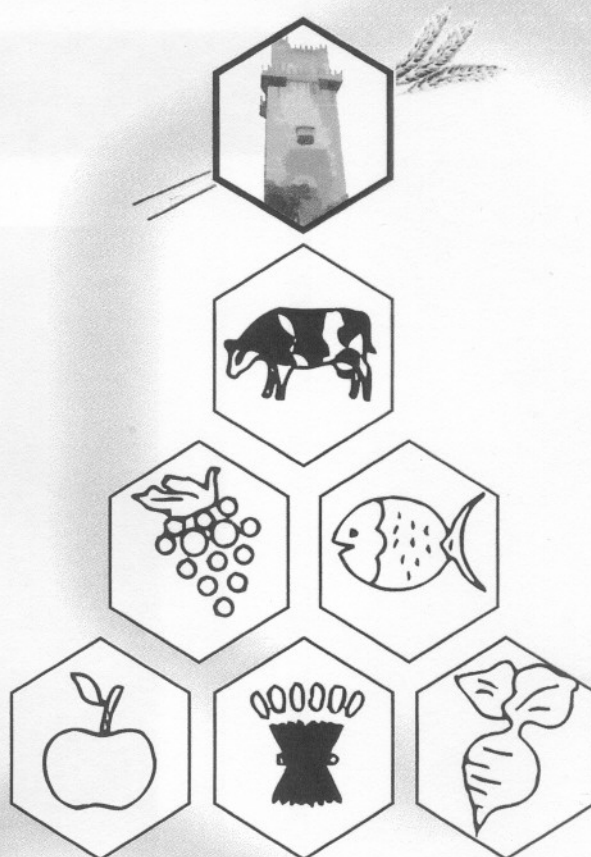


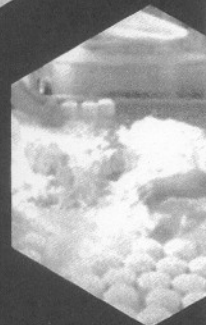
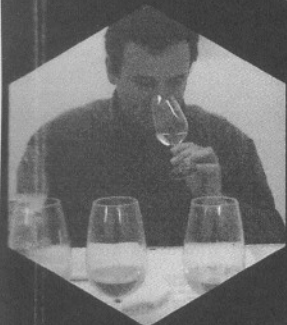
ACTAS DO 8º ENCONTRO DE QUÍMICA DOS ALIMENTOS



Alimentos Tradicionais, Alimentos Saudáveis e Rastreabilidade

Beja, Março de 2007

Instituto Politécnico de Beja
Escola Superior Agrária de Beja
Sociedade Portuguesa de Química



APLICAÇÃO DE UMA LÍNGUA ELECTRÓNICA NA CLASSIFICAÇÃO DE MÉIS MONOFLORAIS

^aMorais, L., ^{*a}Dias, L. A., ^{ab}Peres, A. M., ^aRocha, A., ^aEstevinho, L., ^cMachado, A. A. S. C.

^aCIMO; ^bLSRE - Escola Superior Agrária de Bragança – Instituto Politécnico de Bragança

^cLAQUIPAI, Departamento de Química, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto

Tel +351-273 303 318 Fax +351-273 325 405 e-mail: ldias@ipb.pt

Palavras-chave: mel, pólen, língua electrónica, análise multivariada

Resumo: Analisou-se o perfil polínico de 51 amostras de mel nacional. Os pólenes mais frequentes no mel são originários das plantas dos géneros *Lavandula*, *Cistus*, *Echium*, *Erica*, *Castanea*, *Thymus*, *Prunus*, *Cytisus*, *Carduus*, *Trifolium* e *Citrus*. Considerando a classificação de mel monofloral de *Lavandula* (pólen predominante superior a 15%), de *Erica* e de *Echium* (pólen predominante superior a 45%) seleccionaram-se 38 méis monoflorais: 18, 9 e 11 destes méis foram classificados como méis monoflorais de *Lavandula*, *Erica* e *Echium*, respectivamente. Contudo há méis que podem ser classificados como mel monofloral de dois géneros de pólen (*Lavandula-Echium*, *Erica-Lavandula*, *Echium-Lavandula*). Os méis monoflorais foram analisados com um sistema de multi-sensores químicos não específicos de sensibilidade cruzada (Língua Electrónica) e os resultados foram tratados através da análise de componentes principais e análise discriminante. Verificou-se que é possível discriminar razoavelmente o mel monofloral de acordo com o género do pólen predominante.

