



**CAPTAR**  
ciência e ambiente para todos

volume 8 • número 1 • p 61-75

## Inventário da flora melífera e caracterização palinológica e físico-química do mel da Quinta Ecológica da Moita

A Quinta Ecológica da Moita (QEM), projeto de educação ambiental, dispõe de um apiário onde é produzido mel, entre outros produtos apícolas. Dado o interesse pedagógico, a valorização em termos comerciais e de informação para os consumidores, considerou-se vantajoso determinar a origem floral e as características físico-químicas do mel. A origem botânica foi estabelecida com a identificação e contagem de grãos de pólen e elementos de melada por microscopia ótica (MO). Adicionalmente, foram fotografados os 4 tipos polínicos dominantes pela técnica de microscopia eletrónica de varrimento (MEV). A avaliação da qualidade do mel obteve-se através dos parâmetros de humidade, cor, condutividade elétrica, acidez, pH, teor em hidroximetilfurfural (HMF), índice diastásico, prolina, perfil em açúcares, teor em fenóis totais, capacidade bloqueadora de radicais livres e poder redutor. Das 81 espécies de plantas inventariadas na QEM, 26 foram identificadas na amostra de mel analisada, sem que nenhuma delas ultrapassasse os 45% do total, o que determinou a sua classificação como mel multifloral. As espécies identificadas como mais abundantes foram *Castanea sativa*, *Raphanus raphanistrum*, *Rubus ulmifolius* e *Eucalyptus* spp. Os dados físico-químicos permitiram classificar o mel com boa qualidade por se encontrarem dentro dos padrões exigidos. Adicionalmente, a componente antioxidante mostrou-se relativamente forte devido aos resultados da capacidade bloqueadora de radicais livres e poder redutor, apresentados pelos respetivos testes, que atingiram um nível de  $(31,63 \pm 0,07)$  mg mL<sup>-1</sup> e  $(0,81 \pm 0,06)$  mg mL<sup>-1</sup> o equivalente a 80 % respetivamente.

### Palavras-chave

mel  
quinta ecológica  
Moita  
análises físico-químicas  
espectro polínico

Marcelino Caravela <sup>1\*</sup>

Miguel Vilas-Boas <sup>2</sup>

Paulo Russo- Almeida <sup>3</sup>

Paulo Silveira <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Botânica, Universidade Lúrio, Moçambique

<sup>2</sup> Centro de Investigação da Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>3</sup> Departamento de Zootecnia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

<sup>4</sup> Departamento de Biologia e CESAM, Universidade de Aveiro, Portugal

\* marcelino.caravela@unilurio.ac.mz

## INTRODUÇÃO

As atividades de produção e gestão da zona florestal para a educação ambiental da Quinta Ecológica da Moita (QEM), projeto resultante de protocolo entre a Associação Portuguesa de Educação Ambiental (ASPEA) e a Santa Casa da Misericórdia, envolveram a construção de um apiário que se dedica á produção de mel e outros produtos de natureza apícola (Cunha, 2014). Por ser um novo apiário, os gestores da quinta procuraram obter uma análise ao mel, permitindo-lhes apresentar um rótulo com informação fidedigna e conhecer as espécies vegetais que contribuíram para a sua elaboração. Esta informação é também relevante para o apicultor da quinta, porque permitirá gerir e conservar melhor a flora melífera local e escolher os melhores locais para posicionamento das suas colónias durante as variações dos picos fenológicos. Possibilita ainda a criação de corredores ecológicos através de replantios das plantas melíferas e assim evitar crises de produção ou mesmo potenciar o tipo de mel desejado entre multifloral ou monofloral de uma determinada espécie. Portanto, neste artigo iremos abordar as várias análises físico-químicas e palinológicas que foram efetuadas para caracterizar a qualidade e a origem botânica desse mel.

O mel é definido como uma substância naturalmente açucarada, produzida pela abelha *Apis mellifera* L. a partir de néctar das flores ou das secreções oriundas de partes vivas de plantas ou, ainda, de excreções de insetos sugadores de plantas, que as abelhas recolhem, convertem, juntam com substâncias próprias, depositam, desidratam, armazenam e deixam amadurecer nos favos da colmeia (Diretiva 110/CE, 2001). Contudo, a dinâmica do funcionamento do ecossistema determina variações na composição física, química e biológica deste produto visto que, condições climáticas e sazonalidade, tipo de flora, estágio de maturação, interferem na sua qualidade (Silva et al., 2004). O envelhecimento ou o tratamento térmico e adição de produtos artificiais alteram o valor nutritivo e propriedades organolépticas (Pérez, 2003), razões pela qual é importante a sua análise. No mel, os componentes químicos mais abundantes são os hidratos de carbono, tais como frutose, glucose, maltose e sacarose (Erejuwa et al., 2012a). Em menor concentração incluem-se outras substâncias também importantes como os ácidos orgânicos, proteínas, vitaminas, minerais, fenóis, flavonoides, enzimas, entre outras (White e Doner, 1980; Erejuwa et al., 2012b). Das propriedades físicas, as mais importantes e habitualmente analisadas no mel são a humidade, cor e a condutividade elétrica mas também, a densidade, índice de refração, viscosidade, cristalização, entre outras. Em conjunto, estes parâmetros permitem avaliar o estado de conservação, correta manipulação, frescura e pureza deste produto, visto existirem valores padronizados com os quais os resultados analíticos são posteriormente comparados (Pérez, 2003).

A análise do espectro polínico é outra componente importante, pois ajuda a avaliar a origem geográfica e botânica, patente nos rótulos das amostras (Louveaux et al., 1978; Ohe et al., 2004). Esta análise pode ser qualitativa, através da avaliação da percentagem dos diversos tipos de grãos de pólen presentes no mel, ou quantitativa, o que implica a contagem de vários elementos biológicos presentes no mel, tais como pólen, esporos e hifas de fungos (Louveaux et al., 1978; Ohe et al., 2004). A partir da avaliação dos elementos biológicos presentes no mel é possível classificar o mel como sendo de néctar ou de melada. No caso do mel de néctar permite ainda classificá-lo como sendo monofloral, se tiver origem essencialmente numa espécie ou género, ou, caso contrário, multifloral. A classificação do mel em monofloral depende da presença de, pelo menos, 45% do pólen da mesma espécie em relação ao universo total polínico de plantas nectaríferas

(Louveaux et al., 1978; Ohe et al., 2004). Contudo, o desequilíbrio entre a taxa de produção de pólen e a de néctar em certas espécies vegetais, provocam exceções como na família Lamiaceae e no género *Citrus* onde o pólen está sub-representado relativamente ao néctar de tal forma que 10-20% são suficientes para receber a classificação monofloral, crescendo para os 20 e 30% nos géneros *Tília*, *Medicago*, *Robinia* e na família Cucurbitaceae. Em contrapartida, em plantas com altas taxas de produção polínica, em que o pólen aparece hiper-representado em relação ao néctar, como acontece nos géneros *Lotus*, *Eucalyptus* e *Castanea*, as percentagens acordadas são bastante elevadas, oscilando entre 70% e 90% (Pérez, 2003). Esta técnica de trabalho, analisando o espetro polínico do mel, é conhecida por melissopalínologia, a qual é muito exigente porque requer um conhecimento anterior da morfologia polínica, de modo a obter resultados fidedignos (Downey et al., 2005). Em estudos anteriores realizados com amostras do norte do distrito de Aveiro predominaram méis multiflorais incluindo pólen dos géneros: *Rubus*, *Erica*, *Trifolium*, *Cistus*, *Echium*, *Pinus*, *Prunus*, *Citrus*, *Medicago*, *Genista*, *Lotus*, *Quercus*, *Acacia*, *Castanea*, *Chamaespartium*, *Malus*, *Tília*, *Brassica*, *Diplotaxis*, *Lavandula* e *Pyrus*, com domínio das famílias Fabaceae e Rosaceae. Santa Maria da Feira é nesta área uma exceção, identificando-se uma amostra de mel monofloral de *Eucalyptus* (Feás et al., 2010). Do ponto de vista físico-químico, estes autores encontraram valores que se situaram nos limites legais, designadamente valores de humidade entre 16% e 17%, condutividade elétrica entre 0,4 mScm<sup>-1</sup> e 0,6 mScm<sup>-1</sup>, e baixos valores de HMF, oscilando entre 5 mg kg<sup>-1</sup> a 9 mg kg<sup>-1</sup>. Relativamente aos açúcares, foram apenas quantificados os açúcares redutores, com valores entre 68% e 80 %, e sacarose aparente, com valores entre 2,6% e 4,5%. Porém, parâmetros como a prolina, cor, identificação dos açúcares mais abundantes e atividade antioxidante, incluídos no presente estudo do mel da QEM, não foram determinados. Para além da componente físico-química e botânica do mel proveniente da QEM, este trabalho permitiu efetuar a inventariação da flora envolvente potencialmente melífera, e a elaboração de uma coleção de amostras de pólen para comparação.



