antioxidantes podem ser classificados em dois grandes grupos: antioxidantes enzimáticos e antioxidantes não enzimáticos (Fig. 1). Os antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas primárias e secundárias, como as superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase. Vitaminas (A, C, E e K), minerais (zinco e selénio) e compostos fenólicos constituem alguns exemplos de antioxidantes não enzimáticos (Liu, 2004; Ratnam *et al.*, 2006).

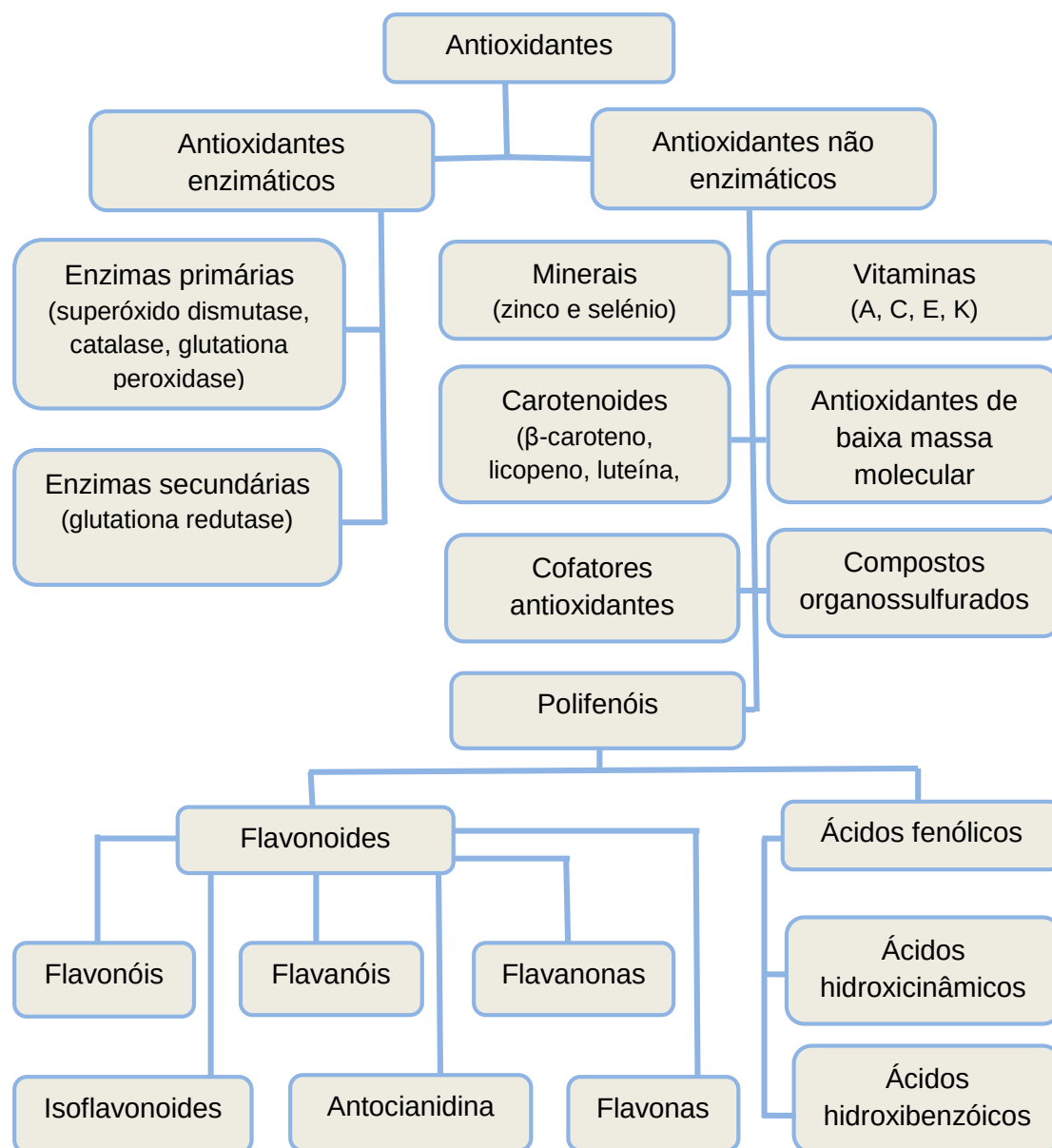


Fig. 1- Classificação dos antioxidantes. Adaptado de Liu (2004).

Nos últimos anos, os antioxidantes têm sido alvo de um interesse crescente por parte de investigadores para a realização de inúmeros estudos epidemiológicos. Neste contexto, esses estudos têm-se focado especialmente nos efeitos benéficos das fontes naturais de antioxidantes, evidenciando o papel significativo que estes desempenham na prevenção de diversas doenças (Barlow, 1990; Stich, 1991). A relação entre a dieta alimentar rica em antioxidantes e o papel funcional dos antioxidantes nos alimentos mostra o efeito benéfico destes compostos não só ao nível da preservação da saúde

humana (Machlin, 1995; Steinmetz e Potter, 1996), mas também da conservação de alimentos (Arráez-Román *et al.*, 2006).

No caso em concreto do mel, sendo este uma fonte natural de antioxidantes, contribui ativamente para a minimização do risco de determinadas doenças, tais como: doença coronária, cancro, cataratas, inflamações e outras patologias. Além disso, em outros alimentos, previne a ocorrência de reações oxidativas responsáveis pela deterioração, como por exemplo: acastanhamento enzimático de frutas e legumes; e oxidação lipídica da carne (Arráez-Román *et al.*, 2006).

O mel apresenta na sua constituição, quer compostos antioxidantes enzimáticos como a glucose oxidase e a catalase, quer não enzimáticos como compostos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico, ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, produtos da reação de Maillard, entre outros (Al-Mamary *et al.*, 2002; Baltrušaitytė *et al.*, 2007; Bertonecelj *et al.*, 2007).

2.1. Compostos bioativos

2.1.1. Compostos fenólicos

Nos últimos anos o interesse pelos compostos fenólicos tem vindo a aumentar de forma considerável devido à elevada capacidade que estes possuem para a eliminação de radicais livres associados a algumas doenças. Esta capacidade tem sido evidenciada em numerosos estudos baseados na medição da atividade antioxidante *in vitro* (Hirayama *et al.*, 1997; Ou *et al.*, 2001; Prior e Cao, 1999; Silva *et al.*, 2007). Além disso, tem sido também suportada por estudos que indicam uma relação benéfica entre os polifenóis e algumas doenças, nomeadamente, cancro (Yang *et al.*, 2001); doenças cardiovasculares, devido à capacidade que estes compostos antioxidantes têm para aumentar consideravelmente a atividade da sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS) (Perron e Brumaghim, 2009); osteoporose; doenças neuro-degenerativas; e diabetes (Scalbert *et al.*, 2005).

Os compostos fenólicos ou polifenóis, que incluem mais de oito mil estruturas diferentes conhecidas, são produtos do metabolismo secundário das plantas e são um dos grupos de compostos naturais com maior importância (Bravo, 1998) e mais abundantes na dieta humana (Scalbert *et al.*, 2005). Caracterizam-se por possuírem um anel aromático com pelo menos um grupo hidroxilo ligado a si (Fig. 2).

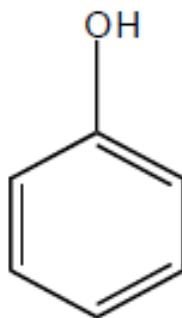


Fig. 2 – Estrutura química base dos compostos fenólicos.

O grupo de compostos fenólicos inclui: fenóis simples (catecol e resorcinol), ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos), estilbenos (resveratrol), flavonóides (quercetina, cianidina e epicatequina) e compostos altamente polimerizados (lenhina e taninos). Estes fitoquímicos estão naturalmente presentes em vários alimentos como frutas, legumes, vinho, chocolate, chá verde e chá preto (Silva *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos permitem determinar a origem geográfica e floral do mel. Neste contexto, alguns estudos demonstraram que a flavanona hesperidina tem sido utilizada como marcador de mel de citrinos (Ferrerres *et al.*, 1994; Ferreres *et al.*, 1998), o flavonol kampferol para o mel de rosmaninho (Ferrerres *et al.*, 1994; Tomás-Barberán *et al.*, 2001), o ácido elágico para o mel de urze (Cherchi *et al.*, 1994; Ferreres *et al.*, 1996a; Ferreres *et al.*, 1996b), os ácidos cinâmicos para o mel de castanheiro (Cherchi *et al.*, 1994) e a flavona luteolina e os flavonóis miricetina, quercetina e kampferol para o mel de eucalipto (Martos *et al.*, 2000a; Martos *et al.*, 2000b).

2.1.1.1. Flavonoides

Segundo Rice-Evans *et al.* (1997) e Robards *et al.* (1999) os flavonoides estão entre as moléculas com maior atividade antioxidante. Estes compostos são metabolitos secundários das plantas e são responsáveis pela determinação das cores de plantas e frutos, influenciando assim a qualidade sensorial dos alimentos e bebidas (Harborne e Williams, 2000).

Os flavonoides incluem um vasto número de famílias de compostos, tais como: flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, antocianidinas e isoflavonoides (Ratnam *et*

al., 2006). Estes compostos são substâncias aromáticas compostas por quinze átomos de carbono (C15), possuindo um esqueleto básico do tipo C6-C3-C6 com dois anéis aromáticos (A e B) unidos por um anel heterocíclico pirânico (Fig. 3).

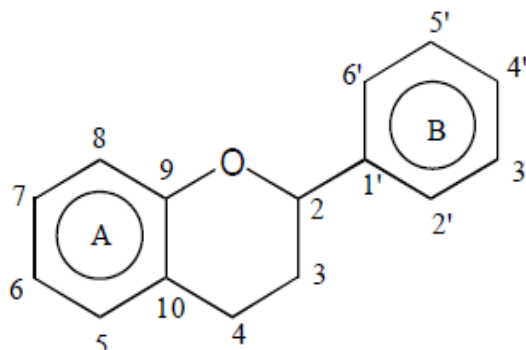


Fig. 3 – Estrutura molecular base dos flavonoides.

Os principais flavonoides presentes no mel são miricetina, tricetina, quercetina, hesperadina, luteolina, caempferol, pinocembrina, crisina, pinobanksina, genkvanina e galangina (Anklam, 1998; Baltrušaitytė *et al.*, 2007; Bertonecelj *et al.*, 2007) que pertencem aos grupos das flavanonas e flavonas. É possível determinar os flavonoides característicos de mel de determinadas origens botânicas, podendo estes ser utilizados na identificação da origem geográfica (Anklam, 1998).

3. Atividade antioxidante

Na sociedade atual verifica-se que o ser humano cada vez mais se vê obrigado a adotar um estilo de vida caracterizado pela prática de uma alimentação rica em excessos, normalmente associada à ausência de exercício físico regular. Esta realidade faz com que o metabolismo se manifeste provocando um aumento da atividade metabólica e, consequentemente, a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) e/ou espécies reativas de azoto (RNS) (Ferreira *et al.*, 2007; Gomez-Pinilla e Nguyen, 2012).

A oxidação consiste num processo essencial aos organismos aeróbios e ao nosso metabolismo humano, sendo os radicais livres produzidos naturalmente, em consequência desse processo de oxidação ou de alguma disfunção biológica (Barreiros *et al.*, 2006).

As espécies reativas de oxigénio (ROS) são produtos do metabolismo celular e incluem radicais livres como o $O_2^{\cdot-}$, o radical hidroperoxilo ($HO_2^{\cdot-}$), o radical hidroxilo ($HO^{\cdot}$), o radical peroxilo ($ROO^{\cdot}$) e o radical alcóxido ($RO^{\cdot}$), bem como espécies não radicais como

o H_2O_2 , o oxigénio singuleto ($^1\text{O}_2$) e o ácido hipocloroso (HClO). Estas espécies, com efeito nocivo designado por stresse oxidativo (Valko *et al.*, 2007) são responsáveis por anomalias a nível celular, nomeadamente doenças como a isquemia cerebral e cardíaca, a doença de Parkinson, distúrbios gastrointestinais, envelhecimento, entre outros (Chantarudee *et al.*, 2012). Os efeitos adversos destas espécies sobre o funcionamento fisiológico normal nos seres humanos são minimizados pela ação do sistema de defesa antioxidante (Aruoma, 1994). Geralmente, estes antioxidantes responsáveis pela proteção das células e, conseqüentemente, da defesa da função fisiológica são obtidos a partir da alimentação e incluem a vitamina C, a vitamina E e compostos fenólicos (Chantarudee *et al.*, 2012). O equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes é essencial para o funcionamento normal do organismo.

Os mecanismos de ação antioxidante incluem barreiras físicas para impedir a formação de ROS ou o acesso das ROS a locais biológicos importantes (filtros UV, membranas celulares); armadilhas químicas que absorvem energia e eletrões, extinguindo as ROS (carotenoides, antocianidinas); sistemas catalíticos que neutralizam ou desviam as ROS (enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (Chaudiere e Ferrari-Iliou, 1999); ligação e / ou inativação de iões metálicos para impedir a formação de ROS (ferritina, ceruloplasmina e catequinas); e quebra da cadeia de antioxidantes que captura e destrói as ROS (ácido ascórbico, tocoferóis, ácido úrico, glutathione e flavonoides) (Benzie, 2003).

Em consequência da crescente preocupação com a saúde, a procura de produtos naturais por parte dos consumidores é cada vez mais frequente. Esta preocupação surge em resultado de uma maior percepção do ser humano acerca dos possíveis efeitos negativos da presença de aditivos sintéticos nos alimentos e traduz-se num aumento do consumo de alimentos ricos em compostos naturais com capacidade antioxidante (Blasa *et al.*, 2007; Javanmardi *et al.*, 2002; Miliauskas *et al.*, 2004; Sacchetti *et al.*, 2005; Wang e Lin, 2000; Yu *et al.*, 2005).

Nos últimos anos, tem havido uma crescente evidência acerca dos benefícios do consumo de mel ao nível da saúde humana. Neste contexto, têm sido desenvolvidos vários estudos no sentido de tentar compreender qual o papel do elevado número de compostos naturais presentes neste alimento natural, no que se refere a efeitos benéficos.

Segundo Al-Mamary *et al.* (2002) e Anklam (1998), a capacidade antioxidante do mel e o seu teor em compostos bioativos depende de fatores como a origem floral, o clima e a temperatura, sendo o primeiro aquele que exerce uma maior influência. Estudos efetuados neste âmbito mostraram que, de um modo geral, méis escuros (Chen *et al.*, 2000; Frankel, 1998; Gheldof e Engeseth, 2002; Nagai *et al.*, 2001) e com maior teor de água (Aljadi e Kamaruddin, 2004; Frankel, 1998) apresentam maior capacidade antioxidante.

4. Mel

4.1. Definição

O mel define-se como uma “substância açucarada natural produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir do néctar de plantas ou das secreções provenientes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas das plantas, que as abelhas recolhem, transformam por combinação com substâncias específicas próprias, depositam, desidratam, armazenam e deixam amadurecer nos favos da colmeia” (Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro).

A produção do mel inicia-se com a recolha do pólen das flores, seguindo-se a elaboração, pelas abelhas que recebem a matéria bruta, concluindo o processo com o enchimento das células do favo de mel (Belitz e Grosch, 1997).

Nos últimos anos, a importância das propriedades do mel, nomeadamente para a saúde humana, têm-se tornado mais evidente e relevante, sendo por isso alvo de vários estudos científicos (Burdock, 1998).

À semelhança de outros produtos alimentares, o mel possui uma reputação que ultrapassa fronteiras, estando assim mais suscetível ao risco de concorrência desleal, quer por usurpação do nome, quer por cópia do produto. Com o intuito de minimizar este risco, a Comunidade Europeia criou, em 1992, sistemas de proteção e de valorização dos produtos agroalimentares – DOP (Denominação de Origem Protegida), IGP (Identificação Geográfica Protegida) e ETG (Especialidade Tradicional Garantida) (Regulamento (CEE) nº 2081/92 do Conselho de 14 de Julho de 1992).

Atualmente, em Portugal, existem nove méis com a designação DOP, sendo eles: mel do Barroso, mel do Ribatejo Norte, mel da Serra da Lousã, mel do Parque de

Montesinho, mel das Terras Altas do Minho, mel da Terra Quente, mel da Serra de Monchique, mel do Alentejo e mel dos Açores.

4.2. Classificação

De acordo com o Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de setembro, os principais tipos de mel podem ser classificados consoante a sua origem e o seu processo de produção e/ou apresentação.

4.2.1. Classificação quanto à origem

No que concerne à origem, o mel pode adquirir a designação de mel de néctar ou mel de flores, quando obtido a partir do néctar das plantas, ou mel de melada, quando a sua obtenção resulta essencialmente de excreções de insetos sugadores de plantas (*hemíptera*) que ficam sobre as partes vivas das plantas ou de secreções provenientes de partes vivas das plantas (Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de setembro).

O mel de néctar ou mel de flores pode ser classificado em mel unifloral ou monofloral, quando provém principalmente da origem de flores de uma mesma família, género ou espécie e possui características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias; ou mel multifloral ou polifloral, quando procede de origens florais diferentes (Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000). Os méis são considerados monoflorais de acordo com três tipos de análises: análises polínicas, análises físico-químicas e análises sensoriais. As análises polínicas permitem identificar a origem botânica do mel, sendo esta designada consoante a percentagem de pólen de uma determinada espécie. Os méis monoflorais incluem o de urze, o de eucalipto e o de rosmaninho. Assim, o mel é considerado unifloral de urze, quando possuir no mínimo 45% de pólen de urze (*Erica* sp.); monofloral de eucalipto quando possuir no mínimo 70% de pólen de eucalipto (*Eucalyptus* sp.); e monofloral de rosmaninho quando possuir no mínimo 15% de pólen de rosmaninho (*Lavandula* sp.). A obtenção de méis monoflorais depende de alguns fatores como as condições edafo-climáticas da região, as variações de temperatura, e até mesmo, as técnicas adotadas pelo apicultor. Os méis monoflorais são mais valorizados do que os méis multiflorais (Maia, 2013).

