



ESTRATÉGIAS DE QUÍMICA ANALÍTICA PARA O CONTROLO DA QUALIDADE DO MEL

A autenticidade do mel é essencial para garantir a sua qualidade e proteger os consumidores contra fraudes. Técnicas analíticas avançadas têm melhorado a deteção, mas a complexidade das adulterações exige evolução contínua dos métodos.

Helena Rodrigues^{1,2}, Marta Leite^{2,3}, Maria Beatriz Oliveira^{1,3}, Andreia Freitas^{2,3}

¹ Universidade do Porto, Faculdade de Farmácia



² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



³ REQUIMTE/LAQV



Introdução

O mel é um alimento natural complexo, definido como uma substância doce produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, composto essencialmente por açúcares – principalmente frutose e glucose –, além de ácidos orgânicos, enzimas e partículas sólidas provenientes da colheita. É considerado um alimento funcional devido às suas propriedades benéficas, destacando-se a atividade antimicrobiana de largo espectro e a ação antioxidante, geralmente atribuídas à sua composição nutricional e às suas características físico-químicas, como a presença de compostos fenólicos, peróxido de hidrogénio, péptidos com ação antimicrobiana, pH ácido e elevado teor de açúcares^[1].

A preservação do caráter natural e genuíno do mel é fundamental, o que implica limitar ao máximo as intervenções humanas que possam alterar a sua composição. Embora a legislação proíba expressamente a adição de quaisquer ingredientes ao mel – incluindo aditivos alimentares –, bem como a remoção de constituintes naturais, como o pólen, é essencial que as autoridades competentes realizem um acompanhamento contínuo da ocorrência de práticas fraudulentas. Surge, assim, uma questão pertinente: quão genuíno é o nosso mel? Um estudo realizado pelo *Joint Research Centre* da Comissão Europeia (*EU Science Hub*), que analisou 320 amostras de mel importadas de 20 países, revelou que 147 dessas amostras – cerca de 47% – levantaram suspeitas de adulteração^[2].

A fraude alimentar pode ser definida como qualquer ação intencional destinada a enganar os consumidores quanto à identidade, qualidade ou composição dos produtos alimentares, visando obter lucro nos mercados globais. De acordo com o estudo “*The Top Three Food Frauds and how Nuclear Scientists can Help Detect them*”, os três alimentos mais frequentemente alvo de práticas fraudulentas são o azeite (em 1.º lugar), o mel (em 2.º) e o marisco (em 3.º)^[3].

A adulteração do mel é um problema global que tem tido um impacto significativamente negativo no desenvolvimento da indústria melífera, ao provocar alterações nos seus componentes químicos, degradar compostos bioativos benéficos à saúde e comprometer a qualidade e o valor dos produtos que con-

têm mel. A ocorrência de fraudes tem gerado uma preocupação crescente no setor apícola, com consequências relevantes para os consumidores – devido à possível exposição a contaminantes químicos –, para os apicultores – pela concorrência desleal e desvalorização do mel genuíno – e para a economia e o comércio, com a perda de credibilidade dos mercados e elevados prejuízos económicos.

Neste contexto, as técnicas de química analítica desempenham um papel crucial na deteção de fraudes e na autenticação do mel, permitindo garantir o controlo de qualidade e a rastreabilidade do produto.

Critérios de composição do mel

Regulamentação

O mel comercializado ou utilizado em produtos destinados ao consumo humano deve apresentar características físico-químicas em conformidade com os critérios de composição estabelecidos. Entre estas características incluem-se os teores de açúcares, de água, de matérias insolúveis em água e de ácidos livres, bem como a condutividade elétrica. Após eventual tratamento ou mistura, devem ainda ser determinados o índice diastásico e o teor de hidroximetilfurfural (HMF)^[4].