## MATERIAIS E MÉTODOS

### Caracterização da área de estudo

Localizada no distrito de Aveiro, na freguesia de Oliveirinha, a 6 km do centro da cidade de Aveiro, nas latitudes 40° 61' 53" N e longitude 8° 60' 62" W a QEM (Figura 1), integrada na Santa Casa da Misericórdia de Aveiro, possui uma mata agroflorestal de 17 ha, intercruzada por rede de charcos, lago, fontenário e tanque, que abastecem de água a vida lá existente.

A Quinta Ecológica da Moita detém uma diversidade elevada de seres vivos, pois a floresta é mista, constituída por espécies de carvalho-roble (*Quercus robur* L.), salgueiros (*Salix atrocinerea* Brot., *S. babylonica* L.), sobreiros (*Quercus suber* L.), loureiros (*Laurus nobilis* L.), medronheiros (*Arbutus unedo* L), choupos (*Populus spp.*), azevinhos (*Ilex aquifolium* L.), e uma zona específica de bambuzal (*Phyllostachys* sp.). Além de espécies florestais, está presente na QEM uma elevada diversidade de vegetação ribeirinha, ruderal, arvense e cultivada, que ascende a mais de 81 espécies potencialmente melíferas, pertencentes a 39 famílias diferentes, das quais, as mais representativas são as Asteraceae, as Rosaceae, as Fabaceae e as Ericaceae (Anexo I). Finalmente, na quinta desenvolve-se a agricultura e a apicultura, ambas com objetivo pedagógico e ecológico, estando o apiário constituído por 16 colmeias, 12 do tipo lusitana 3 top bar e 1 (uma) Warré.



**FIGURA 1:** Localização da Quinta Ecológica da Moita, freguesia de Oliveirinha, Aveiro (Adaptado de Google Earth 2017).

O estudo analítico foi realizado entre junho a setembro de 2015 utilizando-se o mel recolhido na cresta de julho de 2014. Após a recolha, a amostra foi armazenada num recipiente de vidro à temperatura ambiente.

#### **Elaboração da coleção palinológica de referência**

Numa primeira fase deste trabalho, foram percorridas diversas áreas e trilhos da QEM para o estudo exploratório da potencial e diversidade de plantas melíferas na área. A presença de abelhas nas flores, a cor das pétalas e referências da literatura, foram critérios usados para a seleção das espécies registadas e das quais foram recolhidas amostras de flores ou mesmo, no caso das espécies cuja identificação não pôde ser feita com rigor no campo, de espécimes para identificação em laboratório. Neste último caso, foram recolhidas amostras com folhas, flores e frutos, para secagem em prensa, de acordo com a metodologia habitualmente empregue para elaboração de um herbário (Neves e Rodrigues, 1957). Posteriormente fez-se a identificação das espécies em dúvida com recurso à *Flora iberica* (Castroviejo, 1986 - 2017) e à *European Garden Flora* (Cullen et al., 2011). As amostras de flores foram usadas para elaborar preparações de pólen para comparação com os grãos de pólen presentes no mel, aplicando o método da acetólise (Erdtman, 1960).

#### **Estudo melissopalínológico**

Na componente melissopalínológica foi aplicado o processo de acetólise para preparar os grãos de pólen tanto das flores recolhidas em campo e herbário como o pólen das amostras de mel, a fim de remover o conteúdo intrapolínico, deixando limpa a exina, bem como outras partículas microscópicas normalmente não características do mel. Para tal, dissolveu-se 10 g de mel em 20 mL de água destilada e, com um agitador magnético, homogeneizou-se o mel a 40°C. Depois, a solução foi colocada num tubo de Falcon e levada à centrifugação numa centrífuga *Omnifuge 2.0 RS*. (*Heraeus Sepatech, Osterade, Alemanha*) durante 10 min a 3600 rpm. Seguidamente, retirou-se o líquido sobrenadante com uma pipeta de Pasteur, sobrando não mais que 1 mL, e o material, depois de dispersado, foi transferido para tubos *Eppendorf* de 1,5 mL, e centrifugado

(Eppendorf 5415R, Hamburg, Alemanha) a 3600 rpm durante 6 minutos, decantando-se e rejeitando o sobrenadante. Em seguida, foi adicionado ao sedimento 1 mL de água destilada e, após agitação num agitador tipo Vórtex, repetida a centrifugação e decantação. Repetiram-se os passos anteriores adicionando 1 mL de ácido acético glacial ao sedimento e, após esta última centrifugação, foi adicionado ao sedimento 1 mL de solução de acetólise (1 parte de ácido sulfúrico e 9 partes de anidrido acético), levando-se ao banho-maria a 100°C, durante cerca de 4 min. Após a reação foi realizada uma nova centrifugação adicionando-se ao sedimento 1 mL de água destilada, e outra, adicionando 1 mL de uma solução de glicerol a 50%. Posteriormente, os tubos foram secos numa estufa a 40° C durante 2 horas, após o que se adicionou, com uma pipeta Pasteur, algumas gotas de gelatina glicerizada de acordo com o volume de sedimento polínico obtido, agitando-se vigorosamente. Deste preparado foi pipetada uma gota para uma lâmina, coberta por uma lamela de 22 x 22 mm e feita a selagem com verniz incolor. Por fim, contou-se pelo menos 1200 grãos de pólen ao microscópico ótico em ampliação de 40x, ao longo de 6 linhas paralelas, as quais permitiram um varrimento de toda a lâmina (Louveaux et al., 1978), calculando-se as frequências relativas.

Para a análise quantitativa, pesou-se 10 g de mel, adicionou-se 20 mL de água destilada a 40°C, homogeneizou-se, e à mistura resultante adicionaram-se 2 gotas de 0,1% de fucsina básica em etanol, procedendo-se à filtração sob vácuo com um filtro de referência A300A025A, (Advantec, Japão). Após a filtração, o filtro foi removido e seco a 40° C numa placa de aquecimento. Finalmente montou-se o filtro na lâmina e com objetiva de 40x contou-se 500 elementos (PG e HDE) em 100 campos, em 10 linhas paralelas equidistantes, determinando-se os resultados de acordo com a seguinte fórmula: número absoluto de grãos de pólen:  $PG/10\text{ g} = (S \times nPG \times 10)/(s \times a \times P)$ ; número absoluto de elementos de melada:  $HDE/10\text{ g} = (S \times nHDE \times 10)/(s \times a \times P)$ ; número total de elementos:  $Nte=PG/10g+HDE/10g$ . Onde: S – área da superfície da parte do filtro contendo sedimento (mm<sup>2</sup>), s – área de um campo microscópico com a ampliação utilizada (mm<sup>2</sup>), nPG – número total de grãos de pólen (PG) contados, nHDE – número total de elementos de melada (HDE) contados, a – o número de campos contados; p - peso do mel, Nte – número total de elementos de melada (Ohe et al., 2004).