1. INTRODUÇÃO

O mel é um produto natural de origem animal cujas características dependem da sua origem floral, a qual varia de região para região em consonância com a flora existente, dando-lhe características específicas que permitem a sua tipificação pela origem ou tipo, traduzindo-se em parâmetros de qualidade que beneficiam o produto, valorizando-o comercialmente. O mel designa-se de monofloral quando o néctar é predominantemente de uma única espécie vegetal, podendo ocorrer misturas com o néctar proveniente de flora secundária. A caracterização do mel monofloral é efectuada através da análise polínica ao mel, baseia-se na identificação morfológica e quantificação dos grãos de pólen, e corresponde ao conhecimento das plantas nectaríferas utilizadas pelas abelhas na produção do mel. A predominância de um néctar permite atribuir características organolépticas únicas ao mel quer ao nível do sabor quer ao nível do aroma reflectindo directamente na comercialização do mel [1]. As análises polínicas são de grande importância no controlo de qualidade alimentar do mel pois, além de permitirem definir a sua origem geográfica e botânica também permitem detectar adulterações.

Em geral aceita-se que o mel é monofloral se o seu perfil polínico apresentar uma predominância superior a 45% de um só pólen [2,3]. Contudo alguns méis podem ser considerados monoflorais com a presença de somente 15% de um pólen como, por exemplo, o mel de *Lavandula* ou, no caso de mel monofloral de castanheiro e eucalipto, o nível de frequência relativa do respectivo pólen deve ser superior a 70% [2,4]. Convém referir que as percentagens indicadas são valores indicativos e normalmente aceites pela comunidade apícola.

A avaliação de algumas propriedades organolépticas pode ser realizada recorrendo a sistemas de multi-sensores químicos (língua electrónica) de especificidade parcial aos diferentes componentes existentes numa solução, sendo um método apropriado de reconhecimento (identificação, classificação e discriminação), análise quantitativa de multi-componentes e avaliação do gosto ou sabor de vários líquidos [5].

Neste trabalho construiu-se um sistema de multi-sensores, contendo 20 sensores não específicos de sensibilidade cruzada, que produz sinais não específicos para diferentes componentes não particulares das amostras. O perfil de sinais gerado está relacionado com determinadas características ou qualidades da amostra. Os perfis de sinais obtidos podem ser avaliados recorrendo a métodos estatísticos multivariados para processamento do sinal, como por exemplo, análise de componentes principais (PCA), regressão pelos mínimos quadrados parciais (PLS), análise discriminante, entre outros [5].

Com este trabalho pretendeu-se verificar se o sistema de multi-sensores construído permite distinguir diferentes tipos de méis monoflorais tendo em conta o pólen predominante.

2. AMOSTRAGEM

Neste estudo usaram-se 51 méis fornecidos pelas Associações de Apicultores de várias zonas de Portugal constituindo uma pequena amostragem mas, representativa do mel nacional. As amostras foram recolhidas e analisadas pelo sistema de multi-sensores após a análise polínica.

3. ANÁLISE POLÍNICA

As análises polínicas foram efectuadas no Laboratório de Biologia da Escola Superior Agrária de Bragança.

As amostras de mel foram preparadas por diluição de 10,0 g de mel em 30,0 mL de água destilada e tratadas de acordo com o método acetolítico de Erdtman [7]. A análise polínica foi efectuada usando um microscópio óptico (marca Leica DMLB, com a objectiva 40×). Na identificação dos grãos de pólen recorreu-se a preparações de referência. Os pólenes foram identificados de acordo com a sua morfologia e classificados em grupos de plantas do mesmo género.