4.2.2. Classificação quanto ao processo de produção e/ou apresentação

Quanto ao modo de produção e/ou apresentação o mel pode ser classificado como: mel em favos, quando é armazenado pelas abelhas nos alvéolos operculados de favos construídos recentemente pelas próprias abelhas ou de finas folhas de cera gravada realizadas exclusivamente com cera de abelha e que não contenham criação, vendido em favos inteiros ou em secções de favos; mel com pedaços de favos, quando contém um ou vários pedaços de mel em favos; mel escorrido, quando obtido por escorrimento de favos desoperculados que não contenham criação; mel centrifugado, quando obtido por centrifugação de favos desoperculados que não contenham criação; mel prensado, quando obtido por compressão de favos que não contenham criação, sem aquecimento ou com aquecimento moderado a 45°C, no máximo; ou, mel filtrado, quando obtido por um processo de eliminação de matérias orgânicas ou inorgânicas, estranhas à sua composição, que retire uma parte importante do pólen (Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de setembro).

4.3. História do mel

A utilização do mel, pelo Homem, é feita desde os primórdios da humanidade. Os antigos egípcios e gregos usavam o mel para o tratamento de feridas e de problemas gastrointestinais, considerando-o como um produto medicinal (Sato e Miyata, 2000).

Antes do desenvolvimento dos métodos de refinação do açúcar e da cana-de-açúcar, o mel era o único adoçante prontamente disponível para os povos da Europa (Voorhies *et al.*, 1933).

4.4. Produção e consumo

Em Portugal, o número de produtores de mel é elevado, evidenciando a importância do produto para a economia nacional e regional. Segundo informações fornecidas pela FNAP (Federação Nacional dos Apicultores de Portugal), no âmbito do PAN 2011-2013 (Programa Apícola Nacional 2011-2013), em Portugal, estão atualmente registadas 562 557 colónias de abelhas, correspondendo a 4,023% do efetivo europeu (DGADR do Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Programa Apícola Nacional Triénio de 2011-2013).

Dados fornecidos pelo INE (Instituto Nacional de Estatística) comprovam que nos últimos anos, a produção de mel tem vindo a aumentar, registando valores compreendidos entre as 6908 e as 7792 toneladas por ano, respeitantes ao período de 2007 a 2011 (Tab. 1).

Tab. 1- Produção de mel em Portugal. Adaptado de: Anual - INE, Estatísticas da Produção Animal (2012).

Período de referência dos dados	Produção de mel em Portugal (Toneladas)
2011	7792
2010	7426
2009	6919
2008	6654
2007	6908

No que respeita ao consumo de mel para alimentação em Portugal, embora os dados referentes ao período compreendido entre 2007 e 2008 evidenciem um aumento de 6 para 8 toneladas, no período de 2008 a 2011, registou-se um decréscimo no consumo (Tab. 2).

Tab. 2 – Consumo humano de mel em Portugal. Adaptado de: Anual - INE, Balanços de Aprovisionamento de Produtos Vegetais (2012).

Período de referência dos dados	Consumo humano de mel em toneladas (Toneladas)
2010/2011	6*
2009/2010	7
2008/2009	7
2007/2008	8
2006/2007	6

*Dado provisório

Segundo a FNAP, ao longo da última década, tem-se verificado que a Apicultura Portuguesa é um dos sectores da agricultura que tem demonstrado mais resistência e persistência, tendo-se registado nos últimos cinco anos um aumento da capacidade produtiva anual para 12 000 toneladas de mel, o que equivale a uma faturação de 31 milhões de euros. A valorização atual do mercado internacional, a organização do setor e a dinâmica e investimento ao longo dos últimos anos na valorização qualitativa dos produtos da apicultura, são os principais responsáveis pelo bom posicionamento do setor.

4.5. Mel DOP

No mercado atual, a aposta nas denominações de origem protegida consiste numa ferramenta essencial para auxiliar na imposição dos produtos nacionais no mercado nacional e internacional, essencialmente através da qualidade em detrimento do preço (FNAP-Projeto Bioimpact).

Atualmente, em Portugal, existem nove méis sob a designação de Denominação de Origem Protegida (DOP). Os méis DOP possuem características próprias de cada região (Fig. 4 e Tab. 3).

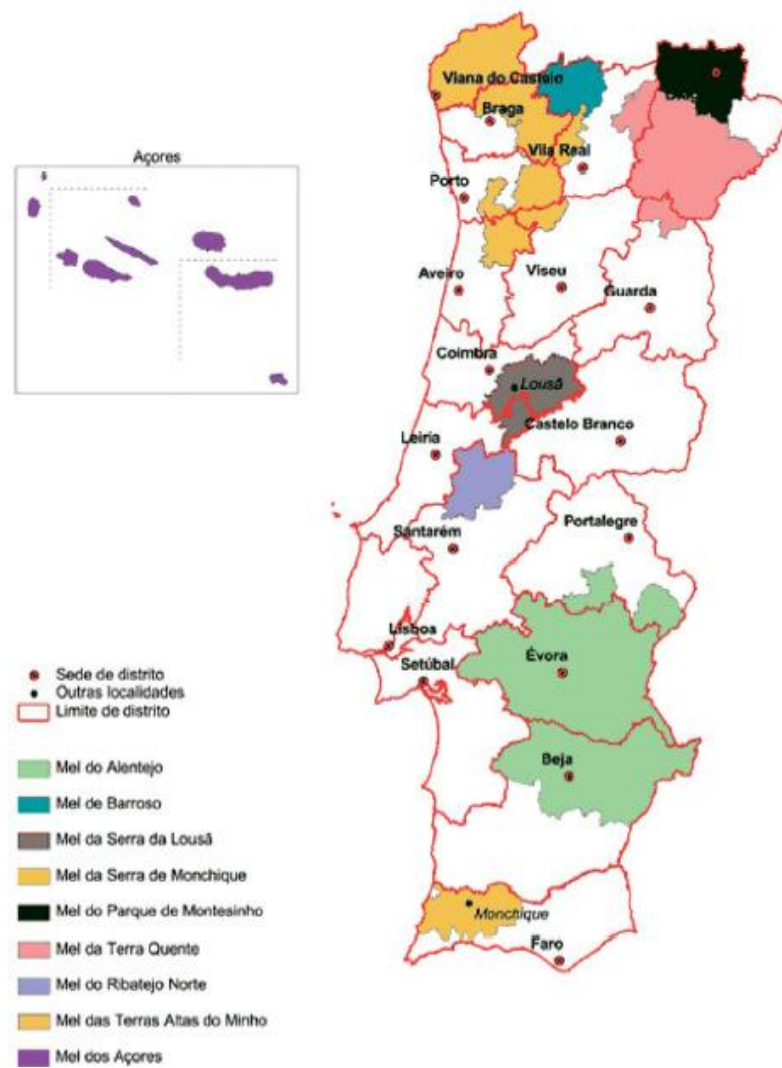


Fig. 4- Mapa das zonas geográficas com Denominação de Origem Protegida (Fonte: DGADR do Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Programa Apícola Nacional Triénio de 2011-2013).

Tab. 3 – Caraterísticas físico-químicas e melissopalínológicas dos méis DOP.

Mel DOP	Humidade (%)	Sacarose (%)	Cinzas (%)	Substâncias insolúveis (%)	Acidez (meq/kg) ¹ (cm ³ de solução IN/100g) ²	HMF (mg/kg)	Atividade diastásica (escala de Gothe)	Cor (escala de PFUND)	Características melissopalínológicas (Σ tipos polínicos)
Alentejo	<18,5		<0,6		<35 ¹	≤10			Mel monofloral - Rosmaninho: >13% - Soagem: >40% - Eucalipto: >40% - Laranjeira: >15% Mel multifloral - Esteva, sargaço, rosmaninho, soagem, eucalipto, cardo, tomilho, laranjeira e alecrim: >5%
Barroso	<18	<5	<0,6	<0,1	<4 ²	<40	>8	>8	Mel de néctar Urze: >35%
Serra da Lousã	<20	<5	<0,6	<0,1	<4 ²	<35	>10		Mel de néctar Maioritariamente Urze
Serra de Monchique	<20	<5	<0,3	<0,1	<3 ²	<40	>8		Mel multifloral - Alfazema, Cistus e Compositae: 14-19% - Soagem: 14-18% - Urze: 12% - Eucalipto, Citrus e Prunus: 10-12% - Azinheira, Oliveira, Brássicas, Funcho, Oxalys: 0,7-2,9%

	Parque de Montesinho	<20	<5	<0,3	<0,1	≤40 ¹	<40	>20		Mel multifloral ▪ Urze, rosmaninho e castanheiro
	Terra Quente	<17	<6	<0,5	<0,1	<4 ²	<40	>8	<5	
Ribatejo Norte	Serra D` Aire	<17		<0,2	<0,05	<30 ¹	<25		2,5-6	Mel multifloral ▪ <i>Rosmarinus, Lavandula e Mentha</i> : >15%; ▪ <i>Rubus e Ulex</i> : >5 %; ▪ <i>Eucalyptus</i> : <5%; ▪ Culturas agrícolas:a 10%
	Albufeira do Castelo de Bode	<17		<0,5	<0,08	<35 ¹	<35		>6	Mel multifloral ▪ Ericaceas: >10%; ▪ <i>Myríus Viburnum, Rubus, Casíanea, Cisiaceae, Rahmnus e Jasione montaria</i> : >20%; ▪ <i>Eucalyptus</i> : <10%; ▪ Culturas agrícolas: <10%.
	Bairro	<18		0,5	<0,05	<40 ¹	<30		1-8	Mel multifloral ▪ <i>Echium</i> (soagem): >15%; ▪ <i>Rubus, Trifolium, Compositae liguliflorae</i> e <i>Cruciferae</i> : >15%; ▪ <i>Eucalyptus</i> : <5% ▪ Culturas agrícolas: <10%.
	Alto Nabão	<18		0,8	<0,05	<40 ¹	<40		6-11	Mel multifloral ▪ <i>Eucalyptus</i> : >15% ▪ <i>Echium, Compositae liguliflorae</i> e <i>Cruciferae</i> : >15% ▪ Ericaceaes: <5% ▪ Culturas agrícolas: <10%.

Terras Altas do Minho	<18	<5	<0,6	<0,1	<4 ²	<40	>8	>8	Mel de néctar ▪ Urze: >35%
									Mel de néctar ▪ Incenso
Açores	18	10	0,6	0,1		40	>8		Mel multifloral ▪ Fruteiras tradicionais; ▪ Fruteiras subtropicais; ▪ Outras espécies.

Assim, o mel do Alentejo, produzido numa área geográfica natural e rica em flora melífera, permite a recolha de méis de néctar de flores de aroma excecional e gosto agradável. A tonalidade suave dos méis alentejanos é característica da região, variando desde o amarelo transparente a âmbar. Estes méis com Denominação de Origem incluem méis monoflorais e méis multiflorais (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP do Alentejo).

O mel do Barroso é produzido nas regiões de cota mais elevada do Barroso e apresenta características particulares que resultam de um manto vegetal maioritariamente composto de urzes (*Erica sp.*). Este mel apresenta cor escura, níveis de cristalização médios e regulares e é rico em sais minerais. A sua tendência natural para cristalizar é considerada como garantia de qualidade e pureza, pelo que só pode ser comercializado no estado fluído (pastoso) ou sólido (cristalizado) (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP do Barroso).

O mel da Serra da Lousã provém exclusivamente do néctar de flores da flora espontânea da região. A sua cor pode variar de âmbar a âmbar escuro. O seu odor intenso, acentuado pelo néctar das urzes, o sabor forte e alguma adstringência são as propriedades que diferenciam este mel dos restantes existentes em todo o país (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP da Serra da Lousã).

À semelhança dos outros méis DOP, o mel da Serra de Monchique é produzido pela abelha *Apis mellífera* (*sp Ibérica*) a partir do néctar de flores da flora característica da região da Serra de Monchique. É um mel multifloral que se caracteriza por apresentar coloração amarela escura e cheiro e sabor “sui generis” (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP da Serra de Monchique).

O mel do Parque de Montesinho é proveniente do néctar de flores ou secreções provenientes das plantas da região. Apresenta uma flora melífera maioritariamente constituída de urzes (*érica*), rosmaninho (*Lavandula Pedunculáta*) e castanheiro (*Castana Sativa*) em cerca de 95%, dando origem a um mel escuro, de cheiro intenso (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP do Parque de Montesinho).

O mel da Terra Quente é um mel de néctar de flores, produzido em região montanhosa, com flora característica. Apresenta cor âmbar clara, é rico em alguns sais minerais e

possui tendência natural para cristalizar, garantindo a sua pureza e qualidade (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP da terra Quente).

O mel do Ribatejo Norte é produzido pela abelha local (*Apis mellifera* sp *Ibérica*), na região do Ribatejo Norte e inclui quatro subtipos de mel: mel Serra D'Aire, produzido na sub-região ecológica da Serra D'Aire; mel da Albufeira do Castelo de Bode, produzido na sub-região ecológica da Albufeira de Castelo de Bode; mel do Bairro, produzido na sub-região ecológica do Bairro; e, mel do Alto-Nabão, produzido na sub-região ecológica do Alto-Nabão. De um modo geral, os quatro subtipos de mel do Ribatejo Norte possuem características organoléticas típicas da origem botânica, com intenso aroma e sabor floral, exame visual muito bom a excelente, no estado líquido ou sólido, cristalização homogénea e ausência de defeitos visuais (exemplo: separação de fases em resultado da cristalização irregular ou de fermentações), olfativos e gustativos (presença de odores e sabores estranhos). São méis multiflorais, provenientes do néctar de flores que apresentam, geralmente, coloração clara ou variável (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP do Ribatejo Norte).

Sendo um mel de néctar de flores, produzido em região montanhosa, com flora caraterística, o mel das Terras Altas do Minho é caracterizado pela coloração acentuadamente escura que apresenta, bem como pela sua riqueza em alguns minerais e pela sua tendência natural para cristalizar, apresentando níveis de cristalização médios a regulares (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP das Terras Altas do Minho).

Por último, o mel dos Açores inclui mel de incenso e mel multifloral, tendo o primeiro tonalidade variável entre o incolor e o amarelado, odor suave e sabor muito doce com paladar típico (baseado nos óleos essenciais do incenso). O mel multifloral possui coloração castanha escura e sabor agradável. Ambos têm consistência fluida (Adaptado do caderno de especificações do mel DOP dos Açores).

4.6. Propriedades

4.6.1. Composição

Segundo Al-Mamary *et al.* (2002), Arráez-Román *et al.* (2006) e Küçük *et al.* (2007), o mel apresenta na sua constituição cerca de 200 substâncias, sendo os hidratos de carbono os seus constituintes principais. Além destas, contém também outras

substâncias designadas secundárias, tais como minerais, proteínas, vitaminas, lípidos, ácidos orgânicos, aminoácidos (Finola, Lasagno e Marioli, 2007), compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos), enzimas e outros fitoquímicos (Bertoncelj *et al.*, 2007), sendo algumas destas substâncias segregadas pelas abelhas e as restantes derivam das plantas.

A composição do mel é variável e depende de fatores como a origem floral, o clima, as condições ambientais e sazonais, assim como o manuseamento e processamento (Al-Mamary *et al.*, 2002; Anklam, 1998; Arráez-Román *et al.*, 2006; Azeredo *et al.*, 2003; Baltrušaitytė *et al.*, 2007; Küçük *et al.*, 2007). No entanto, em alguns casos, as variações climáticas e a diferente origem geográfica constituem fatores capazes de induzir uma variação na composição de méis produzidos a partir da mesma origem floral (Anklam, 1998).

A sua comercialização, com vista ao consumo humano, pressupõe que não lhe seja adicionado nenhum ingrediente alimentar nem qualquer outro tipo de substância, devendo este apresentar isenção de matérias orgânicas ou inorgânicas estranhas à sua composição (Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de setembro).

No mercado, o mel disponível pode ser encontrado em diferentes formas (cristalizado, granulado, termicamente processado) e estados físicos (centrifugado, drenado). No estado cru, pode incluir na sua constituição, matéria estranha como pólen, resíduos de cera, quantidades variáveis de leveduras tolerantes ao açúcar e, eventualmente, cristais de dextrose hidratada (Anklam, 1998).

4.6.2. Propriedades físico-químicas

A qualidade do mel é determinada pelas suas propriedades sensoriais, físicas e químicas. O néctar e o pólen da origem floral, a cor, o aroma, o teor de humidade, assim como, o teor em proteínas e açúcares influenciam as propriedades físicas e químicas deste alimento natural (Finola *et al.*, 2007). A avaliação destas propriedades é efetuada com base nos parâmetros estabelecidos pelo Codex Alimentarius (Codex Alimentarius – International Food Standards, 1981) e no Decreto-Lei 214/2003 de 18 de setembro, incluindo os teores de açúcares redutores e HMF (hidroximetilfurfural) bem como a sacarose, água, matérias insolúveis na água, a condutividade elétrica, a acidez e o índice diastásico.

4.6.2.1. Hidratos de Carbono

Os hidratos de carbono são os principais constituintes do mel, sendo os açúcares redutores glucose (38,4%) e frutose (30,3%) os monossacarídeos maioritariamente presentes neste alimento natural. A proporção de frutose em relação à glucose é 1,2:1 e depende da origem botânica do néctar (Al-Mamary *et al.*, 2002; Arráez-Román *et al.*, 2006; White, 1980). Os açúcares do mel são responsáveis por algumas das suas qualidades e propriedades, tais como viscosidade, higroscopicidade, granulação, valor energético e atividade antimicrobiana (Iurlina e Fritz, 2005; Küçük *et al.*, 2007).

De acordo com a Legislação Portuguesa (Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de setembro), o teor mínimo de glucose e de frutose no mel de néctar é de 60% (p/p), enquanto no mel de melada e misturas de mel de melada com mel de néctar o teor mínimo é de 45% (p/p).