## Parâmetros físicos

### Humidade

A humidade da amostra foi determinada com o auxílio a um refratómetro de referência DIGIT – 5890 (PCE instruments, Bacanja, Espanha), através da adição de uma alíquota de mel sobre o prisma, seguida de observação e registo do resultado em percentagem.

### Cor

A colorimetria foi efetuada mediante um aquecimento prévio do mel a 45°C, para garantir a inexistência de cristais de açúcar, seguida da medição num colorímetro C221 (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA). A escala usada para a classificação dos méis foi a de Pfund. (International honey commission, 2009).

### Condutividade elétrica

Para a leitura da condutividade, preparou-se uma solução com 20 g de mel anidro em 100 mL de água destilada, medindo-se a condutividade elétrica num medidor Consort C868 (Turnhout, Belgium) calibrado

previamente. Os resultados foram expressos em  $\text{mScm}^{-1}$  (Bogdanov, Martin, e Lullmann, 2002; International honey commission, 2009).

## Parâmetros químicos

### Acidez

Na análise das propriedades ácidas, avaliou-se o pH da solução inicial, a acidez livre por titulação no ponto de equivalência,  $\text{pH} = 7$ , e a  $\text{pH}$  estável de 8,3, bem como a acidez lactónica, de acordo com as metodologias definidas pela comissão internacional do mel (Bogdanov *et al*, 2002; International honey commission, 2009). Inicialmente efetuou-se a preparação de uma solução por dissolução de 10 g de mel em 100 mL de água desionizada, registando-se o  $\text{pH}$  inicial desta solução. De seguida pipetou-se 25 mL da solução obtida para um copo adicionando-se água desionizada até 150 mL, e procedeu-se à titulação da solução com hidróxido de sódio  $0,1 \text{ moldm}^{-3}$ , registando-se o volume da base gasta para atingir o ponto de equivalência ( $\text{pH} = 7$ ) bem como o ponto fixo ( $\text{pH} = 8,3$ ). A partir destes valores foi possível determinar a acidez livre. Para a determinação da acidez lactónica e após atingir o  $\text{pH} 8,3$ , completou-se a adição de NaOH até perfazer 10 mL. De seguida efetuou-se uma retrotitulação com ácido sulfúrico  $0,05 \text{ moldm}^{-3}$ , anotando-se o volume de ácido gasto até atingir o ponto de equivalência. A titulação para a medição destes parâmetros foi efetuada com um microprocessador Hanna instruments, pH 211 (*Rhode Island, USA*).

### Hidroximetilfurfural (HMF)

O teor em HMF foi analisado espectrofotometricamente, seguindo-se a metodologia descrita por Bogdanov *et al.* (2002). Primeiramente, dissolveram-se 5 g de mel em 25 mL de água desionizada e, de seguida, transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 50 mL. Neste, foram adicionados, primeiro, 0,5 mL de solução Carrez I e, depois, mais 0,5 mL de solução de Carrez II, completando-se o volume com água desionizada. Depois, filtrou-se a solução para um copo, desprezando os primeiros 10 mL da solução filtrada e recolhendo-se duas frações de 5 mL para dois tubos de ensaio, uma a amostra e outra como branco. À amostra, foram adicionados 5 mL de água desionizada e, no branco, 5 mL de solução de bissulfato de sódio 0,2%. De seguida, ambas as soluções foram levadas ao espectrofotómetro Specord 200 (Analytikjena, Jena, Alemanha), lendo-se a absorvância a 284 e 336 nm. O valor de HMF foi calculado usando a seguinte equação:  $\text{HMF} = (\text{Abs } 284 - \text{Abs } 336) \times 149,7 \times (5/\text{massa da amostra})$ . Os resultados foram expressos em  $\text{mg Kg}^{-1}$ .

### Índice diastásico

O método usado para determinar o índice diastático foi o de Phadebas, seguindo-se o procedimento metodológico indicado por Bogdanov *et al.* (2002) e IHC (2009). Fez-se a diluição de 1 g de mel num balão volumétrico de 100 mL, transferindo-se 5 mL da solução para um tubo de ensaio e colocando-se num banho-maria a  $40^\circ \text{C}$ . Simultaneamente, noutro tubo de ensaio (branco), colocou-se 5 mL de uma solução tampão de acetato  $0,1 \text{ moldm}^{-3}$  ( $\text{pH } 5,2$ ). Depois de retirados do banho, aos dois tubos de ensaio foram adicionados pastilhas *Phadebas* e agitados num vórtex, colocando-se novamente os tubos a  $40^\circ \text{C}$ , durante 15 minutos, para induzir a reação. Após este período, centrifugou-se durante 5 minutos a 3700 rpm. Finalmente, pipetou-se a solução sobrenadante e leu-se a respetiva absorvância a 620 nm no espectrofotómetro. Os resultados, apresentados como índice diastático - (DN), foram expressos em unidades *Schade*, correspondendo uma

unidade de diástase à atividade enzimática de 1 g de mel capaz de hidrolisar, numa hora, 0,01 g de amido a 40° C.

#### *Prolina*

Para a avaliação da prolina seguiu-se o procedimento de Bogdanov et al. (2002), com algumas modificações. Dilui-se, num balão volumétrico, 5 g de mel em 100 mL de água desionizada. Depois, retirou-se para um tubo de ensaio 0,5 mL da solução (amostra), colocando-se num segundo tubo 0,5 mL de água desionizada (branco) e num terceiro tubo de ensaio, 0,5 mL de solução padrão de prolina a 0,032 mg mL<sup>-1</sup>. A todos os tubos foi adicionado 0,5 mL de água. O ensaio com a solução padrão foi realizado em triplicado. De seguida, em cada um dos tubos de ensaio adicionou-se 1 mL de ácido fórmico a 98% e 1 mL de solução de ninhidrina a 3%, agitando-se por 15 minutos. Depois, os tubos foram levados ao banho-maria a 100° C, durante 15 minutos e seguidamente a outro banho durante 10 minutos a 70° C. No final, foi adicionado aos tubos, 5 mL de 2-propanol a 50%, ficando em repouso durante 45 minutos. Por fim, leu-se a absorvância a 510 nm, calculando-se a absorvância do padrão através da média dos três ensaios. Os resultados da prolina, foram obtidos mediante a equação: Prolina = (Abs amostra/Abs padrão) x (massa padrão/massa amostra) x 80.

#### *Perfil em açúcares*

A cromatografia líquida foi usada para determinar o perfil em açúcares, acoplada a um detetor de índice de refração (HPLC-RI), utilizando-se uma reta de calibração com padrões externos. O sistema de cromatografia foi composto por uma bomba, sistema Smartline 1000, um desgaseificador, sistema Smartline 5000, um detetor de RI Smartline 2300, (Knauer, Berlim, Alemanha) e um amostrador automático AS-2057 (Jasco international corporation Co., Ltd, Hachioji, Tokyo, Japão). Para o ensaio, diluiu-se 2,5 g de mel em 20 mL de água e adicionou-se à solução 11,6 mL de metanol, perfazendo com água o volume total num balão volumétrico de 50 mL. Em seguida, filtrou-se a solução através de um filtro de nylon de 0,2 µm injetando as amostras no sistema cromatográfico. Para a separação cromatográfica, foi utilizada uma coluna 100-5 NH<sub>2</sub> Eurospher (4,6x250 mm, 5mm) (Knauer, Berlim, Alemanha) mantida a 30°C num forno Grace 7971 R (Macclesfield, UK). A fase móvel utilizada foi uma mistura de acetonitrilo/água na proporção de 80:20 (v/v), com um caudal de 1,3 mL min<sup>-1</sup>. Os açúcares foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os padrões comerciais, nomeadamente: frutose, glucose, sacarose, turanose, maltulose, maltose, trealose. Para cada padrão, respetivamente, foi estabelecida uma curva de calibração pelo método de padrão externo: (y = 46,379x + 5,5802, R<sup>2</sup> = 0,99); (y = 45,856x - 54,145, R<sup>2</sup> = 0,99); (y = 68,455x - 22,46, R<sup>2</sup> = 0,99); (y = 58,107x - 4,6676, R<sup>2</sup> = 0,99); (y = 31,145x + 1,8492, R<sup>2</sup> = 1,00); (y = 20,89x + 9,1014, R<sup>2</sup> = 0,99); (y = 116,87 + 1,5391, R<sup>2</sup> = 0,99). Para tal, foi utilizado um conjunto de intervalos de concentrações (3,8 - 60,0; 2,8 - 45,0; 0,9 - 12,6; 0,6 - 7,7; 0,2 - 2,2; 0,6 - 7,7; 0,3 - 4,4) mg mL<sup>-1</sup>, em conformidade com os níveis esperados para cada açúcar. Os dados foram analisados com o software Clarity 2.4 (Data Apex, Praga, República Checa). Os valores para as amostras foram calculados a partir da área dos picos e foram apresentados em g/100 g de mel. (International honey commission, 2009).