4. ANÁLISE COM SISTEMA DE MULTI-SENSORES

As medições foram efectuadas com um sistema de multi-sensores e um eléctrodo de referência de Ag/AgCl de dupla junção (solução externa de K_2SO_4 0,5M) acoplados a um “multiplexer Agilent Data Acquisition/Switch Unit modelo 34970A”. Cada canal do “multiplexer” (vinte canais) media “DC voltage” na escala de ± 1 V, com a opção de alta impedância. A aquisição dos dados foi efectuada com o software Agilent BenchLink Data Logger controlado por um computador PC através de uma porta de série RS-232 de 25 pinos. Os dados obtidos foram importados para o programa Excel que permitiu analisar e visualizar os resultados.

As experiências foram efectuadas a 25°C numa cuba de vidro de parede dupla, termostaticada usando um banho com cabeça termostática de marca Selecta Tectron Bio.

O sistema de multi-sensores foi construído num corpo de acrílico usando como contacto uma resina epoxilica de Ag com a referência EPO-TEK E4110. Cada membrana polimérica aplicada no sistema de multi-sensores foi preparada com a proporção de 5% do sensor, 65% de o-NPOE e 30% de PVC. Cada membrana foi dissolvida com pequenos volumes de tetrahidrofurano obtendo-se uma solução viscosa. Os sensores foram aplicados no corpo de acrílico por adição de gotas de cada mistura em cada um dos poços preparados (só se adicionava nova gota da mistura após a evaporação completa do solvente tetrahidrofurano), até o preenchimento do referido poço.

Os sensores usados na preparação das membranas estão referidas na Tabela 1 [5].

Tabela 1 – Sensores usados na língua electrónica

Sensor	Sensor
S1	1-octadecanol
S2	oleylalcohol
S3	1-tetradecanol
S4	1-dodecanol
S5	octadecylamine
S6	oleylamine
S7	Dodecylamine
S8	Octylamine
S9	1-dodecanethiol
S10	1-octadecanethiol
S11	potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate
S12	trioctylmethylammonium chloride (TOMA)
S13	Tridodecylmethylammonium chloride (TDMA)
S14	DOP + TOMA
S15	DOP + TDMA
S16	Diocetylphenylphosphate (DOP)
S17	Undecanoic acid
S18	Dodecanoic acid
S19	Octadecanoic acid
S20	Oleic acid

As amostras foram preparadas por medição de aproximadamente 8 g de mel e diluídas com água desionizada até se obter a concentração de 0,2% m/m em mel.

5. RESULTADOS

A análise polínica efectuada permitiu concluir que, em geral, os méis estudados apresentavam uma composição polínica com uma diversidade superior a 3 géneros de pólen excepto para 9 méis; 6 méis continham apenas 3 géneros de pólen e 3 méis apenas com dois géneros de pólen. Globalmente, as percentagens totais dos 3 géneros de pólen predominantes, em cada mel analisado, variaram entre 63 e 100%.

Os méis analisados apresentam uma composição polínica associada aos géneros de plantas *Lavandula*, *Cistus*, *Echium*, *Erica*, *Castanea*, *Thymus*, *Prunus*, *Cytisus*, *Carduus*, *Trifolium*, *Citrus* e outros (por ordem decrescente da frequência de ocorrência nos méis).

Os pólenes do género *Lavandula* estão presentes em 20 méis como pólen predominante e em 5 méis como pólen secundário, estando presentes em 85% dos méis. O segundo género de pólen mais frequente no mel é do género *Cistus* (presente em 77% dos méis embora não seja um pólen nectarífero) sendo o pólen secundário em 13 méis e o pólen pouco frequente em 14 méis. Os pólenes do género *Echium* estão presentes em 67% dos méis, sendo o predominante em 20 méis e o pólen secundário em 21 méis. O quarto pólen mais frequente nos méis estudados pertence ao género *Erica* (presente em 31% dos méis), sendo o pólen predominante em 11 méis e o pólen secundário em 3 méis. O pólen do género *Castanea* é o quinto pólen mais frequente no mel (presente em 30% dos méis). Os restantes tipos de pólen do perfil polínico acima referido estão presentes como pólenes secundários ou simplesmente são pólenes pouco frequentes.

