

8

## OS COMPOSTOS FENÓLICOS COMO MARCADORES PARA A IDENTIFICACIÓN DA ORIXE BOTÁNICA DO MEL



O principal obxectivo deste traballo é o desenvolvemento dunha metodoloxía miniaturizada e respectuosa co medio que permita a obtención do perfil fenólico dos meles galegos. Un segundo obxectivo é empregar esta metodoloxía para clasificar os diferentes meles en función da súa orixe botánica, e poder así garantir a súa autenticidade.

## Tipos de meles analizados

Os investigadores analizaron 91 mostras de mel recollidas en 2018 e 2019 e cedidas polo Consello Regulador da IXP Mel de Galicia.

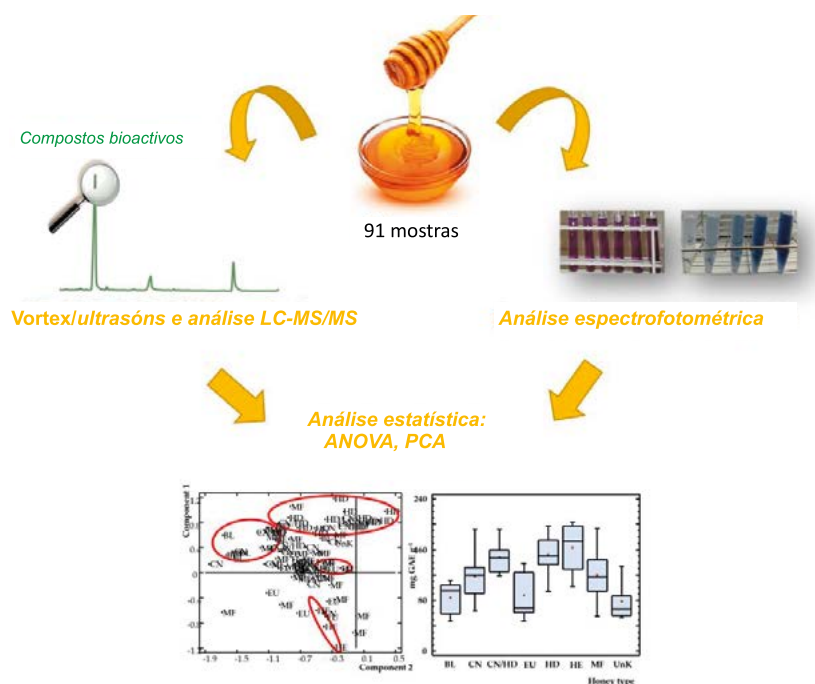
O procedemento para identificar a orixe botánica de cada mel consistiu en identificar o tipo de pole que contiñan, tras ser centrifugadas. Aínda que poida chamar a atención, case un 40 % das mostras de mel contiñan entre 10.000 e

50.000 grans de pole por cada gramo de mel. Identificáronse ata 82 tipos diferentes de pole, e dependendo da súa diversidade en cada mostra, puideron dividirse os meles en **monoflorais** (aproximadamente 45 % dos meles analizados) e **multiflorais** (55 %). Un 16 % dos meles multiflorais eran meles de bosque ou meladas. Dentro dos meles monoflorais as orixes máis frecuentes foron:

- o castiñeiro (*Castanea*, 34 %)
- a mora (*Rubus*, 27 %)
- o eucalipto (*Eucalyptus*, 25 %)
- o breixo (*Erica*, 14 %).

## Optimización da técnica analítica

Para extraer os compostos fenólicos dos meles empregouse unha técnica rápida, de baixo custo e respectuosa co medio, que consistiu nunha extracción con vórtex empregando solventes acuosos, seguida dunha extracción con ultrasóns. Os investigadores ensaiaron diferentes tipos de solventes para elixir o que ofrecese a mellor resolución, que resultou ser unha mestura de auga acidificada e metanol (80:20, v/v). Posto que desexaban unha metodoloxía que puidese miniaturizarse, tamén ensaiaron varios volumes tanto de mel como de solvente, ata decantarse por 0.1 g de mel e 1 ml de solvente.



Resumo gráfico



Nas mostras extraídas deste xeito (vórtex/ultrasóns) e filtradas, os investigadores mediron o contido en **polifenóis totais** (mediante o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu) e a **actividade antioxidante** (mediante a determinación da absorbancia). Por último, a análise de ata **41 compostos fenólicos individuais** presentes nas mostras de mel foi realizada mediante a técnica de cromatografía líquida en combinación con espectrometría de masas (LC-MS/MS).

Antes de obter resultados, os investigadores conseguiron validar o conxunto da súa técnica (extracción con vórtex/ultrasóns + detección con LC-MS/MS) mediante o cálculo da *linearidade*, *exactitude* e *precisión*, así como os *límites de detección*, para cada un dos 41 compostos fenólicos estudados (que poden consultarse no artigo orixinal, en inglés).

## Composición química dos meles analizados

**1) Contido de polifenóis totais (TPC):** As mostras de mel presentaron un rango de polifenóis totais entre 48 e 203 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g. Os valores foron similares para ambos anos analizados (2018 e 2019). Os meles de breixo presentaron os maiores niveis, seguidos dos meles de bosque, mentres que os meles de eucalipto ou mora presentaron os niveis máis baixos.