#### *Teor em fenóis totais*

Para a determinação do conteúdo em fenóis totais seguiu-se o método de Folin-Ciocalteu (Estevinho et al., 2012), com algumas modificações. Primeiramente, pesou-se 1 g de mel e dissolveu-se em 10 mL de metanol. Seguidamente, foi adicionada a uma fração de 0,5 mL dessa solução, 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e, passados 3 minutos, adicionou-se 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio a 10% w/v, ajustando

o volume final para 5 mL com água destilada. Levou-se a solução final ao escuro, durante 1 hora, à temperatura ambiente. Posteriormente, leu-se a absorvância a 760 nm. A solução do branco preparou-se mediante o mesmo procedimento, utilizando 0,5 mL de metanol em substituição da solução da amostra. Como padrão, foi utilizado o ácido gálico (GA), numa gama de concentrações entre 0,005 – 0,15 mgmL<sup>-1</sup> e obteve-se a seguinte reta de calibração:  $y = 9,2388x - 0,1299$ ;  $R^2 = 0,998$ . O conteúdo fenólico final foi expresso em mgGAE g<sup>-1</sup> de mel, onde GAE significa unidades equivalentes em ácido gálico.

#### *Atividade antioxidante (efeito bloqueador de radicais livres e poder redutor)*

A atividade antioxidante foi avaliada usando duas metodologias, nomeadamente: o efeito que a amostra de mel tem em bloquear os radicais livres de DPPH e pela capacidade de reduzir o ião ferro (III), denominado de poder redutor. Para o primeiro método seguiu-se o procedimento descrito na literatura (Ferreira *et al*, 2009). Numa placa de 96 poços misturou-se 10 µL de uma solução metanólica da amostra a diferentes concentrações (0,003 a 0,03 mg mL<sup>-1</sup>) com 0,15 mL de outra solução metanólica de DPPH (0,060 mmol dm<sup>-3</sup>), repousando no escuro à temperatura ambiente durante 1 hora. De seguida, foi avaliado o decréscimo da concentração do radical de DPPH através da monitorização da redução da absorvância a 515 nm, num leitor de microplacas ELX800 Microplate Reader (Bio-Tek Instruments, Inc, Winooski, Vermont, USA). O cálculo do efeito bloqueador de radicais de DPPH determinou-se pela percentagem da redução do DPPH, aplicando a seguinte equação: % Efeito bloqueador =  $[(A_{DPPH}-A_A)/A_{DPPH}] \times 100$ ; onde: A<sub>A</sub> representa a absorvância da solução para a amostra e A<sub>DPPH</sub> representa a absorvância inicial da solução de DPPH. Os resultados deste ensaio foram expressos através dos valores de EC<sub>50</sub>, equivalendo à concentração da alíquota que bloqueia 50% dos radicais de DPPH encontradas na solução inicial (Falcão *et al.*, 2010). Utilizou-se a solução padrão de ácido gálico para a comparação, com um valor médio de EC<sub>50</sub> de 1,22 mg mL<sup>-1</sup>.

Para a avaliação do poder redutor utilizou-se 15 µL de uma solução de mel com concentração de 0,005 g mL<sup>-1</sup> adicionando-se 1,25 mL de uma solução tampão de fosfato de sódio com pH 6,6 e, depois, 1,25 mL da solução de ferrocianato de potássio 0,2 mol dm<sup>-1</sup>. De seguida, a mistura foi agitada e incubada a 50° C, durante 20 min. Depois, adicionou-se 1,25 mL de ácido tricloroacético (a 10%) centrifugando-se durante 8 minutos a 1000 rpm, numa centrífuga refrigerada K24OR-2003 (Centurion Scientific, Arundel, UK). No final adicionou-se aos 1,25 mL do sobrenadante, 1,25 mL de água destilada e 0,25 mL de cloreto férrico a 0,1%, medindo a absorvância a 700 nm. Como padrão utilizou-se uma solução de ácido gálico num intervalo de concentrações de 0,001 a 0,01 mg mL<sup>-1</sup> ( $y = 34,364x - 0,0013$ ;  $R^2 = 0,996$ ). Os resultados foram expressos em mgGAE g<sup>-1</sup> de mel.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do inventário botânico, foram identificadas 81 espécies pertencentes a 41 famílias (Anexo I). Destas, cerca de 26 espécies, pertencentes a 16 famílias, foram identificados na amostra de mel através da presença do pólen. Da análise quantitativa, constatou-se uma razão entre os elementos de melada e grãos de pólen inferior a 3 (HDE / p < 3), pelo que, segundo Louveaux *et al.* (1978) e Ohe *et al.* (2004), trata-se de mel de néctar (Tabela I). Adicionalmente, de acordo com o número total de elementos (PG e HDE) quantificados,



encontrou-se um *N* correspondente à classe II, onde, segundo (Ohe et al., 2004), são incluídos a maioria dos méis multiflorais.

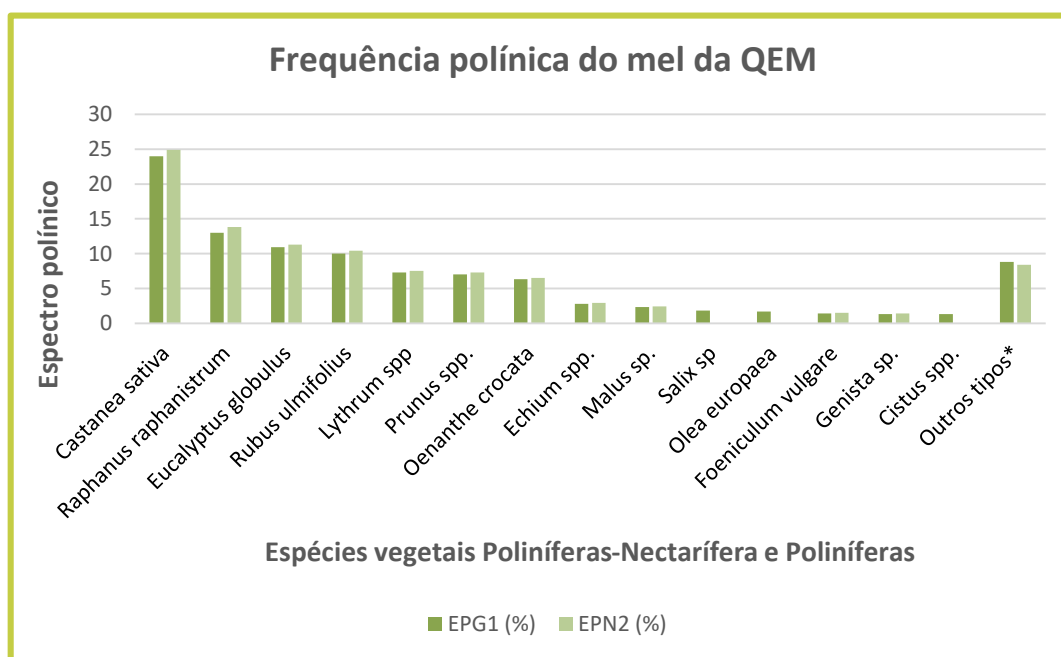
**TABELA I:** Resultado da análise quantitativa de mel da Quinta Ecológica da Moita.