Dos 51 méis analisados só 33 méis apresentam frequências relativas do pólen predominante superiores a 45%. Dos restantes méis, 13 têm percentagens do pólen predominante entre 35 e 45% e 5 méis entre 24 e 35%. Considerando a classificação de mel monofloral de *Lavandula* (pólen predominante superior a 15%), de *Erica* e de *Echium* (pólen predominante superior a 45%) seleccionaram-se 38 méis monoflorais: 18, 9 e 11 destes méis foram classificados como méis monoflorais de *Lavandula*, *Erica* e *Echium*, respectivamente. É de referir que nos primeiros méis monoflorais, 4 podem ser também classificados como sendo méis monoflorais de *Echium*. Dos segundos méis monoflorais, 2 podem ser igualmente classificados como méis monoflorais de *Lavandula*. Dos últimos, 9 méis podem ser classificados como méis monoflorais de *Lavandula*.

Os resultados obtidos para cada mel com o sistema de multi-sensores foram avaliados por análise de componentes principais (ACP) e análise discriminante (AD).

Usou-se o método da análise de componentes principais com objectivo de reduzir o número de dados através da identificação de novas variáveis, em menor número que o conjunto inicial, sem perder informação relevante [8,9].

A Figura 1 apresenta o scree-plot obtido. Pela análise do scree-plot e tendo em conta a percentagem de variância total explicada retiveram-se os três primeiros componentes principais, que explicam 93% da variância total. Uma quarta dimensão não foi considerada uma vez que conduzia a um valor próprio inferior a 1, correspondendo a um valor negativo do parâmetro α -Cronbach.

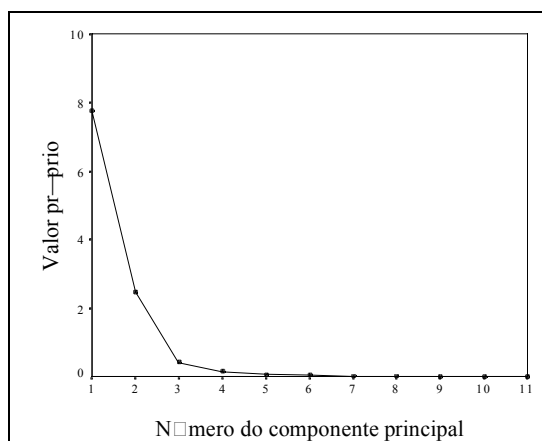


Figura 1 – Representação Scree-plot da análise de componentes principais

Na Figura 2 mostra-se a representação gráfica 3D dos três componentes principais seleccionados para as 38 amostras de mel monofloral seleccionadas.

A projecção dos resultados das amostras de mel segundo os 3 componentes principais mostra a existência de 4 grupos: o grupo 1 contém méis monoflorais de *Lavandula*, o grupo 2 é um grupo misto dos três géneros de pólen, o grupo 3 inclui essencialmente méis monoflorais de *Erica* e o grupo 4 contém principalmente méis monoflorais de *Echium*. Nenhum dos grupos contém uma classe individual totalmente separada de um género de pólen. Estes resultados podem estar associados à composição multifloral dos méis analisados, pois o pólen secundário pertence, em geral, a uma das famílias de pólen que se pretende discriminar.

Finalmente, aplicou-se a análise discriminante com o objectivo de diferenciar e classificar os méis monoflorais em três grupos de acordo com os géneros de pólen *Lavandula*, *Erica* e *Echium*.