Técnicas analíticas convencionais

A determinação dos critérios físico-químicos do mel (Tabela 1) geralmente utiliza técnicas analíticas simples, diretas, de baixo custo, recomendadas pela *International Honey Commission* (IHC) para análises rotineiras apresentadas de forma resumida a seguir^[5]. A quantificação dos principais componentes nutricionais do mel requer métodos analíticos complexos e específicos, que permitem a separação com base na polaridade ou no tamanho molecular, seguida da deteção e quantificação individual dos açúcares (frutose, glucose e sacarose). Entre estes métodos, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), acoplada a detetores de índice de refração ou de espectrometria de massa. Alternativamente, podem ser utilizados métodos menos específicos, como o método de Fehling, para determinar o teor de açúcares redutores – principalmente frutose e glucose –, bem como o de sacarose.

Tabela 1 – Critérios e parâmetros de composição do mel
(adaptado de Diretiva n.º 2001/110/CE, do Conselho, de 20 de dezembro, relativa ao mel)

Critérios de composição	Tipo de mel – conteúdo
Teor de frutose e glucose (total dos dois)	Mel de néctar – no mínimo 60 g/100 g
	Mel de melada e misturas de mel de melada com mel de néctar – no mínimo 45 g/100 g
Teor de sacarose	Em geral – no máximo 5 g/100 g
	Variedades específicas no máximo 10 – 15 g/100 g
Teor de água	Em geral – no máximo 20%
	Mel de urze (<i>Calluna</i>) e mel para uso industrial em geral – no máximo 23%
	Mel de urze (<i>Calluna</i>) para uso industrial – no máximo 25%
Teor de matérias insolúveis na água	Em geral – no máximo 0,1 g/100 g
	Mel prensado – no máximo 0,5 g/100 g
Condutividade eléctrica	Variedades específicas e misturas desses méis – no máximo 0,8 mS/cm
	Mel de melada, mel de flores de castanheiro e misturas desses méis, exceto com os a seguir enumerados – no mínimo 0,8 mS/cm
Ácidos livres	Em geral – no máximo 50 miliequivalentes de ácidos por 1000 g
	Mel para uso industrial – no máximo 80 miliequivalentes de ácidos por 1000 g
Índice diastásico (escala de Schade)	Em geral, com exceção do mel para uso industrial – no mínimo 8
	Méis com baixo teor natural de enzimas (por exemplo, méis de citrinos) e teor de HMF não superior a 15 mg/kg – no mínimo 3
Teor de hidroximetilfurfural (HMF)	Em geral, com exceção do mel para uso industrial – no máximo 40 mg/kg
	Mel de origem declarada de regiões de clima tropical e misturas desses méis – no máximo 80 mg/kg

O teor de matérias insolúveis em água é determinado através de um procedimento simples, baseado em filtração e gravimetria. Já a acidez livre é geralmente medida por titulometria, recorrendo a soluções alcalinas, sendo este o método padrão para essa finalidade.

A determinação do teor de água assenta na medição do índice de refração do mel, influenciado pela sua humidade, e é corrigida para 20 °C utilizando um refratómetro digital.

A condutividade eléctrica – parâmetro relacionado com a concentração de iões no mel – é quantificada com um medidor de condutividade, após dissolução do mel em água desionizada.

A atividade da enzima diástase é habitualmente avaliada por ensaios enzimáticos, como o método de Schade, que se baseia na capacidade da enzima para hidrolisar soluções de amido na presença de triiodeto, sendo esta reação monitorizada pela diminuição

da intensidade da coloração azul, medida por espectrofotometria.

A quantificação de hidroximetilfurfural (HMF) pode ser realizada por métodos colorimétricos, como o método de Winkler, que se baseia na formação de um composto colorido a partir da reação do HMF com p-toluidina e ácido barbitúrico, posteriormente detetado por espectrofotometria UV. No entanto, métodos mais precisos, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), são atualmente preferidos para a determinação direta de HMF, sendo esta uma das técnicas mais amplamente utilizadas^[5].