Peso (g)	S (mm <sup>2</sup> )	npg	nHDE	S (mm <sup>2</sup> )	a	PG/10g	HDE	n <sub>te</sub>	N	HDE/P*
2,2	379,9	253	589	0,2	99	23718,0	315,7	24x10 <sup>3</sup>	II	2,3

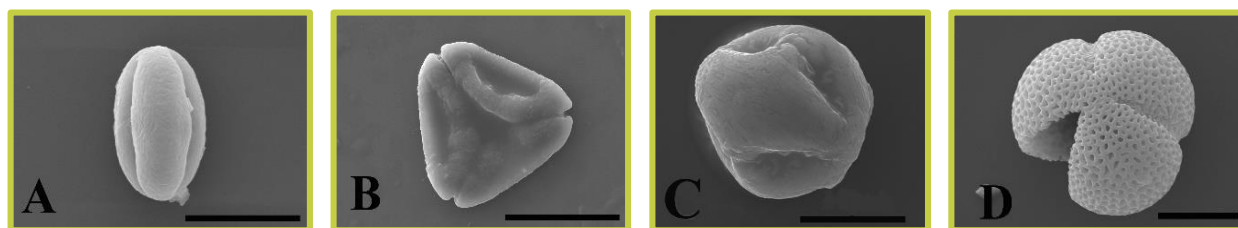
P\* - Frequência absoluta de grãos de pólen de plantas nectaríferas.

Ademais, é possível pela análise qualitativa, verificar uma alta representatividade de pólen de plantas nectaríferas com maior destaque para as espécies, *Castanea sativa* (25%), *Raphanus raphanistrum* (14%), *Eucalyptus* spp. (11%) e *Rubus ulmifolius* (10%) (Figura 2), das quais se apresentam as imagens das mesmas obtidas em SEM na figura 3. As restantes espécies e as suas frequências estão discriminadas na tabela do anexo II.

Segundo (Louveaux et al., 1970) a expressão dos resultados pode ser feita com base na sua classe de frequência, estando neste mel presentes as classes de pólen secundário (16 - 45%), pólen minoritário importante (3-15%) e pólen minoritário (menor que 3%). Na primeira classe apenas temos a *Castanea sativa*, enquanto da segunda, temos presentes as espécies *Raphanus raphanistrum*, *Eucalyptus globulus*, *Rubus ulmifolius*, *Lythrum* spp., *Prunus* spp., e *Oenante crocata* e na terceira classe são incluídas as espécies *Echium* spp, *Genista* spp., *Foeniculum vulgare*, *Malus* sp. e o cumulativo de todas as espécies indicadas na tabela II como outros tipos\*. Portanto, este mel é classificado com multifloral devido a ausência de dominância de uma espécie acima de 45% onde, fundamentalmente, a espécies de pólen secundário e pólen minoritário importante caracterizam a multifloralidade.



**FIGURA 2:** Análise qualitativa de mel da Q.E.M. \* Representa os tipos polínicos cumulativos com percentagem relativa inferior a 1%, EPG1 - Espectro Polínico Global, EPG2 - Espectro de Plantas Nectaríferas.



**FIGURA 3:** A - *Castanea sativa*; B - *Eucalyptus globulus*, C - *Rubus ulmifolius*. e D - *Raphanus raphanistrum*: Vista equatorial (A), Vista Polar (B, C e D). Escala de barra – 10  $\mu\text{m}$  (A, C e D) e 20  $\mu\text{m}$  (B).

O teor de água no mel é uma característica verdadeiramente importante porque influencia a sua maturidade, conservação, sabor, peso específico, cristalização, viscosidade e cor (Pérez, 2003; Escuredo et al., 2013). O Valor máximo admitido pela união europeia é de 20% em geral (Diretiva 110/CE, 2001), pelo que o valor obtido para o mel em estudo, 18,9%, encontra-se dentro dos limites de segurança regulamentados.

A cor do mel representa uma das características organoléticas mais importantes para os consumidores, definindo frequentemente a sua preferência. Normalmente, encontra-se entre as tonalidades de cor âmbar, no entanto, pode variar desde amarelo pálido, branco quase transparente até escuro, próximo a negro, passando por uma gama de variações de cores violetas e castanho (Pérez, 2003).

De acordo com a escala Pfund, a informação cromática do mel analisado foi de 72,7 mm Pfund (Tabela II), estando no intervalo de 50 a  $\leq$  85 mm Pfund, classificado como mel âmbar claro.

**TABELA II:** Parâmetros físico-químicos: humidade, cor e a condutividade elétrica do mel da quinta ecológica da Moita.

Humidade (%)	Cor (mm Pfund)	Condutividade ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )
18,9	72,7 $\pm$ 0,6	Âmbar claro
		722 $\pm$ 0.3

A diferença de cor resulta da sua origem botânica, apresentando os méis escuros valor nutritivo maior (Avallone et al., 1999). Este parâmetro está habitualmente associado à condutividade elétrica, de tal forma que quanto mais claro for o mel, menor será o valor da condutividade (Lopes, 2014). Neste estudo, o valor alto de condutividade, 722  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , reflete também essa associação com a cor (Tabela II).

O valor da condutividade elétrica em amostras de mel varia com o conteúdo mineral, proteínas, ácidos orgânicos, pH, conteúdo em cinzas, açúcares e outros iões lá existentes (Gomes et al., 2011; Silva et al., 2009). Este parâmetro correlaciona-se com origem botânica do mel, permitindo em muitas situações discriminar o mel de néctar do de melada, bem como caracterizar os méis monoflorais (Silvano et al., 2014). Valores de condutividade elétrica de méis superiores a 800  $\mu\text{S cm}^{-1}$  enquadram-se na classe de meladas e os méis com valores inferiores a 800  $\mu\text{S cm}^{-1}$  são classificados como méis de néctar ou mistura de néctar com melada (Diretiva 110/CE, 2001). O resultado encontrado para esta amostra foi de 722  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , podendo-se assim concluir que este é um mel de néctar, o que concorda com a informação obtida na análise polínica.

As características de pH, acidez livre e acidez lactónica nos diferentes méis é resultado da sua origem floral e de variações causadas pela época da cresta (Estevinho et al., 2012). Daí que o seu valor informa sobre a origem floral, mas também sobre indícios de fermentação (Silvano et al., 2014). Níveis elevados de ácidos

livres são típicos da incidência de fermentação de hidratos de carbono presentes em amostras submetidas à presença de leveduras (Lopes, 2014). Neste estudo, o valor de pH encontrado, 4 (tabela III), revela o carácter ácido, comum nas amostras de méis. Ademais, a acidez livre no ponto de equivalência foi de 23,1 meq kg<sup>-1</sup> e a pH fixo de 8,3 constatou-se uma subida para 30,2 meq kg<sup>-1</sup> (tabela III).

Os critérios de classificação dos méis admitem um máximo de 50 meq kg<sup>-1</sup> para o teor de acidez livre no geral (Diretiva 110/CE, 2001). Portanto, olhando para os resultados obtidos para a acidez livre, este mel encontra-se dentro do padrão regulamentado, mesmo quando se olha para os resultados a pH = 8,3. Em relação à acidez lactónica, sabe-se que está em equilíbrio com o ácido glucónico (White e Doner, 1980; Silva et al., 2009), comportando-se como uma reserva ácida, porque liberta ácidos quando o mel sofre uma alcalinização (Pérez, 2003). O valor de 15,8 meq kg<sup>-1</sup> encontrado neste estudo (v. tabela III) é já um valor significativo.