A glucose determina a tendência à cristalização do mel e a frutose influencia a doçura do mel devido à sua elevada higroscopicidade. Desta forma, no mel, a relação glucose/frutose pode afetar quer as características sensoriais, quer a sua granulação, uma vez que o monossacarídeo frutose é mais doce e mais solúvel em água comparativamente à glucose (Horn, 1996 e Seemann *et al.*, 1998 citados por Arruda (2003)).

Segundo Küçük *et al.* (2007), a limitada disponibilidade de açúcares e outros componentes, bem como, o aumento do preço do mel são dois grandes incentivos à prática de falsificação e/ou adulteração com outros carboidratos.

4.6.2.2. Água

A água é o segundo componente maioritário do mel (Iurlina e Fritz, 2005). O teor de água do mel depende de vários fatores como a época de colheita, o grau de maturação alcançado na colmeia e os fatores climáticos (Finola *et al.*, 2007). Esta propriedade tem grande influência na estabilidade do mel, nomeadamente ao nível da preservação e armazenamento do mel (Küçük *et al.*, 2007).

4.6.2.3. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos influenciam a acidez do mel, contribuindo para o seu sabor característico (Anklam, 1998).

4.6.2.4. Minerais

O teor de minerais do mel depende de alguns fatores, nomeadamente do tipo de solo em que a planta portadora de pólen se localiza, bem como da própria cor do mel. Segundo Anklam (1998), o seu teor pode variar entre 0,04% em méis claros e 0,2% em méis escuros.

4.6.2.5. Cinzas

O teor de cinzas do mel relaciona-se com o teor em minerais. Quando, entre amostras de mel, se verifica uma dispersão elevada do teor em cinzas significa que o processo de recolha ou as técnicas utilizadas pelos produtores não foram uniformes (Finola *et al.*, 2007).

Segundo Finola *et al.* (2007), os méis de cor clara apresentam teor de cinzas inferior aos de cor escura.

4.6.2.6. Compostos azotados

O teor de proteínas do mel é, normalmente, inferior a 0,5%. Uma pequena fração desse teor corresponde a enzimas, tais como: invertase, diastase, glucose-oxidase e catalase (Anklam, 1998).

4.6.2.7. Compostos voláteis

Os compostos voláteis, maioritariamente provenientes do néctar das flores, são responsáveis por conferir o *flavour* característico de cada mel (Finola *et al.*, 2007; Radovic *et al.*, 2001; Bonvehí e Coll, 2003). A sua presença fornece indicações acerca da origem botânica (Escriche *et al.*, 2009). Além disso, segundo Castro-Vázquez *et al.* (2006) os compostos voláteis, tais como, os derivados de furano, são bons indicadores do tratamento térmico, bem como das condições de armazenamento. Existe um grande número destes compostos, tendo sido já identificados mais de 300, incluindo ácidos, álcoois, cetonas, aldeídos, terpenos e ésteres (Castro-Vázquez *et al.*, 2009).

4.6.2.8. Cor

A cor do mel é característica da origem botânica, na medida em que varia de acordo com a fonte floral do mel, permitindo assim a sua identificação (Bertoncelj *et al.*, 2007). Além disso, este atributo físico relaciona-se com o teor em minerais e em compostos

fenólicos (Baltrušaitytė *et al.*, 2007; Bertoncelj *et al.*, 2007; Finola *et al.*, 2007), a idade e as condições de armazenamento (Olaitan *et al.*, 2007).

4.6.2.9. Espectro polínico

A análise polínica do mel visa a identificação da origem botânica e/ou geográfica, uma vez que este nunca apresenta apenas uma fonte floral. Pode, no entanto, ser produzido maioritariamente a partir de uma única espécie de planta, adquirindo a designação de mel monofloral (Anklam, 1998).

4.6.3. Propriedades bioativas

Nos últimos anos, tem havido uma crescente evidência acerca dos benefícios do consumo de mel ao nível da saúde humana, nomeadamente, devido às suas propriedades bioativas. A atividade antioxidante tem sido a que mais se destaca, dados os seus inúmeros e conhecidos benefícios para a saúde. No entanto, além desta propriedade, também a atividade antimicrobiana do mel, merece especial destaque.

4.6.3.1. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do mel tem sido alvo de uma análise intensiva, com o propósito de entender qual o interesse da sua utilização. O mel é visto como um medicamento natural utilizado para o tratamento de determinadas doenças, devido à sua atividade contra os agentes patogénicos (Al-Mamary *et al.*, 2002; Küçük *et al.*, 2007). As suas características físicas e químicas conferem-lhe propriedades únicas enquanto agente antimicrobiano.

Segundo Iurlina e Fritz (2005), o pH do mel e o peróxido de hidrogénio, produzido por oxidação da glucose pela enzima glucose-oxidase (ativada por sucessivas diluições) constituem dois dos principais fatores responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Neste âmbito, têm vindo a ser desenvolvidos diversos estudos sobre a atividade antimicrobiana do mel contra: microrganismos patogénicos resistentes a antibióticos (Amit Kumar *et al.*, 2005), bactérias patogénicas causadoras de algumas doenças (Basualdo *et al.*, 2007; Lusby *et al.*, 2005), bactérias alimentares patogénicas (Taormina *et al.*, 2001) e bactérias responsáveis pela deterioração de alimentos (Mundo *et al.*, 2004).

4.7. Caracterização organolética/sensorial, qualidade e percepção do consumidor

Nos últimos anos, o consumidor tem-se tornado cada vez mais exigente, demonstrando uma maior preocupação com questões relacionadas com a qualidade e a segurança alimentar (Aoki *et al.*, 2010). Segundo (Grunert, 2005), a qualidade tem um objetivo e uma dimensão subjetiva. A qualidade objetiva refere-se às características físicas incorporadas no produto e é da responsabilidade dos engenheiros de alimentos. Por outro lado, a qualidade subjetiva consiste na qualidade percebida pelos consumidores. À vista do consumidor, a qualidade alimentar é um conceito relativo, que envolve as características do produto que vão desde as propriedades sensoriais, tecnologia dos alimentos, segurança alimentar, preços, marcas até outros atributos (Grunert, 2002). No que concerne à segurança alimentar, embora os consumidores tenham noção da sua importância, este não é o primeiro fator que têm em conta nas suas escolhas alimentares, existindo uma grande variedade de fatores que influenciam a percepção do indivíduo quanto aos riscos associados a essas mesmas escolhas, incluindo o rendimento familiar, a idade e as crenças relacionadas com as características de alguns produtos alimentares (Grankvist e Biel, 2001).

De um modo geral, a qualidade dos produtos alimentares não pode ser totalmente determinada antes da sua compra, obrigando o consumidor a formar expectativas de qualidade para efetuar as suas decisões de compra (Fig. 5). Após a aquisição do produto, este vai proporcionar algum tipo de experiência de qualidade e, portanto, permitir a formação de um novo conceito de qualidade, que por vezes é diferente do conceito formado antes da compra (Grunert *et al.*, 1996).

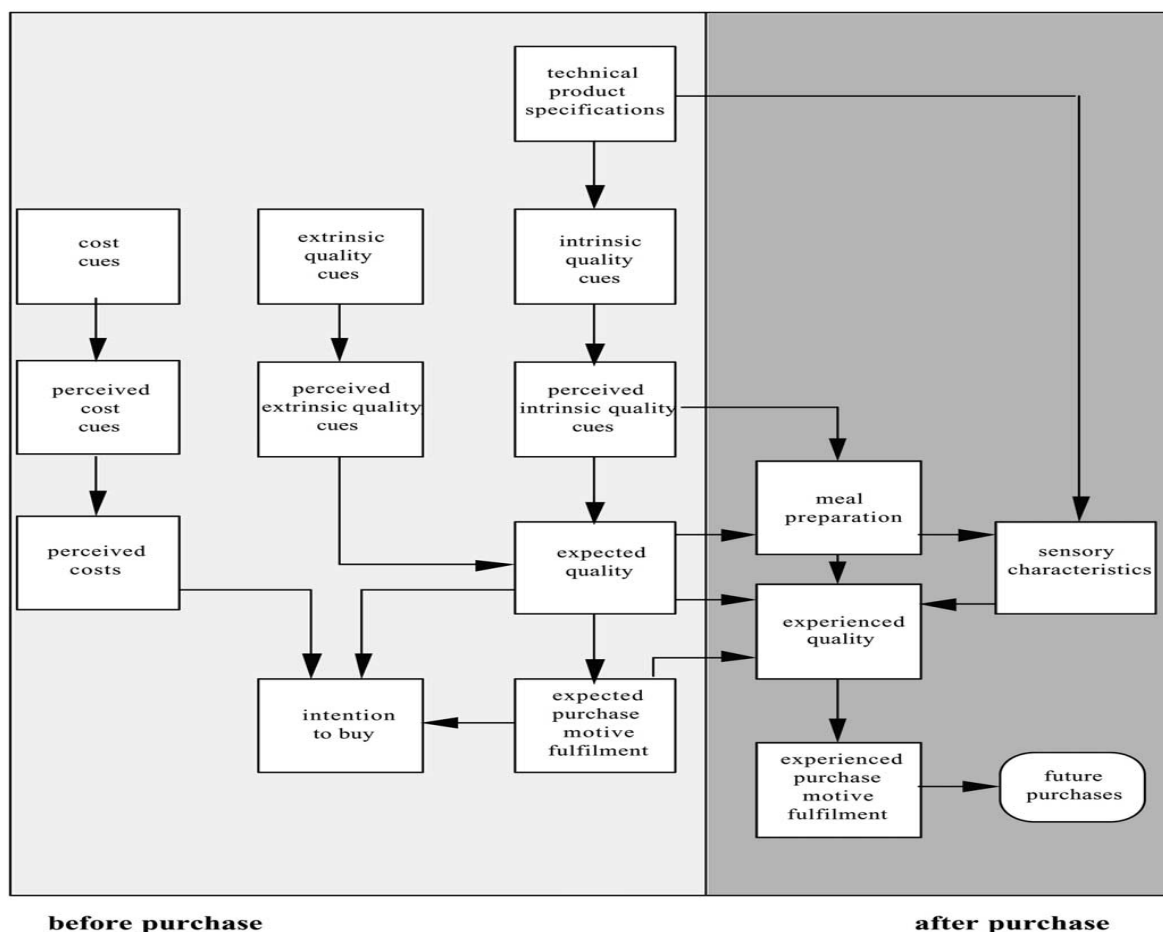


Fig. 5- Modelo da qualidade alimentar (Grunert *et al.*, 1996).

A relação entre a qualidade expectável e a qualidade percebida após a experiência é, normalmente, considerada para a determinação da satisfação do consumidor com o produto, permitindo estimar a probabilidade de repetição da compra (Oliver, 1980; Oliver, 1993).

Atualmente, independentemente do produto alimentar, a exigência do consumidor no que respeita aos atributos sensoriais é visivelmente mais notória, obrigando assim a uma resposta rápida e eficaz por parte da indústria alimentar no sentido de não defraudar as expectativas do consumidor no momento do consumo. Neste contexto, a utilização dos métodos de perfis sensoriais, pela indústria, na elaboração do perfil sensorial de um conjunto de produtos assume, assim, uma maior importância (Delarue e Sieffermann, 2004). Normalmente, a aplicação destes métodos permite investigar as propriedades sensoriais de uma gama de produtos existentes no mercado, avaliar o impacto sensorial de alterações na formulação, processo de fabrico ou embalagem de um dado produto. De acordo com Delarue e Sieffermann (2004), o perfil sensorial de um dado produto alimentar é, cada vez mais, visto como uma ferramenta útil para

explicar e antecipar as preferências do consumidor, na medida em que fornece a descrição e quantificação das diferenças sensoriais entre produtos e posiciona os produtos num espaço sensorial multivariável definido por uma combinação de atributos sensoriais. O desenvolvimento de perfis sensoriais é normalmente gerado com recurso a técnicas como: Análise descritiva quantitativa (QDA), que permite a obtenção de uma descrição completa das sensações (Stone *et al.*, 1974); *Flavor Profile* (Cairncross e Sjostrom, 1950); *Texture Profile* (Brandt *et al.*, 1963); e *Spectrum Method* (Meilgaard *et al.*, 1999). Além destes métodos, também são utilizadas outras técnicas incluindo: *Flash Profile* (Dairou e Sieffermann, 2002) e *Ultra Flash Profiling* (Perrin, 2009), sendo estas mais espontâneas e menos morosas.

No caso específico do *Flash Profile*, esta é uma boa alternativa a outras técnicas, uma vez que utiliza uma escala ordinal intuitiva, dispensando assim a formação dos provadores (Nicod *et al.*, 1998). Algumas das características deste método são: a avaliação dos produtos é feita em simultâneo por cada provador; a geração individual de uma lista de provadores é efetuada numa sessão prévia, seguida de uma sessão de avaliação; permite a realização do estudo do produto em análise em menos de três dias e sem a utilização de um painel treinado para a avaliação desse mesmo produto; e, não requer a realização de uma seleção prévia dos descritores (Montet, 2001).

No caso específico do mel, a sua qualidade é geralmente determinada pela análise das características sensoriais químicas, físicas e microbiológicas (Finola *et al.*, 2007). De acordo com o descrito na legislação portuguesa (Decreto-lei nº 131/85 de 29 de Abril), os critérios de qualidade estabelecidos para o mel incluem: teor de humidade, teor mineral, acidez, teor de hidroximetilfurfural (HMF), atividade diastásica, teor de açúcares e de sólidos insolúveis em água.

II – Objetivos e Âmbito

O presente trabalho, que incluiu a análise de 18 amostras de mel com diferentes origens florais e geográficas, teve como objetivos principais:

- A determinação da atividade antioxidante;
- A quantificação do teor em fenóis totais;
- A quantificação do teor em flavonoides totais;
- A avaliação da percepção do consumidor, relativamente aos perigos e benefícios associados ao consumo de mel;
- A avaliação e caracterização sensorial de algumas amostras de mel.

III - Material e métodos

1. Amostragem

No presente trabalho foram estudados 18 ($n=18$) méis Portugueses, provenientes de diferentes origens florais e geográficas, comercializados em 2012. Foram adquiridas para análise, amostras comerciais e de produção nacional, em supermercados e diretamente ao produtor, respetivamente. Os méis adquiridos em superfícies comerciais foram conservados à temperatura ambiente, nas embalagens de origem e ao abrigo da luz solar, até serem analisados. As amostras de produtor foram colhidas diretamente da colmeia, acondicionadas em recipientes adequados e armazenadas nas devidas condições, até ao momento da análise.

Na Tabela 4 está identificada a origem floral e geográfica, bem como o ano de produção e/ou aquisição de cada uma das amostras de mel.

Tab. 4- Caracterização dos diferentes tipos de méis analisados – origem floral, origem geográfica e ano de produção/aquisição.

Amostra	Origem floral	Origem geográfica	Ano de produção/Data de compra
Urze 1 ¹	Urze	Região Centro	2012*
Urze 2 ¹	Urze	Oliveira do Hospital	2012*
Urze 3 ¹	Urze	Trás-os-Montes	2012*
Urze 4 ¹	Urze	Penamacor	2012*
Urze 5 ¹	Urze	Chaves	2012*
Urze 6 ²	Urze	Trás-os-Montes	23/07/2012
Urze DOP 1 ²	Urze	Boticas	2012
Rosmaninho DOP 1 ²	Rosmaninho	Lousã	2012
Rosmaninho DOP 2 ²	Rosmaninho	Trás-os-Montes	2012
Rosmaninho 1 ²	Rosmaninho	Mogadouro	24/07/2012
Rosmaninho e Tília ²	Rosmaninho e Tília	Meda	28/07/2012
Rosmaninho e flor de amendoeira ²	Rosmaninho e flor de amendoeira	Vila Nova de Foz Côa	2012
Laranjeira ¹	Laranjeira	Penamacor	2012*
Eucalipto ²	Eucalipto	Paços de Ferreira	2012
Mirtilo ²	Mirtilo	Viseu	2012
Castanheiro ²	Castanheiro	Sabroso de Aguiar	2012
Multifloral	Multifloral	Trás-os-Montes	23/07/2012
Multifloral DOP 1 ²	Multifloral	Bragança	2012

*Data de compra; ¹Mel comercial; ²Mel de produtor

2. Reagentes, instrumentos e/ou equipamentos

Todos os reagentes e químicos utilizados possuíam grau analítico. DPPH (6×10^{-5} M), ácido gálico, reagente Folin-Ciocalteu (2N), metanol, carbonato de Sódio (NaCO_3 7,5%), catequina (500 ppm), nitrito de Sódio (NaNO_2 5%), cloreto de Alumínio (AlCl_3 10%), hidróxido de Sódio (NaOH 1M), reagente FRAP, tampão acetato 0,3 M, TPTZ 10 Mm, cloreto férrico 20 mM, sulfato Ferroso 2 mM e fucsina foram adquiridos na Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Ciências Químicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Para a sua realização foi utilizado diverso material de laboratório, incluindo os equipamentos necessários para a execução das análises, nomeadamente, micropipetas, placas de 96 poços,

eppendorfs, balões volumétricos, tubos, gobelés, matrizes, leitor de microplacas, banho de aquecimento, aparelho de filtração sob vácuo, balança, óleo de imersão, lamelas quadradas 22x22 mm, lâminas de vidro, microscópio, filtros de membrana (SSWP02500 ou SSWP04700 da Millipore), placa de aquecimento, pipetas Pasteur e pinça.

3. Determinação de compostos bioativos

Os compostos bioativos do mel de diferentes origens florais e geográficas, mais concretamente, fenóis totais e flavonoides, foram também determinados. Os ensaios foram realizados em triplicado.

3.1. Fenóis totais

A determinação dos fenóis totais foi efetuada com base no método de Folin-Ciocalteu (RFC), sendo este um dos métodos de quantificação de fenóis. O teor fenólico total, das 18 amostras de mel em estudo, foi determinado por espectrofotometria com o recurso a um leitor de microplacas, modelo Sinergy™ HT (Biotek), de acordo com o procedimento descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações do método de Alves *et al.* (2010).