Adulteração no mel

Técnicas de adulteração

De modo geral, os métodos de fraude alimentar podem incluir a adição de materiais não declarados aos alimentos, a diluição ou substituição de ingredientes de alto valor por outros de menor valor, e a rotula-

gem incorreta. Focando no mel, as técnicas de adulteração mais frequentemente reportadas podem ser agrupadas em duas categorias principais: métodos de adulteração direta e métodos de adulteração indireta (Figura 1)^[6].

- (i) **Métodos Diretos:** relacionados com a adição de açúcares ou misturas de mel, bem como com a descrição incorreta do mel como sendo de alta qualidade.
- (ii) **Métodos Indiretos:** relacionados com a alimentação das colônias, colheita de mel verde e manuseamento e armazenamento inadequados.



Figura 1 – Representação esquemática dos principais métodos de adulteração do mel.

Deteção da adulteração

A autenticação do mel e a deteção de possíveis adulterações podem ser realizadas através de diversos métodos analíticos, com níveis variáveis de precisão e especificidade. Entre os métodos convencionais, destacam-se a análise sensorial e a caracterização físico-química (ver secção *Critérios de composição do mel – Técnicas analíticas convencionais*).

Embora estes métodos forneçam indicadores indiretos da qualidade do mel, podem não ser suficientes para comprovar a sua autenticidade, designadamente no que respeita à deteção de adulterações.

O avanço tecnológico, aliado à necessidade de superar as limitações dos métodos convencionais, conduziu à introdução de técnicas analíticas complementares. Estas têm sido aplicadas na análise de indicadores específicos do mel – como compostos voláteis, flavonoides, ácidos fenólicos, elementos metálicos e isótopos estáveis –, proporcionando maior precisão e sensibilidade na deteção de adulterações e na autenticação da origem botânica e geográfica.

Os sistemas cromatográficos acoplados a diversos tipos de detetores constituem os métodos analíticos preferenciais para a análise da composição e contaminação em matrizes alimentares e ambientais, permitindo a identificação precisa de marcadores químicos.

A análise qualitativa e quantitativa de compostos-alvo por cromatografia líquida (CL) é amplamente utilizada para a deteção de compostos polares e não voláteis. Consoante o objetivo analítico, a CL pode ser associada a diferentes tipos de detetores, como: matriz de díodos, deteção amperimétrica pulsada, fluorescência, índice de refração, deteção eletroquímica, matriz de elétrodos colométricos e espectrometria de massa.

Por sua vez, a cromatografia gasosa (CG) é especialmente útil na análise de compostos voláteis, semivoláteis, não polares e semipolares presentes no mel. Os compostos voláteis são analitos importantes na avaliação da autenticidade do mel, uma vez que estão diretamente associados às espécies botânicas a partir das quais as abelhas recolhem néctar ou melada. Existem diversos estudos que relacionam o perfil de compostos voláteis com a origem botânica e geográfica do mel, recorrendo a CG acoplada a diferentes detetores. Entre as principais vantagens dos métodos cromatográficos destacam-se a robustez, reprodutibilidade e ampla aplicabilidade a diferentes analitos-alvo, o que permite a separação eficaz dos constituintes da complexa matriz do mel, melhorando a precisão e sensibilidade da deteção analítica^[7].

A par das técnicas cromatográficas e da espectrometria de massa, as técnicas espectroscópicas têm vindo a ser amplamente utilizadas na análise do mel, uma vez que permitem obter informações estruturais e composicionais de forma rápida, não destrutiva e passível de automatização. Estas técnicas possibilitam ainda a criação de impressões digitais das amostras, que, em alguns casos, permitem a deteção simultânea de múltiplos analitos.

Um exemplo é a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), que possibilita a autenticação do mel através da comparação do perfil químico completo da amostra com uma base de dados previamente validada. Ao contrário dos métodos convencionais,

a RMN não se baseia na detecção de adulterantes específicos, permitindo, entre outras vantagens, a identificação de uma ampla gama de compostos e a detecção de novas formas de adulteração, incluindo aquelas até então desconhecidas.