**TABELA III:** valores de pH e acidez, incluindo informação sobre a média e o desvio padrão.

pH	Acidez livre a pH=7 (meqkg <sup>-1</sup> )	Acidez livre a pH=8,3 (meqkg <sup>-1</sup> )	Acidez Lactónica (meqkg <sup>-1</sup> )	Acidez Total (meqkg <sup>-1</sup> )
3,978	23,1 ± 0,6	30,2 ± 0,6	15,8 ± 0,7	38,6 ± 0,8

O néctar não apresenta HMF, por esta razão, quando aparece no mel é um indicador de diminuição da qualidade e frescura. O aumento deste fenol cíclico no mel pode resultar da elevação da temperatura e humidade bem como da adição de açúcares invertidos ou mesmo devido a um armazenamento inadequado (Downey et al., 2005; Silva et al., 2009). A simples existência de açúcares no mel, tais como a glucose e frutose em degradação e em contato com acidez, promove a sua formação (Khalil et al., 2010). O limite máximo em vigor na união europeia é de 40 mg kg<sup>-1</sup>, com exceção dos méis provenientes da região tropical e para o uso industrial (Diretiva 110/CE, 2001), os quais podem apresentar valores mais elevados. Para a amostra foi encontrado um valor de 4,6 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela IV), significativamente baixo, o que reflete um excelente nível de conservação e frescura. Este resultado é ainda corroborado quando se compara com o valor do índice diastásico, como se pode ver ainda na tabela IV.

A diástase é uma enzima encontrada no mel, sensível ao calor (Silva et al., 2009). Ao contrário do HMF, esta enzima provem do néctar e das glândulas hipofaríngeas das abelhas, sendo o seu conteúdo usado como um parâmetro indicativo de genuinidade e frescura do mel, uma vez que diminui com o tempo e temperatura (Tosi et al., 2008). O valor encontrado neste mel foi de 14,7 unidades na escala de Schade (tabela IV), refletindo um bom estado de conservação, frescura e uma concordância com o valor de HMF.

Devido à sua abundância, a prolina reflete o nível de aminoácidos totais no mel e é utilizada como um critério de maturação e da avaliação de presença de adulterações com açúcares, visto que, na adição artificial destes, diminui o teor em prolina. Em função da origem botânica, os valores podem variar entre 0,25 mg g<sup>-1</sup> para méis claros como os de acácia e 0,60 mg g<sup>-1</sup> para os de castanheiro ou méis de meladas. Geralmente é reconhecido que um mel deverá exibir teores em prolina acima de 0,18 mg g<sup>-1</sup> (Bogdanov et al., 2002). Neste mel verifica-se um valor bem acima dos valores máximos anteriormente referenciados, pois foi encontrado um valor médio de 1,02 mg g<sup>-1</sup> (tabela IV).

O perfil de açúcares é também um parâmetro explorado para distinguir o mel de melada e de néctar (Sanz et al., 2005). Para os méis de néctar o teor de glucose e frutose em conjunto não deve ser inferior a 60%, enquanto para os méis de melada, podem-se obter valores menores, num mínimo de 45% (Diretiva 110/CE, 2001; Sanz et al., 2005). Para este estudo, o valor obtido para o conjunto destes dois açúcares foi de 62,8% (tabela V), em linha os parâmetros referidos anteriormente.

**TABELA IV:** Valores de HMF, Índice diastásico e Prolina, do mel da Q.E.M.

HMF (mgkg <sup>-1</sup> )	Índice diastásico (DN)	Prolina (mgg <sup>-1</sup> )
4,6 ± 0,2	14,8 ± 0,7	1,02 ± 0,02

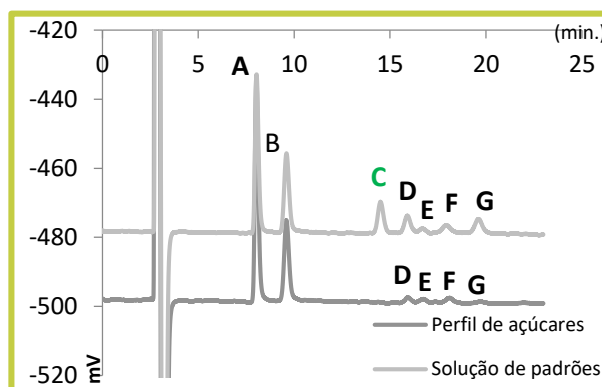
**TABELA V:** Resultados expressos em g/100 g de mel sobre o perfil em açúcares de mel da Q.E.M, determinados por HPLC.

Frutose	Glucose	Sacarose	Turanose	Maltulose	Maltose	Trealose	Fru+Glu	Fru/Glu	Glu/Hum
38,4±0,5	24,4±0,3	---	1,6 ± 0,1	2,3 ± 0,2	2,5±0,2	0,4 ± 0,1	62,8±0,8	1,6±0,0	1,3±0,0

O teor de sacarose presente no mel é utilizada como indicador de adulteração no mel, visto que, valores acima dos 5% podem ser consequência de uma cresta precoce ou da aplicação de suplemento de xaropes de sacarose na alimentação das abelhas (Tornuk et al., 2013). Neste estudo constatou-se a ausência de sacarose (figura 4), o que indica a inexistência deste tipo de adulterações.

Em relação a dissacarídeos, o mel da Q.E.M apresentou baixos valores da turanose, maltulose, maltose e trealose (Tabela V). Estes valores, por serem baixos, podem sugerir ausência de adulterações e aproximam-se dos verificados em outros estudos (Lopes, 2014).

A razão entre o teor de glucose e a humidade, GW, é bom indicador da previsão de cristalização (Lopes, 2014), observando-se que quando o valor é inferior a 1,7 % a tendência para cristalizar é lenta (Escuredo et al., 2013). A amostra em estudo teve um valor de 1,3 % (tabela V) o que sugere uma cristalização lenta como se verificou na prática para esta amostra, uma vez que ao longo dos dois anos de observação, desde a sua produção, a amostra apenas cristalizou parcialmente.



**FIGURA 4:** Perfil de açúcares por cromatografia líquida, HPLC, ilustrando os 7 padrões de açúcar e os respetivos açúcares encontrados do mel da Q.E.M. A- Frutose, B- Glucose, C – Sacarose, D – Turanose, E – Maltulose, F- Maltose e G- Trealose.

**TABELA VI:** Indicadores da atividade antioxidante do mel: quantidade de fenóis totais, DPPH e poder redutor.

Fenóis totais (mgGAEg <sup>-1</sup> )	Poder redutor (mgGAEg <sup>-1</sup> )	DPPH – EC50 (mgmL <sup>-1</sup> )
1,4 ± 0,1	0,81 ± 0,06	31,63 ± 0,07

No mel são reconhecidas diversas atividades biológicas e/ou farmacológicas, designadamente atividade anti-inflamatória, antibacteriana e antioxidante (Erejwa et al., 2014). Ademais, este alimento é tido como uma fonte alternativa saudável, devido ao seu poder antioxidante alimentar (Gheldof e Engeset, 2002), podendo também atuar contra a putrefação de alimentos (Gomes, 2009). Dos composto considerados antioxidantes, os flavonoides e ácidos fenólicos, presentes no mel, apresentam alta capacidade na retenção de radicais livres (Ferreira et al., 2009). A interpretação dos resultados deste parâmetro foi feita com base na avaliação quantitativa do teor de fenóis totais, como descrito na metodologia. O resultado obtido para amostra foi de 1,4 mgGAEg<sup>-1</sup>, valor que, comparado com os de Barbosa (2012), em relação a méis monoflorais de urze, é ligeiramente superior. No entanto, a origem botânica e geográfica pode explicar esta diferença, atendendo tratar-se de méis diferentes e o néctar das espécies é responsável pela maior parte da composição físico-química.

A redução do complexo férrico verificado entre a tripiriltriazina e o ião Fe<sup>3+</sup>, indicado pelo surgimento de cor azul, permite inferir sobre a presença de agentes antioxidantes (Lim e Lim, 2013; Gomathi et al., 2014). Neste estudo, a partir deste fenómeno, analisou-se o poder redutor da amostra de mel e foi encontrado um valor de 0,81 mgGAEg<sup>-1</sup> o equivalente a 81 % o que mostra ter um alto poder antioxidante comparativamente ao mel da Malásia onde os valores encontrados em 3 amostras analisadas (Tualang, Gelam e Acácia) foram de 35.8%, 67.4% e 74.7% respetivamente (Chua et al., 2013) e o mel claro e escuro da região norte de Portugal com o poder redutor de 68.2% e 44,9% respetivamente (Morais et al., 2009).