Inicialmente foram preparadas as seguintes soluções: 200 mL de solução de RFC (1:10); 500 mL de solução de carbonato de sódio (7,5%); e solução mãe de ácido gálico (1000 mg/L). Uma vez preparadas as soluções, procedeu-se à construção de uma reta de calibração (Figura 6) com o padrão ácido gálico e com diferentes concentrações (5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg/L, $r^2=0,9991$).

Cada amostra de mel (2g) foi diluída em 10 mL de metanol (2:10). Posteriormente foi feita uma segunda diluição, sendo que a 1mL da solução metanólica foram adicionados 10 mL de água destilada (1:10). A 500 µL de amostra adicionaram-se 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (1:10) e 2 mL de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (7,5 mg/100 mL). A mistura foi incubada a 45 °C (protegida da luz) por um período de quinze minutos e, posteriormente, colocada no escuro durante trinta minutos (à temperatura ambiente). As leituras da absorvência foram realizadas a 765 nm, utilizando água destilada como branco. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por L de produto.

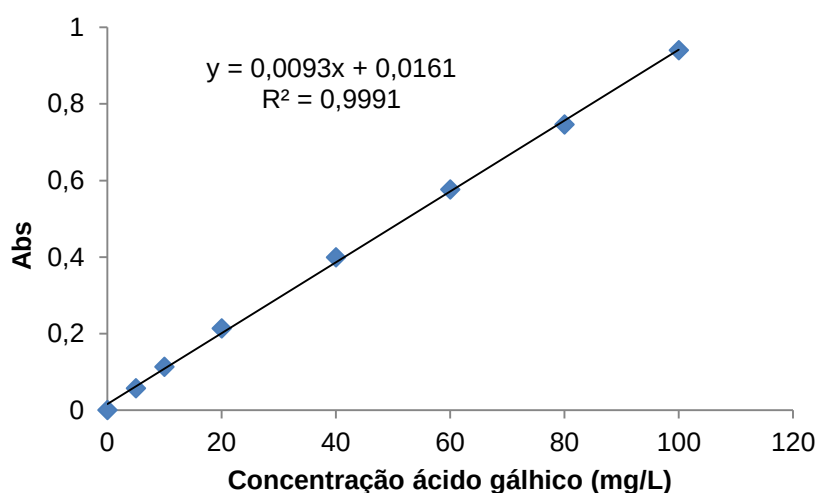


Fig. 6- Curva de calibração de ácido gálico, utilizada para quantificar os compostos fenólicos totais das amostras.

3.2. Flavonoides totais

O total de flavonoides foi determinado espectrofotometricamente com o recurso a um leitor de microplacas modelo Sinergy™ HT (Biotek) de acordo com o procedimento descrito por Barroso *et al.* (2011). Inicialmente foram preparadas soluções de nitrato de sódio (5%), cloreto de alumínio (10%), hidróxido de sódio (1M) e catequina (500 mg/mL). Posteriormente foi construída uma reta de calibração (Figura 7), usando como padrão a epicatequina (0, 2,5, 5, 7,5, 10, 25, 50, 100, 200, 300 e 400 mg/L, $r^2=0,9998$).

Pesaram-se 2 g de cada amostra de mel e adicionaram-se 10 g de metanol (1:5). A 1 mL de amostra (solução metanólica) foram adicionados 4 mL de água destilada e 300 μ L da solução de NaNO_2 (5%), aguardando-se cinco minutos. De seguida adicionaram-se 300 μ L da solução de AlCl_3 (10%) e, após um minuto adicionaram-se 2 mL de 1 Mol/L NaOH e 2,4 mL de água destilada, agitando-se a mistura. Os valores de absorvência foram lidos a 510 nm, utilizando água destilada como branco. Os resultados foram expressos em mg de epicatequina (E) por litro.

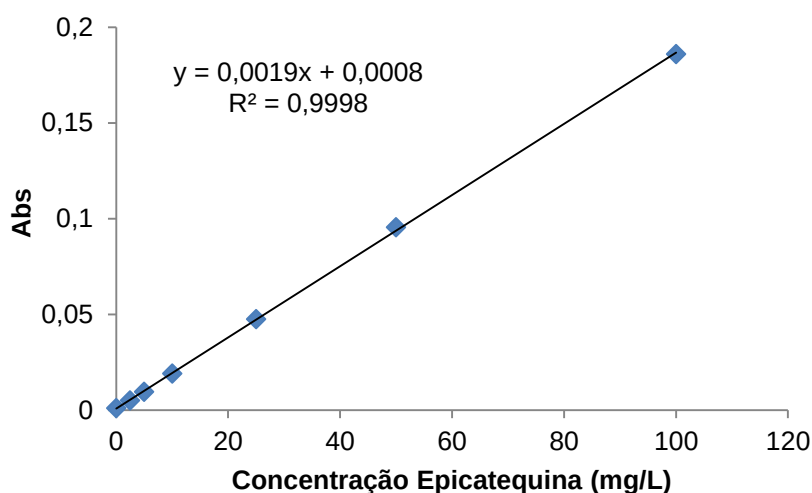


Fig. 7- Curva de calibração de epicatequina, utilizada para quantificar os flavonoides totais das amostras.

4. Determinação da atividade antioxidante

A determinação do poder antioxidante das 18 amostras de mel em estudo foi determinada em triplicado, pelos métodos: DPPH (Atividade captora dos radicais DPPH[•]) e FRAP (Poder antioxidante por redução do ião férrico).

4.1. Atividade captora dos radicais DPPH[•]

A atividade captora do radical DPPH[•] foi determinada espectrofotometricamente num leitor de microplacas modelo Sinergy™ HT (Biotek) de acordo com Barroso *et al.* (2011) com algumas modificações.

Inicialmente foi preparada uma solução de DPPH (6×10^{-5} M), a qual foi mantida ao abrigo da luz até à sua utilização. De seguida, pesou-se 1 g de cada amostra de mel e dissolveu-se em 10 mL de metanol, o qual foi utilizado como branco. Desta solução de amostra com metanol, foram retirados 500 µL para um eppendorf e, adicionaram-se mais 500 µL de metanol. Os poços da placa foram preenchidos com 30 µL da solução de amostra com metanol e 270 µL da solução de DPPH. Os poços correspondentes ao branco foram preenchidos com 30 µL de metanol e 270 µL de DPPH. Os valores da absorvência foram lidos a 517 nm e os resultados foram expressos em % de inibição, calculada a partir da equação:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{\text{Abs branco} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs branco}} \times 100$$

onde Abs branco corresponde ao valor de absorvência do branco a 517 nm e Abs amostra diz respeito ao valor de absorvência da amostra a 517 nm.

4.2. Poder antioxidante de redução do ião férrico (FRAP)

O poder antioxidante de redução do ferro foi determinado de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996). O princípio deste método baseia-se na redução do complexo Fe(III)/ferricianeto $[\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a Fe(II) (forma ferrosa), pela presença do composto antioxidante.

Previamente foram preparadas as seguintes soluções: solução de metanol a 50%, solução de acetona a 70%, solução de HCL 40 mM, solução de TPTZ 10 mM, solução de cloreto Férrico 20 Mm, tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), solução do Reagente FRAP e solução Padrão de sulfato ferroso 2 mM.

Construiu-se uma reta de calibração (Fig. 8), usando como padrão o sulfato ferroso (41,703, 69,505, 139,01, 278,02, 347,525 e 556,04 mg/L, $r^2 = 0,9982$).

Pesou-se 1 g de cada amostra de mel e dissolveu-se em 10 mL de metanol. Posteriormente, retiraram-se 90 μL da solução de amostra com metanol e adicionaram-se 270 μL de água e 2,7 mL de reagente FRAP. De seguida, a mistura foi homogeneizada e colocada num banho de água quente (37°C) durante 30 minutos. A leitura das absorvências foi efetuada num leitor de microplacas modelo Sinergy™ HT (Biotek) a 595 nm e os resultados foram expressos em mL de sulfato ferroso por litro de amostra.

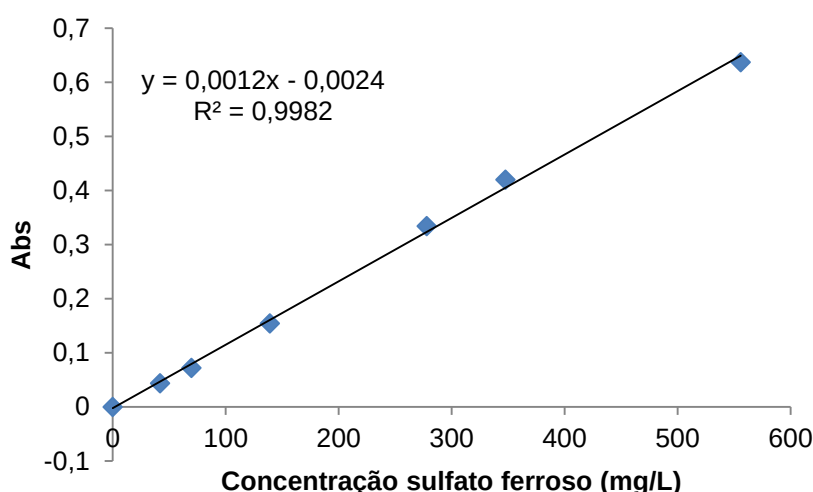


Fig. 8- Curva de calibração utilizada para determinar o poder antioxidante por redução do ião férrico (FRAP) das amostras de mel.

5. Análise polínica

A análise polínica do mel foi efetuada de acordo com o método descrito por Ohea *et al.* (2004), com algumas alterações. Dissolveram-se 10 g de mel em 40 mL de água destilada morna (20-40 °C), adicionaram-se algumas gotas de solução 0,1% de fucsina básica em etanol e, posteriormente fez-se a filtração sob vácuo. O filtro foi removido do aparelho de filtração com uma pinça e colocado a secar numa placa de aquecimento mantida a cerca de 40 °C. Em seguida prepararam-se as lâminas com algumas gotas de óleo de imersão, colocaram-se os filtros nas lâminas, adicionaram-se mais uma ou duas gotas de óleo a mais de imersão na superfície do filtro e cobriu-se com uma lamela de tamanho apropriado. A observação das lâminas foi efetuada num microscópio Nikon Eclipse E400 com a ampliação mais apropriada.

Os diferentes tipos de pólen presentes nas amostras foram fotografados com uma máquina Nikon Digital Camera Coolpix 950 e identificados por comparação com imagens na literatura.

6. Inquérito ao consumidor

Com o objetivo de constatar a opinião dos consumidores acerca dos benefícios e perigos inerentes ao consumo de mel, bem como as vantagens dos méis DOP face aos restantes méis disponíveis no mercado foi desenvolvido um questionário de aplicação direta ao consumidor.

Para o presente estudo, o universo populacional consistiu num grupo de 78 indivíduos com idades compreendidas entre os 16 e os 60 anos. Foram excluídos todos os indivíduos que afirmassem não consumir mel há mais de um mês, minimizando o risco de enviesamento das respostas, passível de comprometer os resultados.

O questionário aplicado (Anexo I) era constituído por questões de resposta aberta e fechada, incluindo um conjunto de questões de caracterização sociodemográfica.

7. Análise sensorial

Como forma de complementação do presente trabalho, fez-se a análise sensorial em alguns dos méis em estudo. Para a realização dos ensaios foram escolhidos cinco méis (mel DOP da Serra da Lousã, mel DOP do Barroso, mel DOP da Terra Quente, mel DOP do Parque de Montesinho e mel de Castanheiro).

Os ensaios sensoriais decorreram em três etapas: avaliação da aceitação, elicitação de descritores e *Flash Profile*. Assim, a primeira etapa consistiu na apresentação das amostras a 30 provadores, com o intuito de avaliar a aceitação das amostras por parte dos mesmos. Os ensaios decorreram numa sala de provas sensoriais, de acordo com a norma ISO 8589 *Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms*. Antes da prova foi dada uma explicação aos provadores acerca das condições do teste sensorial.

As amostras foram codificadas com um código aleatório de três dígitos e apresentadas de forma sequencial, tendo-se balanceado a utilização das diferentes ordens de apresentação (Anexo II).

Os méis foram apresentados em taças transparentes em quantidade aproximada de 20 mL, acompanhados de uma colher de café para cada amostra. Em cada cabine de provas foram colocadas à disposição dos provadores guardanapos de papel, um copo com água, uma cuspideira e bolachas de água e sal (Fig. 9), tendo-lhes sido indicado que deveriam utilizar as bolachas de água e sal e a água, entre provas, de forma a libertar facilmente o sabor da boca.



Fig. 9 - Aspeto geral da cabine de prova, com a apresentação das amostras codificadas, água, bolachas e cuspideira para utilização facultativa.

Cada provador fez a avaliação das amostras, classificando-as de acordo com uma apreciação sensorial global, utilizando uma escala vertical ordinal de 9 pontos (Fig. 10).

Gosto extremamente	9
Gosto muito	8
Gosto moderadamente.....	7
Gosto ligeiramente	6
Não gosto nem desgosto.....	5
Desgosto ligeiramente	4
Desgosto moderadamente	3
Desgosto muito.....	2
Desgosto extremamente	1

Fig. 10 - Escala utilizada na avaliação da aceitação dos méis.

Além da avaliação sensorial, foi solicitado a cada provador que fizesse comentários relativos aos aspetos positivos e negativos identificados em cada amostra.

Numa segunda etapa, as amostras, devidamente codificadas, foram apresentadas em simultâneo a um painel semi-treinado de 17 provadores da Sense Test familiarizados com a realização dos testes de aceitação, sendo-lhes pedido que fizessem o levantamento de todos os atributos que considerassem adequados e pertinentes para a caracterização sensorial das amostras em estudo. Posteriormente, reuniram-se todos os atributos indicados pelo grupo de provadores; agruparam-se por aparência, odor, textura e sabor; e, elaborou-se uma lista única a partir da junção desses mesmos descritores.

Por último aplicou-se a técnica de *Flash Profile*. No início deste ensaio, as cinco amostras codificadas, foram apresentadas simultaneamente aos provadores, juntamente com a lista de atributos indicados anteriormente por cada provador, bem como a lista final elaborada com o resumo dos descritores apontados pelo painel completo (Anexo III). Foi pedido que indicassem nesta mesma lista quais os atributos que consideravam mais adequados, podendo manter ou alterar os descritores inicialmente escolhidos. Seguidamente, recolheram-se as listas e foram distribuídas, a cada provador, uma ficha para cada atributo seleccionado (Anexo IV), para que os provadores indicassem a intensidade dos mesmos, numa escala de 9 pontos, comparando as cinco amostras.

Os dados obtidos foram inicialmente sujeitos a uma análise de *ranking* que consistiu na ordenação em cada provador e em cada atributo das amostras.

8. Análise estatística

Todos os ensaios laboratoriais foram realizados em triplicado e os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio-padrão (SD). As diferenças estatísticas foram obtidas através da análise de variância a um fator (ANOVA one-way). Para a comparação de médias entre grupos foram utilizados os testes de Tukey e de Scheffe com um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), utilizando o programa IBM SPSS Statistics 19.

Os dados resultantes do teste de aceitação foram comparados com recurso à utilização do teste não paramétrico de *Wilcoxon*. O tratamento dos dados obtidos pela técnica de *Flash Profile* foi efetuado com recurso à metodologia de Generalized Procrustes Analysis-GPA.

IV- Resultados e Discussão

1. Determinação de compostos bioativos

1.1. Determinação de fenóis totais

Por interpolação com a reta de calibração e tendo em conta o fator de diluição relativo a cada amostra calculou-se o teor em fenóis totais para cada amostra de mel (Fig. 11).

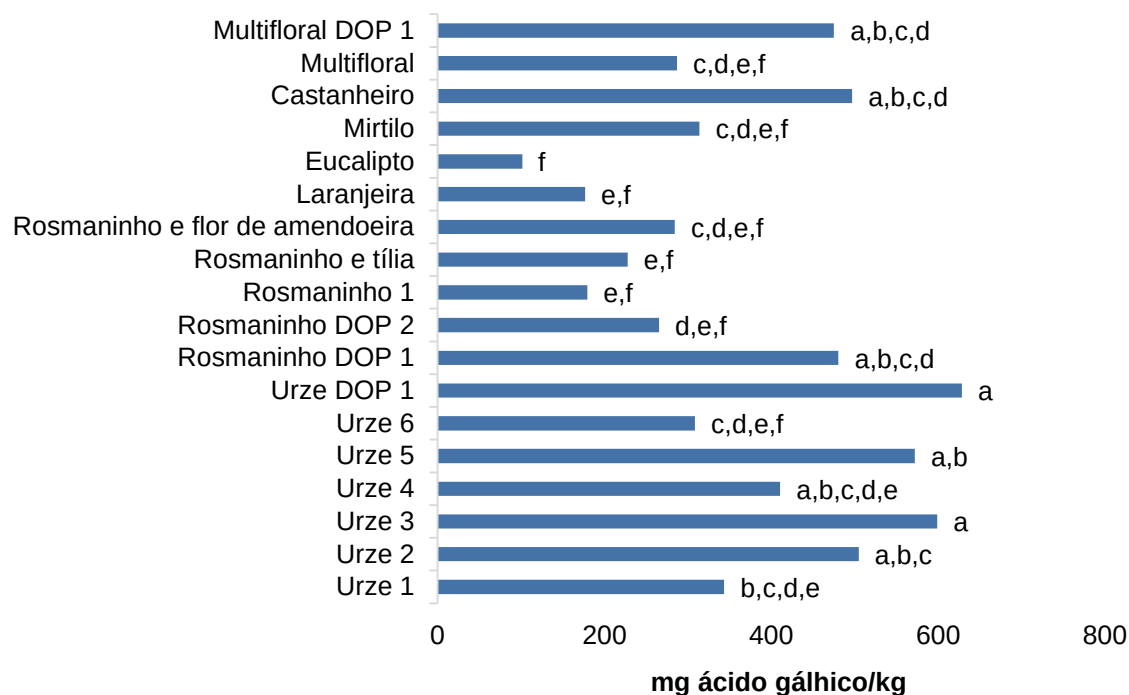


Fig. 11 – Fenóis totais das amostras de mel. As letras (a, b, c, d, e, f) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de scheffe com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.