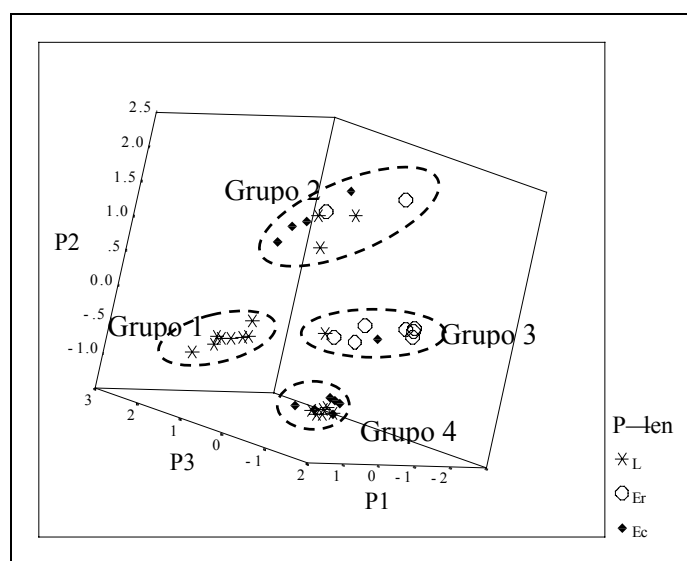


Figura 2 – Representação 3D dos componentes principais para as 38 amostras de mel monofloral *L-Lavandula*; *Er-Erica*; *Ec-Echium*

A análise realizada permitiu obter 2 funções discriminantes que possibilitam previsões aceitáveis. Os méis foram classificados correctamente em 87% dos casos considerando o conjunto original de amostras e em 58%, efectuando validação cruzada para averiguar a capacidade de previsão. Verifica-se que na validação cruzada os méis monoflorais classificados correctamente são: 65% dos méis monoflorais de *Lavandula*, 80% dos méis monoflorais de *Erica* e 33% dos méis monoflorais de *Echium*.