Em relação ao efeito bloqueador de radicais livres (DPPH), o resultado foi expresso em EC<sub>50</sub>, correspondente à capacidade que a amostra tem em bloquear 50% de radiais livres de DPPH. Neste sentido, quanto mais baixo for o valor de EC<sub>50</sub>, maior é o poder antioxidante. Na bibliografia, os resultados encontrados para o mel da Málasia, oscilaram entre 50 mg mL<sup>-1</sup> e um mínimo de 16 mg mL<sup>-1</sup> (Chua et al., 2013). Já para os méis Portugueses, o mel claro e escuro da região norte de Portugal, apresentaram menor capacidade bloqueadora com valores de EC<sub>50</sub> elevados de 176.4 mgmL<sup>-1</sup> e 58.0 mgmL<sup>-1</sup>, (Morais et al., 2009). O mel de castanheiro da região de Bragança (Pereira et al., 2015) é o que apresenta, entre os méis Portugueses, um valor de EC<sub>50</sub> mais aproximado da amostra em estudo, com 34 mg mL<sup>-1</sup> e 32 mg mL g<sup>-1</sup>, para o mel de castanheiro e da QEM, respetivamente. Este resultado permite afirmar que o mel da QEM, encontra-se numa posição relativamente desejável por apresentar valor mais baixo comparativamente com os estudos referidos. Estas diferenças podem em grande medida, estar ligadas a origem botânica de cada mel (Lopes, 2014).

## CONCLUSÃO

Existe na quinta ecológica da Moita uma enorme diversidade de plantas melíferas que sustentam a produção de mel das quais, as famílias das espécies nectarífero-poliníferas mais abundantes são: Mirtaceae, Brassicaceae, Ericaceae, Lythraceae, Rosaceae, Apiaceae, Fabaceae, Fagaceae, Boraginaceae enquanto as principais famílias poliníferas são Cistaceae e Salicaceae.

O mel da QEM é do ponto de vista palinológico multifloral, com predominância de néctar de *Castanea sativa*, *Raphanus raphanistrum*, *Eucalyptus* spp. e *Rubus ulmifolius*. Os dados da condutividade elétrica e percentagem da glucose e frutose permitem também chegar à conclusão da origem nectarífera deste mel.

A conjugação dos valores obtidos para os parâmetros físico-químicos permitem deduzir que o mel analisado não foi adulterado, é de fácil conservação e fresco. Os dados da relação entre glucose e humidade permitiram concluir que o processo de cristalização é lento neste mel. A ausência total da sacarose permitiu aferir a ausência de adulteração deste mel por açúcares invertidos e a confirmação da sua qualidade.

O poder antioxidante do mel analisado é aceitavelmente melhor, visto que o teor em fenóis totais, o poder redutor e a capacidade de sequestro de radicais livre de DPPH expresso em  $EC_{50}$ , foram relativamente superiores comparativamente a outros tipos de méis estudados.

Apesar de uma família botânica predominar num habitat, não significa que todas espécies do mesmo grupo taxonómico estarão presentes no mel aí produzido, assim, para um plano de conservação, a priorização das espécies dominantes neste estudo é fundamental.

---

**agradecimentos** • Marcelino Caravela agradece o apoio financeiro do Instituto Camões, IP, através de uma bolsa de mestrado. Agradece-se à Quinta Ecológica da Moita o fornecimento da amostra de mel para estudo e permissão para a realização do estudo da flora local. Agradece-se o apoio financeiro da FCT (MCTES) ao CESAM (UID/AMB/50017/2019), através de fundos nacionais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Avallone CM, Montenegro S, Chifa C, Andrés A. (1999). Control de Calidad de las Mielles de la Provincia del Chaco–Argentina y Mapa Apícola. Acedido em: 10 agosto de 2015, em : <https://www.apiservices.biz/es/articulos/ordenar-por-popularidad/1180-control-calidad-mielles-chaco>.
- Barbosa MFA (2012). Avaliação da estabilidade de mel da mesma origem ao longo de 6 anos: comparação com mel comercializado. Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto.
- Bogdanov S, Martin P, Lullmann C (2002). Harmonised methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Centre. 62 p.
- Castroviejo S (coord. gen.) (1986-2019). *Flora iberica* 1-18, 20-21. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Chua LS, Rahaman NLA, Adnan NA, Tan TTE (2009). Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2013: 313798.
- Cullen J, Knees S, Cubey HS (eds) (2011). *The European Garden Flora: A manual for the identification of plants cultivated in Europe, both out-of-doors and under glass. Vols 1–5*, Cambridge, UK: Cambridge University Press
- Cunha A (2014). Quinta Ecológica da Moita, um laboratório vivo em Aveiro, Um projeto ambiental que esperou 10 anos na gaveta. *Quercus Ambiente* 9(63): 24.
- Diretiva 110/CE (2001). Critérios de composição dos méis. *Jornal Oficial Das Comunidades Europeias*, 1–6.
- Downey G, Hussey K, Kelly JD, Walshe TF, Martin PG (2005). Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry* 91(2): 347–354.
- Erdtman G (1960). The acetolysis method, a revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift* 54: 561-564.
- Erejuwa OO, Sulaiman, SA, Wahab MSA (2012a). Oligosaccharides Might Contribute to the Antidiabetic Effect of Honey: A Review of the Literature. *Molecules* 17(12): 248–266.
- Erejuwa OO, Sulaimans SA, Ab Wahab MS (2014b). Effects of Honey and Its Mechanisms of Action on the Development and Progression of Cancer. *Molecules* 19: 2497 - 2522.
- Escuredo O, Míguez M, Fernández-González M, Seijo MC (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry* 138(2): 851–856.
- Estevinho L, Feas X, Seijas J, Vasquez-Tato M (2012). Organic honey from Trás-os-montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food and Chemical Toxicology* 50(2): 258–264.