Por observação dos resultados expressos na Figura 11, verificou-se que as amostras de urze foram as que apresentaram valores mais elevados de fenóis totais, seguidas da amostra de Castanheiro. Por outro lado, os menores valores foram obtidos pelas amostras de Eucalipto, Laranjeira e Rosmaninho, com valores de 101,62 mg de ácido gálico/kg para o mel de eucalipto, 176,88 mg de ácido gálico/kg para o mel de Laranjeira, 179,57 mg de ácido gálico/kg para a amostra Rosmaninho 1 e 265,59 mg de ácido gálico/kg para a amostras Rosmaninho DOP 2. No entanto, dentro destas amostras, a amostra Rosmaninho DOP 1, proveniente da Lousã, apresentou um valor elevado (480,65 mg de ácido gálico/kg). Além disso, também as amostras com mais de uma origem floral, apresentaram valores baixos, com exceção da amostra multifloral DOP 1 (475,27 mg de ácido gálico/kg).

De entre as amostras com maior teor em fenólicos, a amostra de mel Urze DOP 1, proveniente da região do Barroso, foi a que mais se destacou, apresentando um valor de 628,50 mg de ácido gálico/kg de mel.

Por comparação entre amostras da mesma origem floral, constatou-se que as amostras de urze apresentaram valores relativamente semelhantes, apesar de as amostras Urze 1 e Urze 6 apresentarem valores um pouco discrepantes relativamente às restantes (mas semelhantes entre si). Nas amostras de rosmaninho, as amostras Rosmaninho 1 e Rosmaninho DOP 2 não apresentaram diferenças significativas entre si.

Não foi possível estabelecer uma relação entre o teor de fenóis totais e a origem geográfica do mel.

1.2. Determinação de flavonoides totais

À semelhança do que foi feito para os fenóis totais, também a determinação dos flavonoides foi feita por interpolação com a reta de calibração e tendo em conta o fator de diluição relativo a cada amostra de mel (Fig. 12).

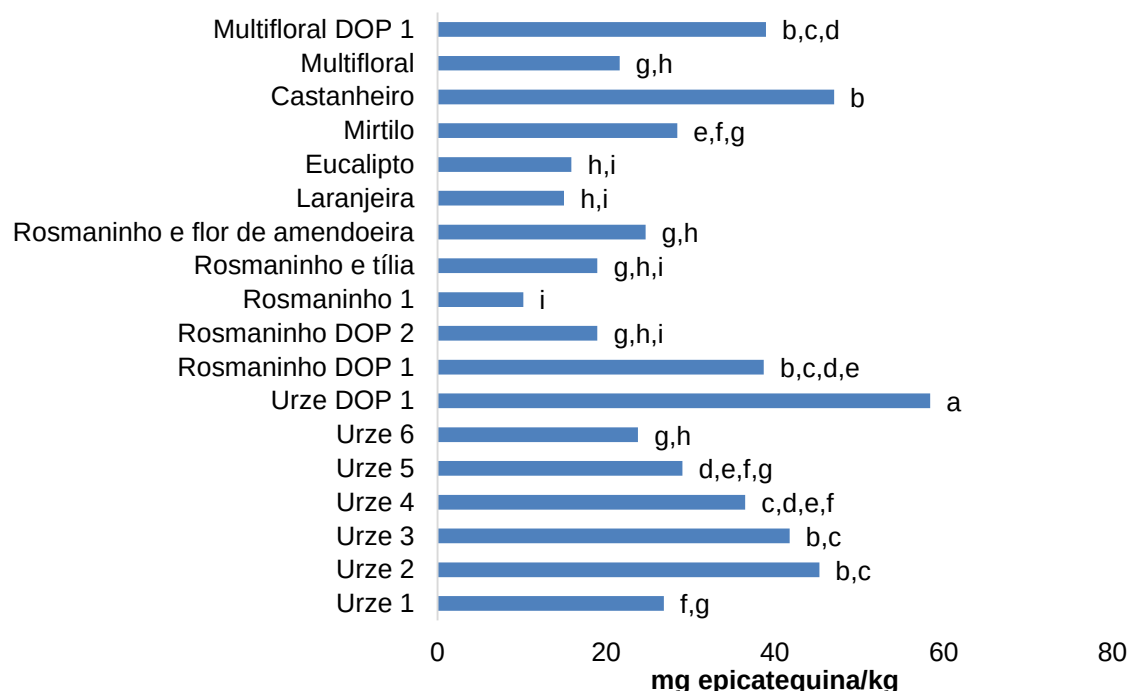


Fig. 12 – Flavonoides totais das amostras de méis. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de scheffe com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.

Por interpretação dos resultados obtidos para os flavonoides totais presentes nas diferentes amostras, verificou-se que, de um modo geral, as amostras de urze e castanheiro foram as que apresentaram maior teor destes compostos. Dentre as amostras de urze, a amostra urze DOP 1 foi a que apresentou valores mais elevados, com 58,42 mg epicatequina/kg, seguida das amostras urze 2 e urze 3 com 45,26 e 41,75 mg epicatequina/kg, respetivamente. A amostra de castanheiro apresentou um valor elevado, de 47,02 mg epicatequina/kg. Por outro lado, as amostras de laranjeira, eucalipto e rosmaninho (com exceção da amostra rosmaninho DOP 1, com 38,68 mg epicatequina/kg), foram as que revelaram menor teor em flavonoides totais, o qual variou entre 15,00 e 18,95 mg epicatequina/kg.

Analisando estatisticamente os resultados obtidos para méis com a mesma origem floral, observaram-se algumas diferenças. Nos méis de urze, verificou-se que a amostra urze DOP 1 apresentou um valor discrepante dos restantes e as amostras urze 1, urze 4, urze 5 e urze 6 não apresentaram diferenças significativas entre si, mas diferiram das amostras urze 2 e urze 3. Quanto aos méis de rosmaninho, a amostra rosmaninho DOP 1 apresentou valor discrepante dos valores obtidos pelas restantes amostras.

Não foi possível estabelecer uma relação entre o teor de flavonoides e a origem geográfica dos méis.

Por comparação dos resultados obtidos para ambos os compostos bioativos analisados, verificou-se que as amostras de urze e castanheiro foram as que evidenciaram sempre valores superiores e que, por sua vez, as amostras de laranjeira, eucalipto e rosmaninho apresentaram os valores mais baixos quer para os fenóis, quer para os flavonoides totais. Assim, pode-se constatar que as amostras mais escuras foram as que apresentaram maiores valores para os compostos bioativos analisados, enquanto as amostras mais claras apresentaram os menores valores. Estes resultados estão de acordo com os resultados publicados de méis de origem portuguesa e de origens florais semelhantes às das amostras estudadas neste trabalho (Estevinho *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 2009).

Além disso, foi possível constatar que os fenóis, presentes nas amostras de mel, desempenham um contributo muito superior para a atividade antioxidante total dos méis, comparativamente aos compostos flavonoides.

Contrariamente a resultados publicados por Ferreira *et al.* (2009) e Estevinho *et al.* (2012), realizados com méis portugueses, no presente estudo, não foi possível concluir qual a influência da origem geográfica no teor de compostos fenólicos e de flavonoides das amostras.

2. Determinação da atividade antioxidante

De acordo com o descrito por Prior *et al.* (2005), não existe um método universal capaz de avaliar a atividade antioxidante de todas as amostras com precisão e quantitativamente. A capacidade antioxidante das diferentes amostras de mel foi determinada por dois métodos: DPPH, baseado na medição da diminuição da absorção do radical DPPH após a exposição ao radical sequestrador; e, FRAP, baseado na redução do ferro na forma Fe^{3+} a Fe^{2+} na presença de antioxidantes.

2.1. Atividade captora dos radicais DPPH •

A medição da capacidade antioxidante para reduzir o radical DPPH constitui a base do método do DPPH utilizado neste trabalho para avaliar a atividade antioxidante do mel, a partir de soluções com uma concentração de 100 mg/mL.

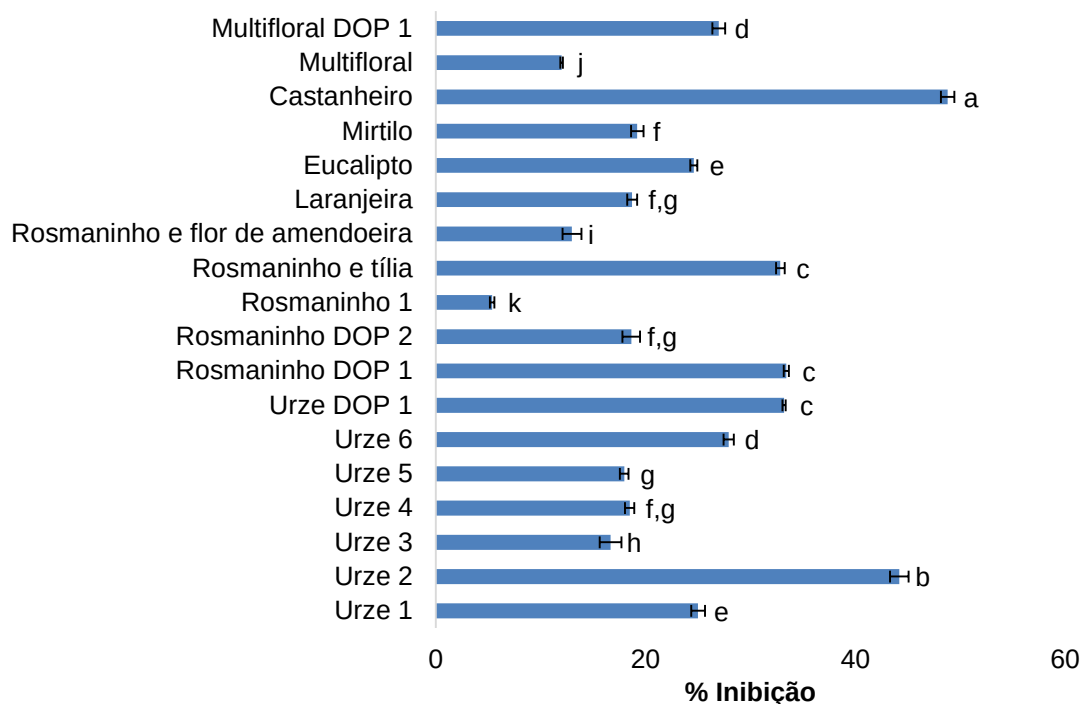


Fig. 13 – Atividade antioxidante das amostras de mel, expressa em % de inibição. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de tukey com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 13, verificou-se que para as amostras analisadas de mel com a concentração testada (100 mg/mL), as percentagens de inibição do DPPH foram, em todos os casos, inferiores a 50%. A amostra de Castanheiro, seguida da amostra Urze 2 foram as que apresentaram uma percentagem de inibição mais elevada e mais próxima dos 50% (48,79% e 44,19%, respetivamente), sendo por isso as amostras que evidenciaram maior capacidade antioxidante. Por outro lado, as amostras Rosmaninho 1 (5,36%), Multifloral (12%), Rosmaninho e flor de amendoeira (12,98%), Urze 3 (16,66%), Urze 5 (17,97%), Urze 4 (18,48) e Rosmaninho DOP 2 (18,63%) foram as que apresentaram menor percentagem de inibição e, consequentemente, menor atividade antioxidante. Foram observadas diferenças significativas entre as amostras, o que significa que não é possível estabelecer uma relação entre a percentagem de inibição e a origem floral das amostras.

Com o intuito de obter percentagens de inibição acima dos 50% deveriam ter sido testadas concentrações superiores a 100 mg/mL. De acordo com dados obtidos em outros estudos desenvolvidos por Estevinho *et al.* (2008), o efeito de neutralização do radical livre DPPH aumenta em função do aumento da concentração da amostra.

2.2. Poder antioxidante de redução do ião férrico (FRAP)

Por interpolação com a reta de calibração e tendo em conta o volume de diluição a que as amostras foram submetidas calculou-se, para cada amostra, a atividade antioxidante total com base no método FRAP (Fig. 14).

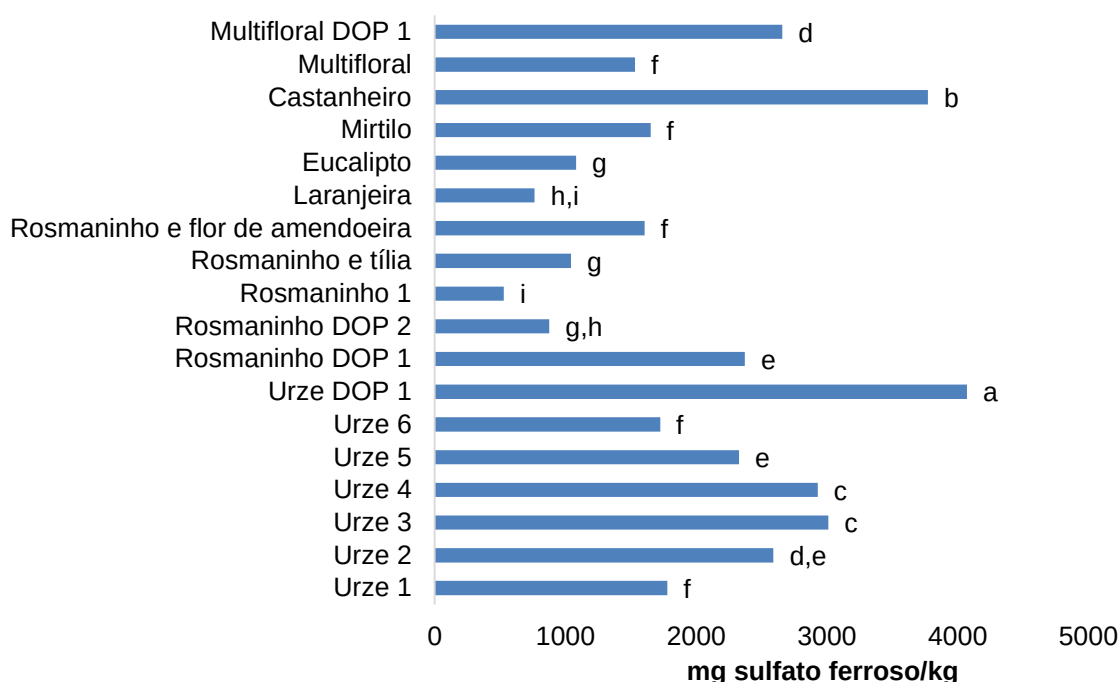


Fig. 14 – Atividade antioxidante das amostras de mel, calculada pelo método FRAP. As letras (a, b, c, d, e, f, g, h, i) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste de tukey com significância de $p = 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.

Observando os resultados apresentados na Figura 14, verificou-se que, de um modo geral, as amostras de mel que apresentaram valores de atividade antioxidante mais elevados foram as de Urze e a de Castanheiro. Dentro das amostras de Urze, a amostra Urze DOP 1 proveniente da região do Barroso foi a que apresentou um valor de atividade antioxidante maior (4072,08 mg de sulfato ferroso/kg de amostra), e a amostra Urze 6 da região de Trás-os-Montes, um valor mais baixo de 1726,25 mg de sulfato ferroso/kg de amostra. A amostra de Castanheiro apresentou um valor de 3773,47 mg de sulfato ferroso/kg de amostra. As amostras com valores mais baixos foram as de Rosmaninho 1 com 529,03 mg de sulfato ferroso/kg de amostra; Laranjeira, com 763,75 mg de sulfato ferroso/kg de amostra; Rosmaninho DOP 2, com 876,25 mg de sulfato ferroso/kg de amostra; e, Eucalipto com 1081,81 mg de sulfato ferroso/kg de amostra.

As amostras multiflorais evidenciaram menor capacidade antioxidante do que as amostras monoflorais, com exceção da Multiflora DOP 1 (2659,59 mg de sulfato ferroso/kg de amostra).

A análise estatística não permite tirar conclusões acerca de uma relação entre a atividade antioxidante das amostras e a sua origem floral, pois existem diferenças entre as amostras.

Tendo em conta os resultados obtidos em ambos os métodos, na generalidade dos casos, a atividade antioxidante dos méis escuros foi superior à dos méis mais claros, tal como o descrito na literatura por Bertonec et al. (2007) e Gheldof e Engeseth (2002). Este facto pode ser justificado pela diferença no teor em compostos fenólicos das diferentes amostras e, consequentemente, pela origem floral, tal como se verificou no trabalho de Al-Mamary et al. (2002). No entanto, nos resultados obtidos pelo método do DPPH verificou-se que contrariamente ao esperado, algumas amostras de Urze (Urze 3, Urze 4 e Urze 5) apresentaram percentagens baixas. Tal facto poderá dever-se a uma eventual demora entre o momento da colocação do DPPH na placa e o momento da leitura da placa no leitor de microplacas.

3. Análise polínica

Para o mel, a origem floral e geográfica constituem aspetos importantes da qualidade, influenciando significativamente o seu valor comercial (Estevinho et al., 2012). Os resultados da análise polínica feita às amostras em estudo permitiram determinar a proveniência floral de cada amostra, com o intuito de confirmar a fonte indicada pelos apicultores.

A análise microscópica de cada amostra permitiu a observação dos grãos de pólen presentes em cada uma delas (Anexo V). No entanto, e apesar de se ter inicialmente pensado fazer também a contagem dos grãos de pólen, tal procedimento não foi possível de concretizar devido à combinação de dois fatores limitantes: a falta de tempo disponível para a execução do procedimento de contagem, o qual é bastante extenso e demorado; e, a falta de material necessário para permitir fazer a contagem corretamente, sendo o aparelho em causa muito caro e indispensável para a instituição na qual as análises foram efetuadas, não se justificando assim a sua aquisição para

este fim. Desta forma, a partir da visualização dos grãos de pólen das amostras obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 5.

Tab. 5 – Tipos de pólen presentes nos méis.