A principal limitação desta técnica reside na necessidade de uma base de dados de referência suficientemente abrangente para representar a elevada variabilidade das origens botânicas e geográficas do mel^[8]. A identificação de padrões químicos característicos e a detecção fiável de possíveis adulterações requerem o tratamento adequado dos extensos conjuntos de dados gerados pelas diferentes técnicas analíticas. Para esse fim, recorrem-se a ferramentas quimiométricas – métodos matemáticos e estatísticos avançados – como a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA), a análise de agrupamento hierárquico (*Hierarchical Cluster Analysis*, HCA), a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares Discriminant Analysis*, PLS-DA) e a regressão por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares Regression*, PLSR), os quais são amplamente utilizados na avaliação e classificação de amostras de mel^[9].

A adulteração do mel pode também ser detetada através de técnicas baseadas em ADN, utilizando marcadores genéticos para identificar adulterantes específicos. Estas técnicas apresentam elevada precisão e sensibilidade, sendo particularmente adequadas para distinguir entre amostras adulteradas e mel autêntico. A aplicabilidade deste tipo de abordagem foi já demonstrada, nomeadamente com o uso da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) para detetar a adulteração do mel com melão de arroz^[10].

Conclusões

A garantia da autenticidade do mel é essencial para preservar a sua qualidade, proteger a saúde dos consumidores e valorizar o trabalho dos apicultores. As técnicas analíticas convencionais fornecem parâmetros importantes, mas a sofisticação crescente das práticas fraudulentas demanda o uso de métodos avançados, como cromatografia, espectroscopia e análises genéticas, que aumentam a precisão na dete-

ção de adulterações. Apesar dos avanços significativos, a diversidade das origens botânicas e geográficas do mel, bem como as novas formas de fraude, evidenciam a necessidade de uma constante evolução tecnológica e metodológica para assegurar a proteção efetiva do produto e a confiança no mercado. 🍯

Bibliografia

- [1] da Silva, P.M.; Gauche, C.; Gonzaga, L.V.; Costa, A.C.O.; Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.*, **196**:309–323.
- [2] Ždiniaková, T.; Lörchner, C.; De Rudder, O.; Dimitrova, T.; Kaklamanos, G.; Breidbach, A. et al. (2023). EU Coordinated action to deter certain fraudulent practices in the honey sector. KJ-NA-31-461-EN-N (online).
- [3] Shifotoka, M. (2024). The Top Three Food Frauds and how Nuclear Scientists can Help Detect them. *Atoms-4Food: Nourishing the Future*.
- [4] European Commission (2014). Directive 2014/63/EU of the European Parliament and of the Council of 15 May 2014 amending Council Directive 2001/110/EC relating to honey. *Official Journal of the European Union*, **L 164**:1–5.
- [5] Bogdanov, S. (2002). Harmonised methods of the International Honey Commission. *International Honey Commission (IHC)*. **Jan 1**:1–62.
- [6] Morariu, I.D.; Avasilcai, L.; Vieriu, M.; Lupu, V.V.; Ioniuc, I.; Morariu, B.A.; et al. (2024). A Comprehensive Narrative Review on the Hazards of Bee Honey Adulteration and Contamination. *J Food Qual.* **2024**:1–13.
- [7] Zhang, G.; Abdulla, W. (2022). On honey authentication and adulterant detection techniques. *Food Control*, **138**:108992.
- [8] Tsagkaris, A.S.; Koulis, G.A.; Danezis, G.P.; Martakos, I.; Dasenaki, M.; Georgiou, C.A. et al. (2021). Honey authenticity: analytical techniques, state of the art and challenges. *RSC Adv.*, **11**(19):11273–11294.
- [9] Bose, D.; Padmavati, M. (2024). Honey Authentication: A review of the issues and challenges associated with honey adulteration. *Food Biosci.*, **61**:105004.
- [10] Sobrino-Gregorio, L.; Vilanova, S.; Prohens, J.; Escriche, I. (2019). Detection of honey adulteration by conventional and real-time PCR. *Food Control*, **95**:57–62.