- Falcão SI, Vilas-Boas M, Estevinho LM, Barros C, Domingues MRM, Cardoso SM (2010). Phenolic characterization of Northeast Portuguese propolis: Usual and unusual compounds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396(2): 887–897.
- Feás X, Pires J, Estevinho L, Iglesias A, Araujo P (2010). Palynological and physicochemical data characterisation of honeys produced in the Entre-Douro e Minho region of Portugal. *International Journal of Food Science and Technology* 45(6): 1255–1262.
- Ferreira I, Aires E, Barreira J, Estevinho L (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4): 1438–1443.
- Gheldof N, Engeseth N (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.
- Gomathi D, Ravikumar G, Kalaiselvi M, Vidya B, Uma C (2014). In vitro free radical scavenging activity of ethanolic extract of the whole plant of *Evolvulus Alsinoides* (L.) L. *Chinese Journal of Integrative Medicine* 21(6): 453-458.
- Gomes S (2009). *Caracterização e avaliação biológica de méis comerciais*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança.
- Gomes T, Feás X, Iglesias A, Estevinho L (2011). Study of organic honey from the northeast of Portugal. *Molecules* 16(7): 5374–5386.
- International honey commission. (2009). Harmonised Methods of The International Honey Commission. Acedido em: 10 agosto de 2015, em : <http://www.bee-hexagon.net/en/network.htm>.
- Khalil MI, Sulaiman SA, Gan SH (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology* 48(8): 2388–2392.
- Lim CSH, Lim SL (2013). Ferric reducing capacity versus ferric reducing antioxidant power for measuring total antioxidant capacity. *Lab Medicine* 44(1): 51–55.
- Lopes M (2014). *Qualidade dos Produtos Apícolas da Guiné Bissau: Mel e Própolis*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança.
- Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, (see 4), 139–153. Acedido em: 10 agosto de 2015, em : <http://chemphys.armstrong.edu/nivens/Chem3300/methmels.pdf>
- Morais M, Moreira LL, Pereira AP, Estevinho LM (2009). Actividade Antioxidante de Produtos da Colmeia. Acta do 9º encontro de química dos alimentos. Açores, Portugal.
- Neves J, Rodrigues JEM (1957). Instruções para a colheita, preparação e conservação de colecções de espécies vegetais. *Anuário da Sociedade Broteriana*. Separata vol. 28.
- Ohe V, Oddo L, Piana M, Monique M, Martin P (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35: S18–S25.
- Pérez RG (2003). *Estudio palinológico y colorimétrico de mieles monoflorales de la Región de Murcia. Proyecto Fin de Carrera*. Dissertação de Mestrado. Universidade Politecnica de Cartagena.
- Pereira C, Barreira JCM, Calhella RC, Lopes M, Queiroz MJRP, Vilas-Boas M, Barros L, Ferreira ICFR (2015). Is honey able to potentiate the antioxidant and cytotoxic properties of medicinal plants consumed as infusions for hepatoprotective effects? *Food & Function* 6: 1435-1442.
- Sanz M, Gonzalez M, Lorenzo C, Sanz J, Martinez-Castro I (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry* 91(2): 313–317.
- Silva C, Queiroz A, Figueirêdo R (2004). Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 8(2-3): 260–265.
- Silva L, Videira R, Monteiro A, Valentão P, Andrade P (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal* 93(1): 73–77.
- Silvano M, Varela M, Palacio M, Ruffinengo S, Yamul D (2014). Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. *Food Chemistry* 152: 500–507.
- Tornuk F, Karaman S, Ozturk I, Toker OS, Tastemur B, Sagdic O, Dogan M, Kayacier A (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products* 46: 124–131.
- Tosi E, Martinet R, Ortega M, Lucero H, Ré E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry* 106(3): 883–887.
- White Jr JW, Doner LW (1980). Honey Composition and Properties. In *Beekeeping in the United States*. *Farmers Weekly*, 5: 82–91.

Anexo I - Inventário da flora potencialmente melífera da Quinta Ecológica da Moita

Família	Taxa	N
Asteraceae	<i>Andryala integrifolia</i> L.	12
	<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten	
	<i>Cirsium filipendulum</i> Lange subsp. <i>filipendulum</i>	
	<i>Chamaemelum nobile</i> (L.) All.	
	<i>Cheirolophus uliginosus</i> (Brot.) Dostál	
	<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Reichenb. fil.	
	<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.*	
	<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) W. Greuter subsp. <i>viscosa</i>	
	<i>Hypochaeris radicata</i> L.	
	<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat subsp. <i>taraxacoides</i>	
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	
<i>Tolpis barbata</i> (L.) Gaertn.		
Acanthaceae	<i>Acanthus mollis</i> L.	1
Actinidiaceae	<i>Actinidia deliciosa</i> (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson	1
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	1
Araceae	<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Sprengel	1
Araliaceae	<i>Hedera hibernica</i> (G. Kirchn.) Bean*	1
Boraginaceae	<i>Echium plantagineum</i> L.*	3
	<i>Lithodora prostrata</i> (Loisel.) Griseb. subsp. <i>prostrata</i>	
	<i>Myosotis</i> sp.*	
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i> L. subsp. <i>raphanistrum</i> *	1
Caprifoliaceae	<i>Lonicera periclymenum</i> L. subsp. <i>periclymenum</i>	2
	<i>Sambucus nigra</i> L. subsp. <i>nigra</i>	
Cistaceae	<i>Cistus psilosepalus</i> Sweet*	3
	<i>Cistus salviifolius</i> L.*	
	<i>Xolantha guttata</i> (L.) Fourn.	
Commelinaceae	<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	1
Convolvulaceae	<i>Convolvulus arvensis</i> L. subsp. <i>arvensis</i> *	2
	<i>Calystegia sylvatica</i> (Kit.) Griseb.*	
Cucurbitaceae	<i>Bryonia dioica</i> Jacq.	2
	<i>Cucurbita pepo</i> L.+	
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i> L.+	4
	<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hull +	
	<i>Erica cinerea</i> L.*	
	<i>Erica umbellata</i> Loefl. ex L.*	
Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	1
Fabaceae	<i>Genista triacanthos</i> Brot.*	6
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.+	
	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.+	
	<i>Trifolium repens</i> L.*	
	<i>Ulex minor</i> Roth+	
	<i>Vicia sativa</i> L. subsp. <i>Sativa</i> *	



Fagaceae	<i>Quercus robur</i> L. <i>Castanea sativa</i> Miller* <i>Quercus suber</i> L.+	3
Gentianaceae	<i>Blackstonia perfoliata</i> (L.) Huds. subsp. <i>perfoliata</i>	1
Geraniaceae	<i>Geranium purpureum</i> Vill.	1
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	1
Hippocastanaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i> L. / <i>A. x-carnea</i> Heyne*	1
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	1
Lamiaceae	<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.+ <i>Prunella vulgaris</i> L. subsp. <i>vulgaris</i>	2
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	1
Linaceae	<i>Linum bienne</i> Mill.	1
Lythraceae	<i>Lythrum</i> sp.* <i>Lythrum salicaria</i> L.*	2
Malvaceae	<i>Lavatera cretica</i> L.+	1
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. subsp. <i>globulus</i> *	1
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca americana</i> L.	1
Pittosporaceae	<i>Pittosporum eugenioides</i> A.Cunn.	1
Plantaginaceae	<i>Plantago coronopus</i> L. subsp. <i>coronopus</i> + <i>Plantago lanceolata</i> L.*+ <i>Plantago major</i> L. subsp. <i>major</i>	
Platanaceae	<i>Platanus hispanica</i> Miller ex Münchh.	1
Ranunculaceae	<i>Ranunculus repens</i> L.+	1
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl. <i>Malus domestica</i> Borkh.* <i>Prunus avium</i> L.* <i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Carrière) Koehne* <i>Prunus domestica</i> L.* <i>Pyrus communis</i> L.+ <i>Rubus ulmifolius</i> Schott*	7
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. fil.+	1
Salicaceae	<i>Salix babylonica</i> L.* <i>Salix atrocinerea</i> Brot.*	2
Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	1
Umbelliferae	<i>Oenanthe crocata</i> L.*	1
Scrophulariaceae	<i>Hebe speciosa</i> (R.Cunn. ex A.Cunn.) Andersen <i>Digitalis purpurea</i> L. subsp. <i>purpurea</i> + <i>Scrophularia auriculata</i> L.+	3
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L. subsp. <i>vinifera</i> +	1
<b>TOTAL</b>	-----	<b>81</b>

\*Presentes em amostra de mel em estudo + Ausentes mas identificadas em outros estudos.

**Anexo II - Tipos polínicos cumulativos com percentagem relativa inferior a 1%, EPG1 - Espetro Polínico Global, EPG2 - Espetro de Plantas Nectaríferas.**

<b>Espécies</b>	<b>EPG<sup>1</sup></b>	<b>EPN<sup>2</sup></b>
<i>Castanea sativa</i>	24,0%	24,9%
<i>Raphanus raphanistrum</i>	13,3%	13,8%
<i>Eucalyptus globulus</i>	10,9%	11,3%
<i>Rubus ulmifolius</i>	10,0%	10,4%
<i>Lythrum spp.</i>	7,3%	7,5%
<i>Prunus spp.</i>	7,0%	7,3%
<i>Oenanthe crocata</i>	6,3%	6,5%
<i>Echium spp.</i>	2,8%	2,9%
<i>Malus spp.</i>	2,3%	2,4%
<i>Salix spp.</i>	1,8%	0,0%
<i>Olea europaea</i>	1,7%	0,0%
<i>Foeniculum vulgare</i>	1,4%	1,5%
<i>Genista sp.</i>	1,3%	1,4%
<i>Cistus spp.</i>	1,3%	0,0%
<i>Outros tipos*</i>	8,8%	8,4%
<i>Universo polínico</i>	100,0%	100,0%