**2) Actividade antioxidante (AA).** O rango do índice da actividade antioxidante nos

meles analizados foi entre 15 e 1017  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox® (TRE)/100 g, en ambas campañas. As mostras de mel de bosque mostraron os valores máis altos de actividade antioxidante. En xeral, as mostras con altos contidos de polifenóis totais tamén presentaban alta actividade antioxidante, e viceversa.

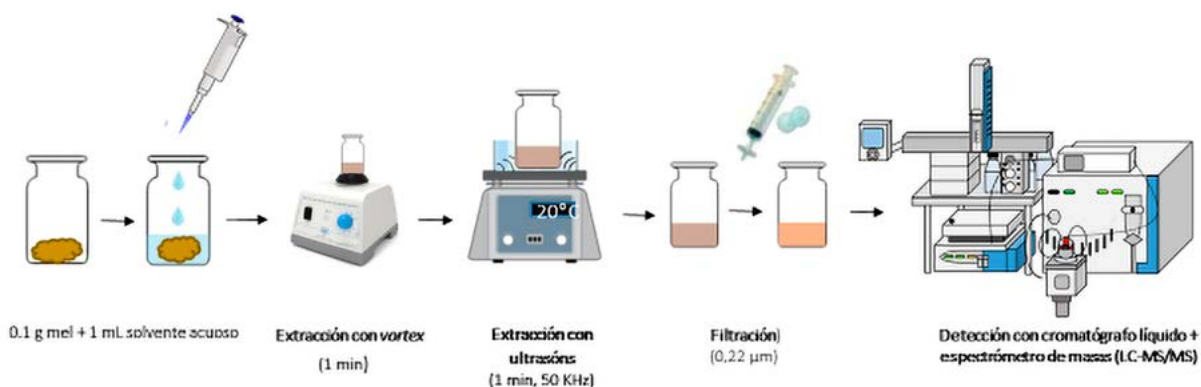
Os resultados obtidos en meles galegos para os parámetros TPC e AA, que acabamos de ver, estaban en consonancia cos de meles doutras orixes xeográficas e, polo tanto, estes dous índices resultaron insuficientes para diferenciar os meles galegos doutros meles.

### 3) Contido de compostos fenólicos individuais.

Os investigadores intentaron ver se algún tipo de mel destacaba pola presenza de algún composto fenólico concreto que non estivese presente, ou estivese en baixa proporción, nos meles doutra orixe botánica e que, polo tanto, servise para diferencialo. O reto era complexo. Dos 41 compostos fenólicos estudados, 22 foron atopados nos meles de 2018 e 25 foron detectados nos de 2019. Os meles con máis compostos fenólicos individuais foron os de breixo (onde destacou o ácido 3-hidroxifenilacético). Tamén os meles de bosque contiñan unha elevada suma de compostos fenólicos individuais. No extremo oposto, os meles de eucalipto tiñan a suma máis baixa de compostos fenólicos individuais. Con este parámetro (suma de todos os compostos fenólicos individuais), os investigadores só conseguiron clasificar os meles en 2 grupos: un grupo formado polos meles de breixo e outro grupo formado por todos os demais meles (mora,



Mostras de mel diluídas antes de proceder á súa análise



Técnica analítica para a detección de 41 compostos fenólicos do mel (Esquema dos autores)

castiñeiro, mestura castiñeiro/mel de bosque, eucalipto, mel de bosque e mel multifloral).

## Marcadores fenólicos dos meles segundo a súa orixe botánica

Nun intento de clasificar os meles segundo o seu perfil fenólico, os investigadores empregaron a técnica da Análise dos Componentes Principais (PCA, polas siglas do nome inglés). Mediante esta técnica, lograron agrupar os meles en 3 grupos diferentes:

- Grupo 1: meles de bosque e meles de mestura castiñeiro/mel de bosque (valores positivos no eixe PC1). Neste grupo o marcador fenólico principal foi o ácido gálico;

- Grupo 2: meles de breixo (valores negativos no eixe PC1). Neste grupo algúns dos marcadores fenólicos foron 4-anisaldehído, ácido 3-hidroxifenilacético e 4-hidroxibenzaldehído;
- Grupo 3: meles de mora (valores positivos no eixe PC2). O ácido cafeico parecía un posible marcador fenólico deste grupo.

## Conclusións

Analizáronse 91 meles galegos de diferentes orixes florais para determinar as diferenzas e correlacións do seu perfil fenólico. Para analizar estes compostos fenólicos desenvolveuse e validouse unha metodoloxía propia e respectuosa co medio, que empregaba pequenos volumes tanto de mostra como de reactivos. Os resultados dos tres parámetros analizados (contido de polifenóis totais, actividade antioxidante e suma dos polipolifenóis individuais) mostraron diferenzas significativas entre os diferentes tipos de meles. Este traballo demostra que os compostos fenólicos, analizados mediante unha técnica que combina a cromatografía líquida coa espectrometría de masas, poden ser unha ferramenta útil para identificar a orixe floral dos meles, e garantir así a súa orixe e calidade. 🍀



Meles con selo do Consello Regulador da IXP Mel de Galicia que garante a súa orixe e calidade