Amostra	Localidade	Pólen								
		<i>Erica</i> <i>sp.</i>	<i>Lavandula</i> <i>sp.</i>	<i>Castanea</i> <i>sp.</i>	<i>Citrus</i> <i>sp.</i>	<i>Eucalyptus</i> <i>sp.</i>	<i>Cytisus</i> <i>multiflorus</i>	Tília	Flor de amendoeira	Mirtilo
Urze 1	Região Centro	d.m	d	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Urze 2	Oliveira do Hospital	d.m	d	d	n.d	d	d	n.d	n.d	n.d
Urze 3	Trás-os-Montes	d.m	d	n.d	n.d	d	n.d	n.d	n.d	n.d
Urze 4	Penamacor	d.m	d	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Urze 5	Chaves	d.m	d	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Urze 6	Trás-os-Montes	d.m	d	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Urze DOP 1	Boticas	d.m	n.d	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Rosmaninho DOP 1	Lousã	d	d.m	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Rosmaninho DOP 2	Trás-os-Montes	n.d	d.m	d	n.d	d	n.d	n.d	n.d	n.d
Rosmaninho 1	Mogadouro	d	d.m	d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Rosmaninho e Tília	Meda	n.d	d.m	d	n.d	d	n.d	d	n.d	n.d
Rosmaninho e flor de amendoeira	Vila Nova de Foz Côa	n.d	d.m	d	n.d	d	n.d	n.d	d	n.d
Laranjeira	Penamacor	n.d	n.d	n.d	d.m	d	n.d	n.d	n.d	n.d
Eucalipto	Paços de Ferreira	d	d	d	n.d	d.m	d	n.d	n.d	n.d
Mirtilo	Viseu	n.d	d	n.d	n.d	d	d	n.d	n.d	n.d
Castanheiro	Sabroso de Aguiar	n.d	n.d	d.m	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Multifloral	Trás-os-Montes	d	d	d	n.d	n.d	d	n.d	n.d	n.d
Multifloral DOP 1	Bragança	d	d	d	n.d	d	d	n.d	n.d	n.d

d- grão de pólen detetado; n.d.- grão de pólen não detetado; d.m- grão de pólen detetado predominante.

Os resultados da análise polínica mostraram que para os méis analisados, os pólenes de *Lavandula sp.*, *Castanea sp.* e *Erica sp.* foram detetados com maior frequência, comparativamente aos restantes, sendo os dois primeiros encontrados em quinze méis e o último em doze. Por outro lado, os grãos de pólen de Flor de amendoeira, Tília e Laranjeira (*Citrus sp.*) foram encontrados numa única amostra de mel. O pólen de *Erica sp.* estava presente maioritariamente em todos os méis de urze, confirmando assim a sua classificação como méis monoflorais de urze. Do mesmo modo, também para os méis de Rosmaninho, Rosmaninho e Tília e Rosmaninho e Flor de amendoeira os grãos de pólen maioritariamente encontrados foram os de *Lavandula*. Os grãos de Tília e os grãos de Flor de amendoeira também foram detetados nas respetivas amostras de mel, mas em menor quantidade. Para todos os restantes méis, verificou-se também que o pólen predominante correspondia, em todos os casos, à origem floral indicada pelo apicultor. No mel de Mirtilo, contrariamente ao sucedido para as outras amostras não se conseguiram observar grãos de pólen de mirtilo. A falta de experiência no manuseamento do microscópio e na identificação de grãos de pólen, bem como possíveis falhas na preparação podem justificar esta situação.

Contudo, importa referir que estes resultados podem não ser exatamente os mais corretos, uma vez que foram obtidos apenas por observação e a contagem não foi efetuada, não sendo assim possível garantir serem fidedignos. Para conclusões mais precisas e, conseqüentemente, mais acertadas seria necessário proceder à contagem de todos os tipos de pólen presentes em cada preparação (para cada amostra) e obter a partir daí a percentagem de cada tipo de pólen encontrado, para que fosse possível comprovar se de facto os méis podem ter a designação de multiflorais ou monoflorais com proveniência da flor indicada consoante a amostra em questão.

De acordo com o descrito na literatura (Bogdanov *et al.*, 2004) existem, na Europa, mais de cem espécies botânicas com possibilidade de dar origem a méis monoflorais, embora alguns sejam apenas comercializados localmente e em escala limitada. Segundo Anklam (1998), a existência de diferentes tipos de méis pode dever-se a uma série de fatores, incluindo as variações no teor de néctar, as condições climáticas, o tipo de solo e, inclusive, as atividades do apicultor. Neste contexto, a análise polínica pode ser entendida como uma técnica eficiente para a diferenciação de méis provenientes de diferentes áreas geográficas e climáticas diferentes, sendo por isso importante a utilização deste método na determinação da origem dos méis.

4. Inquérito de percepção do consumidor

A caracterização do perfil de um consumidor implica o conhecimento dos fatores demográficos, do estilo de vida e da personalidade, na medida em que estes parâmetros estão diretamente associados aos comportamentos de consumo individual (Van Den Bree *et al.*, 2006). Dos 78 inquiridos, 30,8 % eram do sexo masculino e as restantes 69,2 % do sexo feminino. A idade dos inquiridos variava entre os 16 e os 60 anos, sendo a média de idades de 29 anos. Quanto às habilitações literárias constata-se que a maioria dos inquiridos possui grau literário equivalente ao ensino superior (58,9 %).

Dos 78 inquiridos, apenas 14% afirmaram ter conhecimento da existência de mel DOP (Fig.15), e destes apenas 8% conhecia o mel do Parque de Montesinho; 4% conhecia os méis do Alentejo, Barroso e Terra Quente; 3% conhecia o mel dos Açores; e 1% conhecia os méis da Serra de Monchique, Ribatejo Norte, Terras Altas do Minho e Serra da Lousã. Dos conhecedores de mel DOP, apenas 9% consome ou já consumiu mel DOP. A reduzida percentagem de inquiridos conhecedores e consumidores de mel DOP pode ser justificada por fatores como a falta de hábito de consumo de mel, o facto de não gostarem de mel, a dificuldade de acesso a este tipo de produto e o preço.

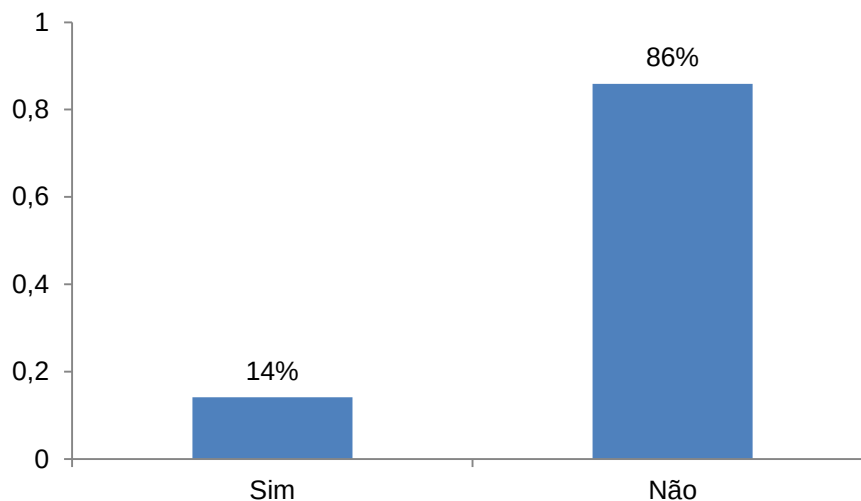


Fig.15 – Conhecimento de mel DOP.

Quando questionados acerca dos benefícios que associavam ao consumo de mel (Fig. 16), os 78 participantes deste questionário destacaram as propriedades curativas e/ou terapêuticas do mel, tendo apontado o tratamento de gripe e constipações (42%) e o alívio de dores de garganta e tosse (36%) como os principais fatores benéficos inerentes ao seu consumo, seguidos das propriedades como emoliente, esfoliante e hidratante (26%); adoçante natural (23%) e a sua capacidade antioxidante (17%). As suas

qualidades em termos nutricionais e sensoriais foram indicadas por um reduzido número de inquiridos. Segundo Perosa *et al.*, (2004) a falta de informação, responsável pelo desconhecimento das propriedades nutritivas do mel, induz o consumo de mel essencialmente como remédio e não como alimento, o que justifica os resultados obtidos.



Fig. 16 – Benefícios do consumo de mel.

No que respeita aos perigos associados ao consumo de mel (Fig. 17), a Diabetes (37%) foi o principal risco inerente ao consumo de mel apontado pelos inquiridos, seguida da hiperglicemia (14%), aumento de peso/Obesidade (14%), presença de contaminantes (13%), cáries dentárias (9%), adulterações do produto (5%) teor calórico (5%), HMF (3%) e problemas intestinais (3%). Estes resultados mostram a percepção do consumidor relativamente ao elevado teor de açúcar do mel. Isto pode ser justificado pelo facto de este alimento ter um sabor muito doce.

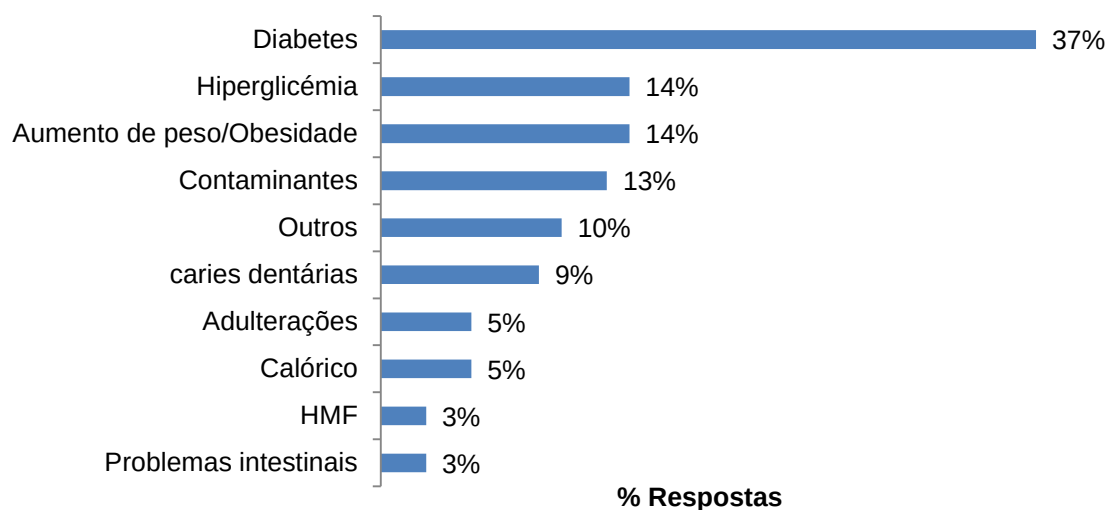


Fig. 17 – Perigos associados ao consumo de mel.

Relativamente às vantagens do mel DOP face ao mel sem designação de origem, a qualidade e segurança foram os critérios mais apontados pelos inquiridos (Fig.18). Estes resultados permitem concluir que a certificação valoriza o produto, na medida em que o consumidor deposita uma maior confiança no mel certificado por o considerar melhor em termos de segurança e qualidade.

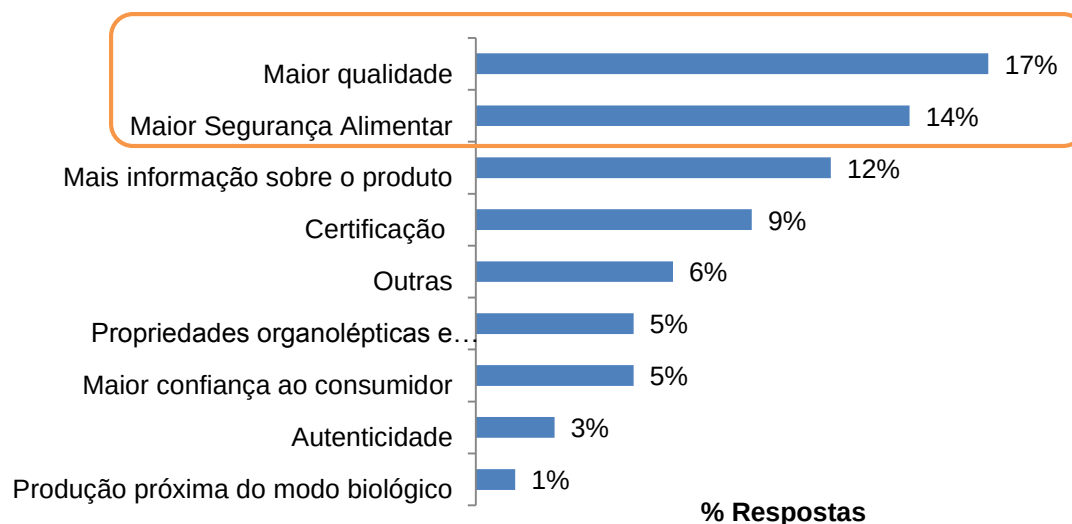


Fig. 18 – Vantagens do mel DOP comparativamente aos restantes méis.

De um modo geral, constata-se que o mel com denominação de origem é ainda pouco conhecido e, conseqüentemente, pouco consumido, comparativamente aos restantes méis. As propriedades terapêuticas deste produto natural são os principais fatores que incentivam o seu consumo.

5. Análise sensorial

5.1. Estudo de aceitação

Os provadores selecionados eram consumidores de mel e faziam parte do painel de consumidores da SenseTest, Lda. A faixa etária dos 30 provadores encontra-se entre os 23 e os 65 (média de $38,03 \pm 12,20$) anos, sendo 20 (66,67%) do sexo feminino e 10 (33,33%) do sexo masculino.

Todos os ensaios decorreram na sala de provas da SenseTest (Sociedade de Estudos de Análise Sensorial a Produtos Alimentares, Lda), específica para ensaios sensoriais de produtos alimentares (de acordo com a Norma ISO 8589 *Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms*).

As pontuações obtidas para cada amostra no teste de aceitação, foram analisadas e expressas em um gráfico do tipo box-plot (Fig. 19).

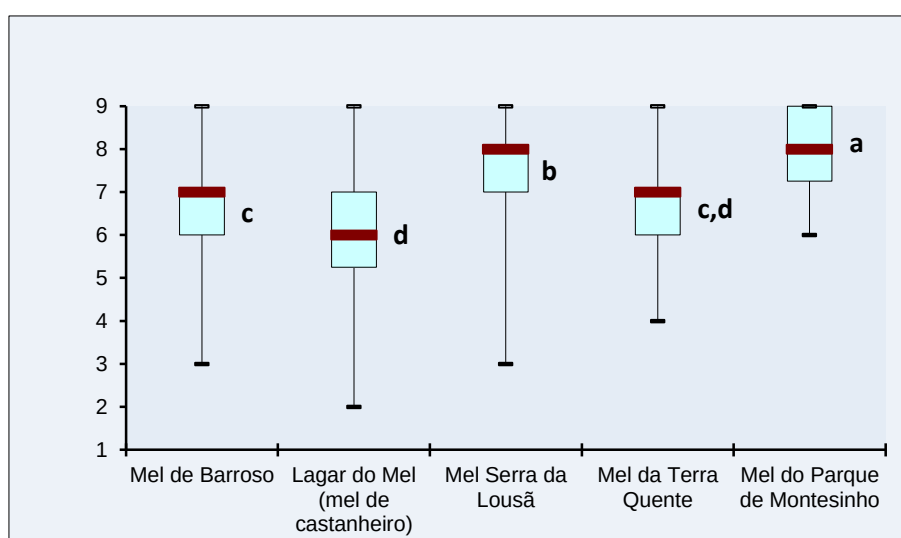


Fig. 19 – Box-plot construído a partir da mediana das diferenças, intervalo inter-quartil, mínimo e máximo. As letras (a, b, c, d) representam as diferenças entre amostras calculadas pelo teste não-paramétrico de wilcoxon com significância de $p < 0,05$, em que letras iguais significam que não há diferenças significativas.

Por observação da Figura 19, pode-se constatar que o mel do Parque de Montesinho foi o que obteve melhores pontuações e, portanto, foi considerado pelos provadores como o melhor mel em termos sensoriais, seguindo-se o mel da Serra da Lousã, o mel do Barroso, o mel da Terra Quente e, por último, o mel do Lagar do mel (mel de castanheiro). Assim, verifica-se que, de acordo com os resultados obtidos, os méis DOP são melhores em termos sensoriais.

Os comentários relativos às amostras têm apenas caráter de orientação, na medida em que engloba a subjetividade inerente ao ensaio e à interpretação dos dados. Pela análise dos comentários (Anexo VI e VII) verifica-se que tal como se constatou pela interpretação da Figura 19, o mel do Parque de Montesinho foi o que obteve mais comentários positivos e menos comentários negativos. Por outro lado, o mel do Lagar do Mel (mel de castanheiro) foi o que obteve menor número de comentários positivos.

5.2. *Flash Profile*

De acordo com o descrito na literatura por Dairou e Sieffermann (2002), a técnica *Flash Profile* é frequentemente utilizada para avaliar o impacto de um produto novo ou para avaliar as propriedades sensoriais de um determinado produto. Desta forma, no presente trabalho, aplicou-se esta técnica com o intuito de avaliar as propriedades sensoriais de cinco amostras de mel.

O painel de provadores era constituído por 17 elementos (P1 a P17). Numa fase inicial, cada provador indicou entre 4 e 22 termos de diferenciação, seguindo-se a elaboração de uma lista geral única. Por comparação da lista individual com a lista geral, cada provador fez um reajuste da sua lista inicial, dando origem a listas finais com um número de descritores compreendido entre 5 e 15 (Tab. 6).

Tab. 6 - Exemplos de listas de descritores utilizadas pelos provadores para avaliar as diferentes amostras.

	Prorador 2	Prorador 5	Prorador 11	Prorador 17
Descritores	Cor castanha-dourada	Cor amarela	Cor castanha-dourada	Cor castanha-dourada
	Brilho	Brilho	Opacidade	Luminosidade
	Intensidade de odor a flores	Intensidade de odor adocicado	Viscosidade	Brilho
	Viscosidade	Espessura	Homogeneidade	Ausência de grânulos de açúcar
	Textura uniforme	Densidade	Intensidade de sabor doce	Intensidade do odor
	Intensidade de sabor doce	Suavidade		Intensidade do odora flores
	Proveniência floral do mel	Creiosidade		Odor fresco a doce e flores
		Intensidade de sabor doce		flores
		Grau de doçura		Consistência
		Irritante na garganta		Densidade
				Elasticidade
				Textura uniforme
				Pegajocidade
				Intensidade de sabor doce
				Grau de doçura
				Prolongamento da sensação na boca

Como a escolha dos atributos é feita de forma livre, corre-se o risco de, por vezes o número de termos utilizados ser grande ou de não se conseguir perceber qual o real significado que o provador atribui a um determinado termo, o que dificulta a interpretação dos resultados.