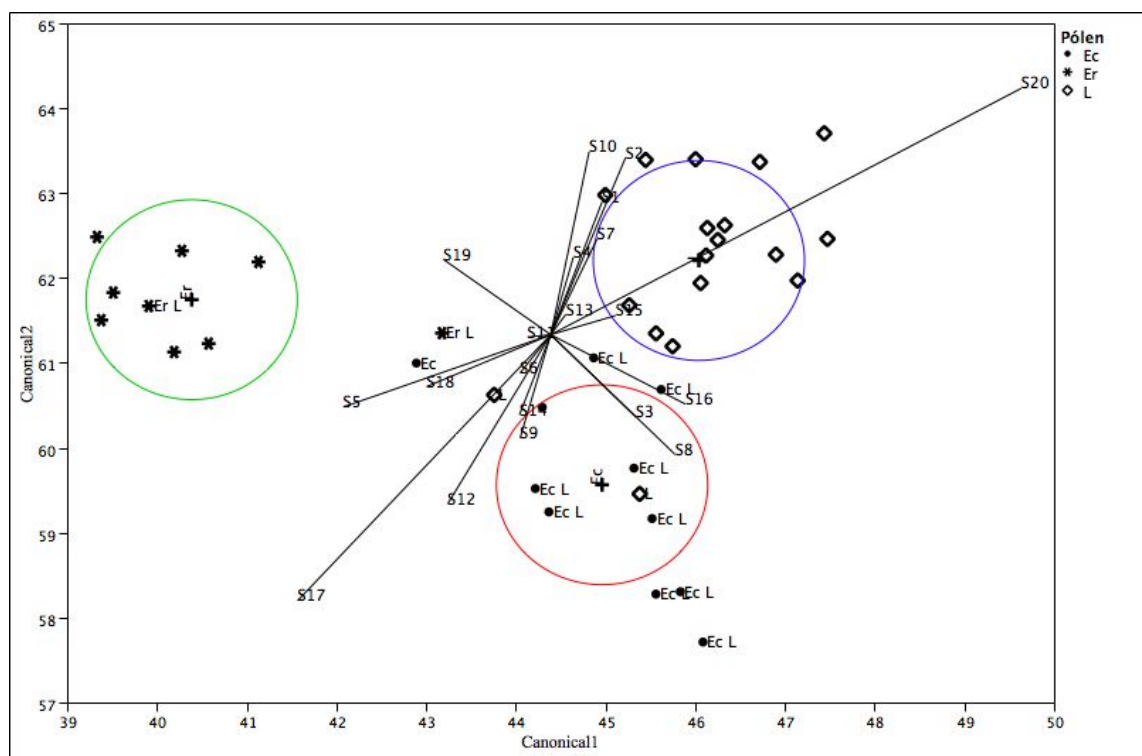


Figura 3 – Representação da primeira e segunda função discriminante para as 38 amostras de mel Monofloral. *L-Lavandula*; *Er-Erica*; *Ec-Echium*

Na Figura 3 mostra-se a representação gráfica das duas funções discriminantes aplicada às 38 amostras de mel analisadas, baseada nos sinais obtidos pelo sistema de multi-sensores.

A análise da Figura 3 mostra a separação dos méis monoflorais de *Erica* em relação aos méis monoflorais de *Lavandula* e *Echium*. Para os méis monoflorais de *Echium*, a sua proximidade aos méis monoflorais de *Lavandula* deve-se provavelmente à presença de *Lavandula* nestes méis. Na Figura 3 evidenciam-se os méis monoflorais de *Echium* e de *Erica* com presença de pólen de *Lavandula* em percentagem suficiente para serem considerados méis monoflorais de *Lavandula*.

5. CONCLUSÕES

O estudo realizado indica que é possível diferenciar razoavelmente o mel monofloral de acordo com o género de pólen predominante. Contudo verificou-se ser possível uma segunda classificação para alguns dos méis analisados, ou seja, um mesmo mel pode ser classificado como mel monofloral de dois géneros de pólen (*Lavandula-Echium*, *Erica-Lavandula*, *Echium-Lavandula*). Este facto dificulta a discriminação entre os três tipos de méis monoflorais. Neste momento decorrem trabalhos adicionais no sentido de aumentar o número de amostras de mel monofloral cuja abundância do pólen predominante seja superior a 80%.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] – L. P. Oddo, S. Bogdanov, *Determination of honey botanical origin: problems and issues*, *Apidologie* **35** (2004) S2–S3
- [2] – M. C. Seijo, M. J. Aira, J. Méndez, *Palynological differences in the pollen content of Eucalyptus honey from Australia, Portugal and Spain*, *Grana* **42** (2003), N°3, 183-190
- [3] – A.C. Andrada, M.C. Tellería, *Botanical origin of honey from south of Calde'n district (Argentina)*, *Grana* **41** (2002), N°1, 58-62
- [4] – M. Maia, P. A. Russo-Almeida e J. O. Pereira, *Caracterização do Espectro Polínico dos Méis do Alentejo (Portugal)*, *Silva Lusitana* **13** (2005), N°1, p.95-103
- [5] – K. Toko, *Biomimetic Sensor Technology*, Cambridge University Press (2000)
- [6] – K. Toko, *A taste sensor*, *Meas. Sci. Technol.* **9** (1998), N°12, 1919-1936
- [7] – G. Erdtmand, *The Acetolysis Method: a Revised Description*, *Svensk Bot. Tidskr.* **54** (1960), 561-564
- [8] – E. Reis, *Estatística Multivariada Aplicada*, Ed. Sílabo (2001)
- [9] – J. Maroco, *Análise Estatística com Utilização do SPSS*, Ed. Sílabo (2003)

Nota:

Este trabalho foi realizado no âmbito do Projecto FCT n° POCI/QUI/58076/2004 com o título “Línguas electrónicas e bioelectrónicas (línguas-BE) para sensorização ambiental e alimentar”.