A lista geral única foi construída com as seguintes características: cor amarela, cor/coloração uniforme, cor castanha, cor castanha-dourada, cor clara, cor escura, cor dourada, tonalidade natural, opacidade, luminosidade, brilho, translucidez, ausência de grânulos de açúcar, presença de cristais, ausência de cristalização, ausência de bolhas/impurezas, intensidade de cor, intensidade de odor adocicado, intensidade de odor, intensidade de odor a flores, intensidade de odor perfumado, ausência de notas de fumo no odor, intensidade de odor frutado, odor típico, odor natural, odor fresco a doce e flores, simplicidade do odor, espessura, viscosidade, homogeneidade,

consistência, maciez, liquidez, densidade, suavidade, adesividade, fluidez, teor de humidade, cremosidade, elasticidade, textura uniforme, arenosidade, pegajocidade, coesividade, aveludado, intensidade de sabor doce, intensidade de sabor a flores, intensidade de sabor, intensidade de sabor frutado, intensidade de sabor natural, intensidade de sabor amargo, simplicidade do sabor, grau de doçura, acidez, persistência do sabor, prolongamento da sensação na boca, enjoativo, sabor genuíno, aromático, irritante na garganta, natural e proveniência floral do mel.

Após a aplicação do GPA, com base nos dois componentes principais no espaço de consenso, representando quase 90 % (89,94%) da variabilidade, obtiveram-se os seguintes *biplots* relativos à projeção de cada amostra (Fig. 20) e à distribuição espacial dos descritores (Fig. 21).

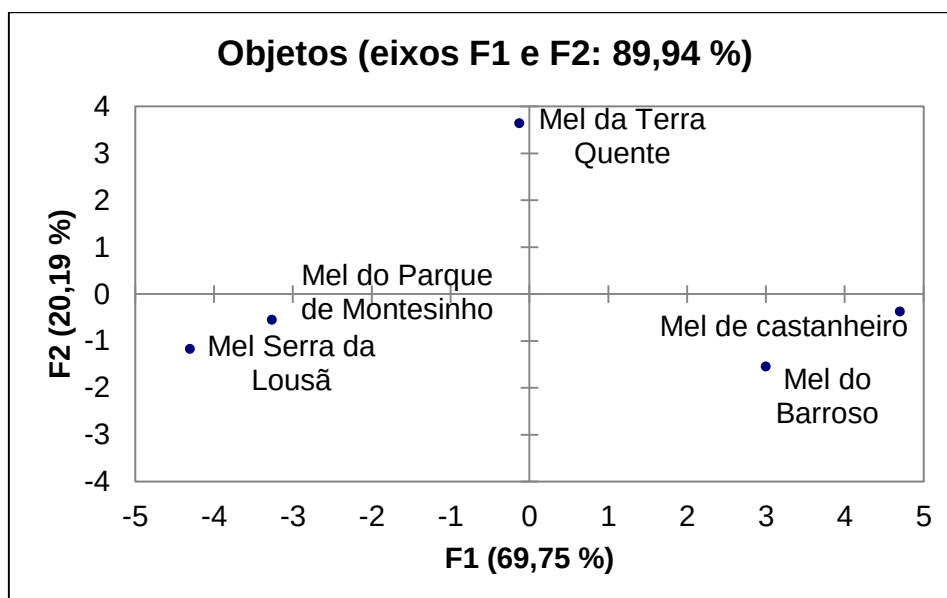


Fig. 20 - Biplot de projeção das diferentes amostras na aplicação do *Flash Profile*, no plano definido pelas duas dimensões principais do consenso.

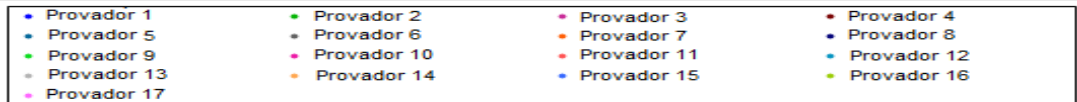


Fig. 21- Biplot de projeção dos descritores utilizados na caracterização das diferentes amostras na aplicação do *Flash Profile*, no plano definido pelas duas dimensões principais do consenso.

Por observação das Figuras 20 e 21 pode-se verificar que o mel do Parque de Montesinho e o mel da Serra da Lousã foram essencialmente distinguidos pela cor clara ou castanha-dourada, brilho, textura uniforme e com ausência de grânulos, intensidade de odor e sabor floral e frutado e pela maciez. O mel do Barroso foi essencialmente distinguido pela sua cor escura/castanha, pela consistência e pela ausência de grânulos. Para o mel de castanheiro, é possível constatar que a sua espessura, viscosidade, densidade, arenosidade e a presença de cristais foram as características mais notadas pelos provadores. No caso da amostra de mel da Terra Quente o odor e o sabor floral e frutado foram apresentadas como as características mais evidentes nesta amostra.

Por análise das figuras (Fig. 20 e Fig. 21) é ainda possível constatar que de acordo com os provadores, em termos sensoriais, o mel do Parque de Montesinho e o mel da Serra da Lousã são muito semelhantes nas características que os definem. Do mesmo modo, também o mel do Barroso e o mel de Castanheiro se aproximam em termos das propriedades sensoriais que apresentam. O mel da Terra Quente foi considerado como sendo aquele que menos se aproxima aos restantes, no que respeita às suas qualidades sensoriais.

V- Conclusões

O presente trabalho visou a avaliação de propriedades químicas (atividade antioxidante e compostos bioativos), físicas (pólen) e sensoriais de diferentes méis.

Os resultados obtidos nas análises laboratoriais comprovaram que, de facto, o mel é um alimento interessante do ponto de vista nutricional, uma vez que contém uma grande quantidade de compostos capazes de lhe conferirem propriedades funcionais, mais concretamente a atividade antioxidante, benéfica para o bom funcionamento do organismo humano.

De entre as amostras analisadas, constatou-se que, de um modo geral, as amostras de Urze e Castanheiro foram as que apresentaram atividade antioxidante superior e maior teor de fenóis e de flavonoides totais. Por outro lado, a menor capacidade antioxidante foi detetada nas amostras de Laranjeira, Eucalipto e Rosmaninho, as quais apresentaram também menor teor dos compostos bioativos estudados. Portanto, conclui-se que a atividade antioxidante é influenciada pelo teor de compostos bioativos e que tal como o descrito na literatura, a cor do mel pode ser considerada um índice do poder antioxidante. Geralmente os méis de cor clara têm menor atividade antioxidante e os de cor escura têm atividade antioxidante mais elevada, o que se verificou no presente trabalho. Além disso, concluiu-se que a atividade antioxidante e o teor em fenóis e flavonoides totais presentes nas amostras é dependente das suas origens florais e, consequentemente, a qualidade do produto final é afetada por este fator.

A análise efetuada ao pólen presente nas amostras em estudo confirmaram a origem floral indicada pelo apicultor.

Da abordagem feita ao consumidor de mel, relativamente à percepção dos benefícios e perigos associados ao consumo deste produto natural, verificou-se que as propriedades terapêuticas do mel são o principal fator que induz o seu consumo. Por outro lado, os efeitos adversos do excesso de açúcar contido no mel, especialmente o risco de aparecimento da Diabetes, são apontados como fatores potencialmente indutores da inibição do consumo do produto.

Em termos sensoriais, comprovou-se que as amostras com designação de origem (DOP) foram as mais apreciadas pelo painel de provadores. Em resultado da aplicação

da técnica de *Flash Profile* concluiu-se que os méis do Parque de Montesinho e da Serra Lousã foram considerados sensorialmente próximos, bem como os méis do Barroso e de Castanheiro. O mel da Terra Quente foi considerado como o menos próximo em relação às características sensoriais dos restantes.

Num trabalho futuro seria interessante proceder à determinação de outros compostos antioxidantes presentes quer nas amostras de mel estudadas, quer em outras amostras de méis monoflorais portugueses, que não foram analisados no presente trabalho, para que assim se tenham dados mais precisos sobre as diferenças do perfil fenólico de cada mel e relacionar com as suas origens florais e geográficas. Além disso, poderia também ser feita a determinação da atividade antioxidante total, com o recurso a outros métodos para posterior comparação de resultados com o intuito de verificar qual o método mais indicado para as amostras dos diferentes méis. No que respeita à análise polínica poderia ser efetuado o procedimento de contagem dos grãos de pólen de modo a permitir a obtenção de resultados mais completos e mais fidedignos, enriquecendo o trabalho.

Na perspetiva da análise do consumidor, poderiam ser desenvolvidos outros questionários destinados a consumidores habituais de mel, com o intuito de avaliar outras questões não abordadas neste trabalho, como: hábitos de consumo, fatores de escolha, formas de consumo, entre outras. A avaliação sensorial dos méis que não foram submetidos a esta análise poderia ser interessante, permitindo comparar essencialmente se existem ou não diferenças sensoriais entre méis DOP e méis sem designação de origem e verificar qual a amplitude em que essas possíveis diferenças são percebidas pelo provador.

Referências Bibliográficas

- Al-Mamary, M., Al-Meer, A. e Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. **22**: 1041-1047.
- Aljadi, A. M. e Kamaruddin, M. Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, **85**: 513-518.
- Alves, R. C., Costa, A. S., Jerez, M., Casal, S., Sineiro, J., Nunez, M. J. e Oliveira, B. (2010). Antiradical Activity, Phenolics Profile, and Hydroxymethylfurfural in Espresso Coffee: Influence of Technological Factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **11**, 11.
- Kumar, A., Kaushik, R., Kashyap, A. e Kashyap, M. K. (2005). Indian Honey: A Natural Product with Antibacterial Activity Against Antibiotic Resistant Pathogens, an in vitro Study. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **8**: 190-193.
- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*. **63**: 549-562.
- Aoki, K., Shen, J. e Saijo, T. (2010). Consumer reaction to information on food additives: Evidence from an eating experiment and a field survey. *Journal of Economic Behavior & Organization*. **73**: 433-438.
- Arráez-Román, D., Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Segura-Carretero, A. e Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Identification of phenolic compounds in rosemary honey using solid-phase extraction by capillary electrophoresis–electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1648-1656.
- Arruda, C. M. D. (2003). Características físico-químicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da Chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, Estado do Ceará. Dissertação-Mestrado.
- Aruoma, O. I. (1994). Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*. **32**: 671-683.
- Azeredo, L. D. C., Azeredo, M. A. A., de Souza, S. R. e Dutra, V. M. L. (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*. **80**: 249-254.
- Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P. R. e Čeksterytė, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*. **101**: 502-514.

- Barlow, S. Toxicological Aspects of Antioxidants Used as Food Additives. In B.J.F. Hudson (Editors). Food Antioxidants. Springer Netherlands, 1990, p. 253-307.
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M. e David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Química Nova. **29**: 113-123.
- Barroso, M. F. T., Noronha, J. P., Delerue-Matos, C. e Oliveira, M. B. P. P. (2011). Flavored Waters: Influence of Ingredients on Antioxidant Capacity and Terpenoid Profile by HS-SPME/GC-MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **59**: 5062-5072.
- Basualdo, C., Sgroy, V., Finola, M. S. e Marioli, J. M. (2007). Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. Veterinary Microbiology. **124**: 375-381.
- Belitz, H. e Grosch, W. (1997). Química de los Alimentos. Acribia. Zaragoza. España, 957-974.
- Benzie, I. F. (2003). Evolution of dietary antioxidants. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology. **136**: 113-126.
- Benzie, I. F. F. e Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. **239**: 70-76.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. e Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. Food Chemistry. **105**: 822-828.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P. e Piatti, E. (2007). Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. Food Chemistry. **104**: 1635-1640.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., e Oddo, L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. Apidologie. **35**: S4-S17.
- Bonvehí, S. J. e Coll, V. F. (2003). Flavour index and aroma profiles of fresh and processed honeys. Journal of the Science of Food and Agriculture. **83**: 275-282.
- Brandt, M. A., Skinner, E. Z. e Coleman, J. A. (1963). Texture profile method. Journal of Food Science. **28**: 404-409.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews. **56**: 317-333.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology. **36**: 347-363.

- Cairncross, S. e Sjostrom, L. (1950). Flavor profiles: A new approach to flavor problems. *Descriptive Sensory Analysis in Practice*. 15-22.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A. e Pérez-Coello, M. S. (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*. **112**: 1022-1030.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C. e Pérez-Coello, M. S. (2006). Volatile Composition and Contribution to the Aroma of Spanish Honeydew Honeys. Identification of a New Chemical Marker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 4809-4813.
- Chantarudee, A., Phuwapraisirisan, P., Kimura, K., Okuyama, M., Mori, H., Kimura, A. e Chanchao, C. (2012). Chemical constituents and free radical scavenging activity of corn pollen collected from *Apis mellifera* hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **12**: 45.
- Chaudiere, J. e Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*. **37**: 949-962.
- Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zangerl, A. R. e Engeseth, N. J. (2000). Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 4997-5000.
- Cherchi, A., Spanedda, L., Tuberoso, C. e Cabras, P. (1994). Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. *Journal of Chromatography A*. **669**: 59-64.
- Codex Alimentarius – International Food Standards. (1981). Codex Standard for honey, pp. 1-8. Acedido em Novembro de 2012, url: <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/en/?provide=standards&orderField=fullReference&sort=asc&num1=CODEX>
- Dairou, V. e Sieffermann, J. M. (2002). A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the flash profile. *Journal of Food Science*. **67**: 826-834.
- Decreto-lei nº 131/ 85 de 29 de Abril, Diário da República Iª Série.
- Decreto-lei nº 214/2003 de 18 Setembro, Diário da República Iª Série A.
- Delarue, J. e Sieffermann, J.M. (2004). Sensory mapping using Flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavour of fruit dairy products. *Food Quality and Preference*. **15**: 383-392.

- Escriche, I., Visquert, M., Juan-Borrás, M. e Fito, P. (2009). Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry*. **112**: 329-338.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G. e Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 3774-3779.
- Estevinho, L. M., Feas, X., Seijas, J. A. e Pilar Vazquez-Tato, M. (2012). Organic honey from Tras-Os-Montes region (Portugal): chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food and Chemical Toxicology*, **50**: 258-264.
- Ferreira, I. C.F.R., Abreu, Rui, M.V. (2007). Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. *Bioanálise*. **2**: 32-29.
- Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M. e Estevinho, L. M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. **114**: 1438-1443.
- Ferreres, F., Andrade, P., Gil, M. e Tomás-Barberán, F. (1996). Floral nectar phenolics as biochemical markers for the botanical origin of heather honey. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. **202**: 40-44.
- Ferreres, F., Andrade, P. e Tomás-Barberán, F. A. (1996). Natural Occurrence of Abscissic Acid in Heather Honey and Floral Nectar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **44**: 2053-2056.
- Ferreres, F., Blázquez, M. A., Gil, M. I. e Tomás-Barberán, F. A. (1994). Separation of honey flavonoids by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A*. **669**: 268-274.
- Ferreres, F., Juan, T., Pérez-Arquillué, C., Herrera-Marteache, A., García-Viguera, C. e Tomás-Barberán, F. A. (1998). Evaluation of pollen as a source of kaempferol in rosemary honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **77**: 506-510.
- Finola, M. S., Lasagno, M. C. e Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*. **100**: 1649-1653.
- FNAP – Federação Nacional dos Apicultores de Portugal. Projeto Bioimpact. Acedido em Novembro de 2012, url: <http://www.fnap.pt/projectos.php?m=14>.
- Frankel, S. R., G. E., Berenbaum, M. R. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, **37**.
- Gheldof, N. e Engeseth, N. J. (2002). 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.
- Gomez-Pinilla, F. e Nguyen, T. T. (2012). Natural mood foods: the actions of polyphenols against psychiatric and cognitive disorders. *Nutritional Neuroscience*. **15**: 127-133.
- Grankvist, G. e Biel, A. (2001). The importance of beliefs and purchase criteria in the choice of eco-labeled food products. *Journal of Environmental Psychology*. **21**: 405-410.
- Grunert, K. G. (2002). Current issues in the understanding of consumer food choice. *Trends in Food Science & Technology*. **13**: 275-285.
- Grunert, K. G. (2005). Food quality and safety: consumer perception and demand. *European Review of Agricultural Economics*. **32**: 369-391.
- Grunert, K. G., Baadsgaard, A., Larsen, H. H. e Madsen, T. K. Market Orientation in Food and Agriculture. K. A. Publishers (Editors), 1996.
- Harborne, J. B. e Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. **55**: 481-504.
- Hirayama, O., Takagi, M., Hukumoto, K. e Katoh, S. (1997). Evaluation of antioxidant activity by chemiluminescence. *Analytical Biochemistry*. **247**: 237-241.
- Horn, H. (1996). Méis Brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. XI Congresso Brasileiro de Apicultura. 403-429.
- INE - Instituto Nacional de Estatística, Consumo humano de mel per capita (kg/hab.), Balanços de Aproveitamento de Produtos Vegetais, Fev 2012. Acedido em Dezembro 2012, url: <http://www.ine.pt>.
- INE - Instituto Nacional de Estatística, Produção de mel per capita (kg/hab.), Estatísticas da Produção Animal, 2012. Acedido em Dezembro 2012, url: <http://www.ine.pt>.
- Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, Diário Oficial da União de 23/10/2000, Secção 1, Página 23.
- Iurlina, M. O. e Fritz, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*. **105**: 297-304.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H. P. e Vivanco, J. M. (2002). Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**: 5878-5883.

- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. e Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*. **100**: 526-534.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal Nutrition*. **134**: 3479S-3485S.
- Lusby, P. E., Coombes, A. L. e Wilkinson, J. M. (2005). Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Archives of Medical Research*. **36**: 464-467.
- Machlin, L. J. (1995). Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **35**: 41-50.
- Maia, M. (2013). Como melhorar a nossa “performance” para obtermos méis monoflorais? O Apicultor-Revista Trimestral. Acedido em 28 de Novembro 2012, url: http://oapicultor.com/artigos/MEIS_MONOFLORAIS.pdf.
- Martos, I., Ferreres, F. e Tomas-Barberan, F. A. (2000). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 1498-1502.
- Martos, I., Ferreres, F., Yao, L., D'Arcy, B., Caffin, N. e Tomas-Barberan, F. A. (2000). Flavonoids in monospecific eucalyptus honeys from Australia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 4744-4748.
- Meilgaard, M., Civille, G. e Carr, T. *Sensory Evaluation Techniques*, CRC, 1999
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. e van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. **85**: 231-237.
- Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Programa apícola nacional triénio de 2011-2013, 2010. Acedido em 23 de Novembro 2012, url: http://www.gpp.pt/MA/apicultura/PAN_2011_13.pdf
- Montet, A. Les principales méthodes descriptives et leurs variantes. Urdipilleta, I., Ton Nu, C., Saint Denis, C. e Huon de Kermadec, F. (Editors). 2001. 'Traité d'évaluation sensorielle'—Aspects cognitifs et métrologiques des perceptions'. Dunod, Paris, França.
- Mundo, M. A., Padilla-Zakour, O. I. e Worobo, R. W. (2004). Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology*. **97**: 1-8.
- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. e Suzuki, N. (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*. **75**: 237-240.

- Nicod, H., Clément, J., Sauvageot, F. e Strigler, F. L'organisation pratique de la mesure sensorielle. Depledt, F., Strigler, F.(Editors). 1998. Évaluation Sensorielle, Manuel Méthodologique. Lavoisier. Collection Sciences et Techniques Alimentaires, p: 45 - 91.
- Ohea, W. V. D., Oddo, L. P., Piana, M. L., Morlot, M. e Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*. **35**: S18-S25.
- Olaitan, P. B., Adeleke, O. E. e Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*. **7**: 159-165.
- Oliver, R. L. (1980). A cognitive model of the antecedents and consequences of satisfaction decisions. *Journal of Marketing Research*. **17**: 460 - 469.
- Oliver, R. L. (1993). Cognitive, Affective, and Attribute Bases of the Satisfaction Response. *Journal of Consumer Research*. **20**: 418-430.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M. e Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **49**: 4619-4626.
- Perosa, J. M. Y., Arauco, E. M. R., Santos, M. d. A. e Albarracín, V. N. (2004). Parâmetros de competitividade do mel brasileiro. *Revista Conformance Economics*, São Paulo. **34**.
- Perrin, L. (2009). Construction of a product space from the ultra-flash profiling method: application to 10 red wines from the loire valley. *Journal of Sensory Studies*. **24**: 372-395.
- Perron, N. R. e Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*. **53**: 75-100.
- Prior, R. L. e Cao, G. (1999). Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. **220**: 255-261.
- Prior, R. L., Wu, X. e Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53**: 4290-4302.
- Radovic, B. S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M. e Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*. **72**: 511-520.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K. e Kumar, M. N. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. **113**: 189-207.

- Regulamento (CEE) nº2081/92 do Conselho de 14 de Julho de 1992. Jornal Oficial da União Europeia.
- Rice-Evans, C., Miller, N. e Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. **2**: 152-159.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P. e Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. **66**: 401-436.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. e Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. **91**: 621-632.
- Sato, T. e Miyata, G. (2000). The nutraceutical benefit, part iii: honey. *Nutrition*. **16**: 468-469.
- Scalbert, A., Johnson, I. T. e Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **81**: 215S-217S.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. e Jimenez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. **45**: 287-306.
- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. e Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. **101**: 1012-1018.
- Singleton, V. L. e Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. **16**: 144-158.
- Steinmetz, K. A. e Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*. **96**: 1027-1039.
- Stich, H. F. (1991). The beneficial and hazardous effects of simple phenolic compounds. *Mutation Research*. **259**: 307-324.
- Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woolsey, A. e Singleton, R. C. (1974). Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Descriptive Sensory Analysis in Practice*. 23-34.
- Taormina, P. J., Niemira, B. A. e Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*. **69**: 217-225.

- Tomás-Barberán, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S. e Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **81**: 485-496.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. e Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. **39**: 44-84.
- Van Den Bree, M. B. M., Przybeck, T. R. e Robert Cloninger, C. (2006). Diet and personality: Associations in a population-based sample. *Appetite*. **46**: 177-188.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP da Serra da Lousã.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP da Serra de Monchique.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP da Terra Quente.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP das Terras Altas do Minho.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP do Alentejo.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP do Barroso.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP do Parque de Montezinho.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP do Ribatejo Norte.
- Versão completa do caderno de especificações do mel DOP dos Açores.
- Voorhies, E. C., Galbraith, J. K. e Todd, F. E. (1933). Economic aspects of the bee industry (Vol. B555). Berkeley, California Agricultural Experiment Station.
- Wang, S. Y. e Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 140-146.
- White, J. W. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*. **63**: 11-18.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T. e Newmark, H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition*. **21**: 381-406.
- Yu, L. L., Zhou, K. K. e Parry, J. (2005). Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. *Food Chemistry*. **91**: 723-729.

Anexos

Anexo I – Inquérito de percepção do consumidor.

Código:

(não preencher)

Data: ____ / ____ / 2013

No âmbito do Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição da Universidade do Porto estamos a realizar um questionário acerca do consumo de mel DOP em Portugal. Este questionário é anónimo e as suas respostas serão tratadas com toda a confidencialidade.

1. Tem conhecimento da existência de algum mel DOP (Denominação de Origem Protegida)?

Sim ☐

Não ☐

1.1. Se sim, indique qual ou quais?

1.2. Se sim, já consumiu mel DOP?

Sim ☐

Não ☐

3. Enumere por tópicos todos os benefícios que associa ao consumo de mel.

4. Enumere por tópicos todos os perigos que associa ao consumo de mel.

5. Quais as vantagens que identifica no consumo de mel DOP, face aos restantes méis sem designação de origem.

Caraterização sociodemográfica

Sexo: Masculino ☐ Feminino ☐

Idade: _____ anos

Estado civil:

Solteiro(a) ☐

Casado(a) / união de facto ☐

Separado(a) /divorciado(a) ☐

Viúvo(a) ☐

Dimensão do agregado familiar (incluindo o próprio): _____

Qual o nível de ensino completo que possui:

Nenhum ☐

Ensino básico 1º ciclo (antiga instrução primária/ 4ª classe /atual 4º ano) ☐

Ensino básico 2º ciclo (antigo ciclo preparatório/6º ano) ☐

Ensino básico 3º ciclo (antigo 5º liceal / atual 9º ano) ☐

Ensino secundário (antigo 7º liceal /ano propedêutico/ atual 12º ano) ☐

Ensino pós-secundário (Cursos de especialização tecnológica, nível IV) ☐

Bacharelato (inclui antigos cursos médios) ☐

Licenciatura ☐

Mestrado ☐

Doutoramento ☐

Atividade Profissional:

Trabalhador por conta própria ☐

Trabalhador por conta de outrem ☐

Desempregado ou sem atividade laboral ☐

Estudante ☐

Reformado/Aposentado ☐

Outra, especificar _____

Distrito de Residência: _____

Anexo II- Ordem de apresentação das amostras durante a prova de aceitação.

	Ordem de apresentação				
	1 ^o	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
Prorador					
1	459	150	312	224	578
2	312	459	150	224	578
3	578	150	224	459	312
4	224	578	312	459	150
5	224	459	312	150	578
6	578	459	312	224	150
7	150	459	578	312	224
8	224	312	150	578	459
9	578	312	150	459	224
10	578	150	312	224	459
11	224	459	150	578	312
12	578	459	224	150	312
13	224	150	312	578	459
14	578	312	459	150	224
15	150	578	312	459	224
16	224	459	150	312	578
17	578	150	312	459	224
18	578	224	459	150	312
19	150	224	459	578	312
20	459	150	224	312	578
21	150	312	224	578	459
22	224	150	578	312	459
23	578	224	312	459	150
24	150	459	578	224	312
25	224	312	578	150	459
26	312	578	150	224	459
27	150	459	224	578	312
28	224	312	459	578	150
29	224	578	459	150	312
30	459	224	578	312	150

150 – mel do Barroso; 224 – mel de Castanheiro; 312 – mel do Parque de Montesinho; 459 – mel da Serra da Lousã; 578 – mel da Terra Quente.

Anexo III – Lista de descritores gerados pelos 17 provadores.

Escolha de descritores – Mel

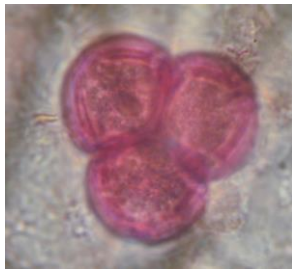
Nome:.....

Da seguinte lista apresentada escolha os atributos que permitem diferenciar o mel:

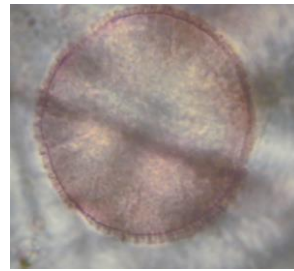
Cor amarela	☐	Intensidade de odor adocicado	☐	Espessura	☐	Intensidade de sabor doce	☐
Cor / Coloração uniforme	☐	Intensidade de odor	☐	Viscosidade	☐	Intensidade de sabor a flores	☐
Cor castanha	☐	Intensidade de odor a flores	☐	Homogeneidade	☐	Intensidade de sabor	☐
Cor castanha - dourada	☐	Intensidade de odor perfumado	☐	Consistência	☐	Intensidade de sabor frutado	☐
Cor clara	☐	Ausência de notas de fumo no odor	☐	Maciez	☐	Intensidade de sabor natural	☐
Cor escura	☐	Intensidade de odor frutado	☐	Liquidez	☐	Intensidade de sabor amargo	☐
Cor dourada	☐	Odor típico	☐	Densidade	☐	Simplicidade do sabor	☐
Tonalidade natural	☐	Odor natural	☐	Suavidade	☐	Grau de doçura	☐
Opacidade	☐	Odor fresco a doce e flores	☐	Adesividade	☐	Acidez	☐
Luminosidade	☐	Simplicidade do odor	☐	Fluidez	☐	Persistência do sabor	☐
Brilho	☐			Teor de Humidade	☐	Prolongamento da sensação na boca	☐
Translucidez	☐			Creiosidade	☐	Enjoativo	☐
Ausência de grânulos de açúcar	☐			Elasticidade	☐	Sabor genuíno	☐
Presença de cristais	☐			Textura uniforme	☐		
Ausência de cristalização	☐			Arenosidade	☐	Aromático	☐
Ausência de bolhas / impurezas	☐			Pegajocidade	☐	Irritante na garganta	☐
Intensidade de cor	☐			Coesividade	☐	Natural	☐
				Aveludado	☐	Proveniência floral do mel	☐

[illegible]

Anexo V - Imagens dos grãos de pólen.



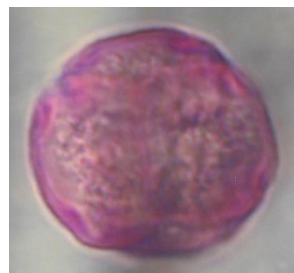
Erica sp.



Lavandula sp.



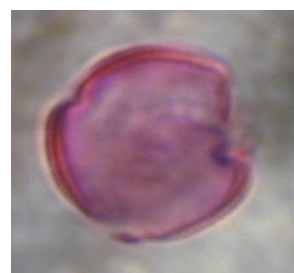
Castanea sp.



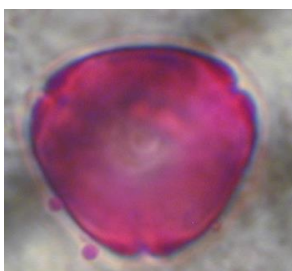
Citrus sp.



Eucaliptus sp.



Cytisus multiflorus



Tília



Flor de amendoeira

Anexo VI – Aspetos positivos atribuídos às amostras.

	Mel de Barros o	Lagar do Mel (mel de castanheiro)	Mel Serra da Lousã	Mel da Terra Quente	Mel do Parque de Montesinho	
Aparência						
Agradável	8	7	14	7	13	49
Cor agradável	-	-	3	6	9	18
Cor castanha/escura	10	6	8	-	8	32
Brilhante	1	-	5	2	3	11
Translúcida	-	-	5	2	4	11
Cor âmbar	1	1	4	1	2	9
Baça	2	1	-	2	1	6
Granulosa	4	1	-	1	-	6
Característica	2	1	-	1	1	5
Cor amarela/clara	-	1	-	7	1	9
Cor característica	1	1	1	1	1	5
Viscosa	1	1	1	1	1	5
Cor dourada	-	1	2	-	1	4
Pouco granulosa	-	-	1	1	2	4
Límpida	-	-	2	-	1	3
Sem bolhas	1	-	2	-	-	3
Cor uniforme	-	-	-	1	1	2
Consistente	-	1	-	-	-	1
Pouco tratada	-	-	-	1	-	1
Rústica	1	-	-	-	-	1
Odor						
Agradável	7	11	12	11	12	53
Intenso	6	5	5	5	5	26
Característico	4	2	4	2	3	15
Suave	1	1	3	-	2	7
Doce	1	2	1	1	1	6
A flores	1	-	1	2	-	4
A folhas de tabaco	1	-	-	-	1	2
A madeira	-	1	-	-	1	2
A urze	1	-	1	-	-	2
A caramelo	1	-	-	-	-	1
A fruta	-	-	1	-	-	1
A frutos secos	-	1	-	-	-	1
A laranja	-	-	-	1	-	1
Textura						
Agradável	4	2	10	3	10	29

Macia	2	-	9	1	12	24
Consistente	7	8	1	2	4	22
Densa	6	2	4	4	3	19
Fluida	1	2	2	1	6	12
Consistência adequada	1	-	2	4	3	10
Granulosa	5	4	-	1	-	10
Viscosidade adequada	-	-	3	2	3	8
Compacta	3	3	-	1	-	7
Cremosa	-	-	2	-	4	6
Viscosa	1	1	1	-	2	5
Homogénea	-	-	2	-	2	4
Dissolve-se na boca	-	-	1	-	2	3
Pouco granulosa	-	-	1	-	2	3
Característica	-	1	-	-	-	1
Pouco húmida	1	-	-	-	-	1
Pouco tratada	1	-	-	-	-	1
Sabor						
Agradável	15	15	18	15	24	87
Intenso	8	3	10	6	7	34
Doce	5	7	5	5	7	29
Característico	3	2	1	3	2	11
Prolongado	3	1	4	1	2	11
Doce equilibrado	1	1	4	1	2	9
A flores	-	1	1	2	2	6
Suave	-	2	-	1	3	6
Perfumado	1	-	-	2	1	4
A caramelo	2	1	-	-	-	3
A fruta cozida	1	-	-	-	1	2
A plantas	-	-	1	-	1	2
Equilibrado	-	-	1	-	1	2
A citrinos	-	-	-	1	-	1
A frutos secos	-	1	-	-	-	1
A maçã cozida	-	1	-	-	-	1
A menta	1	-	-	-	-	1
Amargo	1	-	-	-	-	1
Fresco	-	-	-	1	-	1
	128	103	159	113	180	

Anexo VII – Aspetos negativos atribuídos às amostras.

	Mel de Barroso	Lagar do Mel (mel de castanheiro)	Mel Serra da Lousã	Mel da Terra Quente	Mel do Parque de Montesinho	
Aparência						
Cor demasiado escura	8	6	1	-	1	16
Cor demasiado clara	-	-	-	9	-	9
Demasiado baça	3	2	-	4	-	9
Desagradável	1	3	-	-	-	4
Com bolhas	-	-	-	1	1	2
Demasiado granulosa	1	-	-	1	-	2
A caramelo líquido	-	-	1	-	-	1
Cor demasiado castanha	-	-	1	-	-	1
Cor desagradável	1	-	-	-	-	1
Cor pouco característica	-	-	-	1	-	1
Cor pouco uniforme	-	1	-	-	-	1
Demasiado consistente	-	1	-	-	-	1
Transparente	-	-	1	-	-	1
Odor						
Pouco intenso	-	3	-	1	1	5
A torrado	-	1	-	1	-	2
Demasiado intenso	1	1	-	-	-	2
Pouco característico	-	1	1	-	-	2
Desagradável	-	1	-	-	-	1
Pouco a flores	-	1	-	-	-	1
Pouco perfumado	1	-	-	-	-	1
Textura						
Demasiado granulosa	6	8	-	16	-	30
Demasiado consistente	5	7	-	2	-	14
Áspera	-	2	-	5	-	7
Pegajosa	1	2	2	1	1	7
Demasiado líquida	-	-	4	1	1	6
Desagradável	2	3	-	1	-	6
Demasiado viscosa	-	2	-	1	-	3
Pouco cremosa	1	1	-	1	-	3
Rugosa	-	2	-	1	-	3
Cola-se à boca	1	1	-	-	-	2

Demasiado coalhada	-	1	-	1	-	2
Demasiado cristalizada	1	-	-	1	-	2
Elástica	1	1	-	-	-	2
Pastosa	-	1	-	1	-	2
Demasiado densa	-	-	1	-	-	1
Pouco característica	-	-	-	1	-	1
Sabor						
Demasiado doce	6	8	3	8	1	26
Desagradável	2	3	2	2	1	10
Enjoativo	3	3	2	1	-	9
Pouco característico	2	1	1	3	-	7
Demasiado ácido	-	1	1	4	-	6
Travo amargo	-	-	2	1	2	5
Pouco doce	2	-	1	1	-	4
Pouco prolongado	-	-	1	1	1	3
Pouco intenso	1	1	-	-	-	2
A aguardente	-	-	1	-	-	1
A álcool	-	-	-	1	-	1
A queimado	1	-	-	-	-	1
Demasiado a flores	-	-	-	1	-	1
Pouco a flores	-	-	-	1	-	1