

# Mel Centauri: parâmetros físico-químicos e actividade biológica



24 de maio de 2023

## Organização:

Soraia Falcão (CIMO/IPB)  
Miguel Vilas Boas (CIMO/IPB)  
Joana Amaral Paulo (ISA)  
João Casaca (FNAP)

## Inscrição:

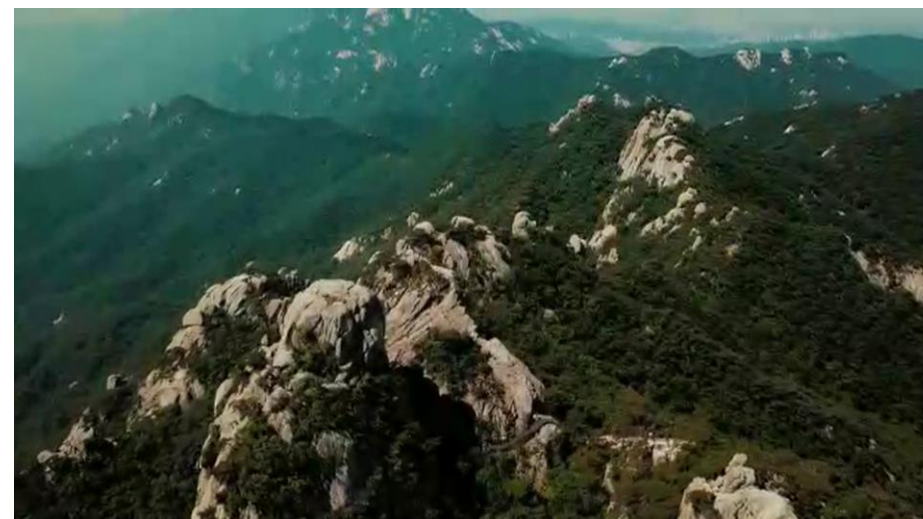
<https://forms.gle/VyKi73LVdto3ZPuJ6>

Qualidade e valorização do mel:  
um desafio para o futuro

# Mel Centauri

**Centauri Cave Nymph Honey - mel de gruta**

**extraído a 2500 metros de altitude acima do nível do mar  
numa gruta profunda obtida por espeleólogos profissionais  
localizado nas montanhas do Cáucaso da Turquia**



# Centauri Honey

Tipo de abelha: ***Apis mellifera Caucasica*** (abelha caucasiana **resistente ao frio e alta altitude**)

**colônia de abelhas** - localizada a 50 Km das residencias humanas mais próximas

longe de outras colônias de abelhas e garantir que a colônia de abelhas permaneça livre de ácaros varroa







A colónia de abelhas tem acesso a plantas endémicas na entrada da gruta um ano antes

favos de mel são carregados nas profundezas das grutas de -20 a -50 metros

**método de envelhecimento:** período de 3 a 12 meses

# Mel Centauri

**Flora:** taxonomia pertencentes a certas regiões fitogeográficas são as seguintes:

50,27% Euro-Siberiana

5,99% Irano-Turaniana

1,04% Mediterrânea

desconhecidos são 42,70%

32 spp. endêmicos (8,3%) e 9 raros (2,3%)

classificadas de acordo com as

categorias de ameaça da **IUCN - International Union for Conservation of Nature**

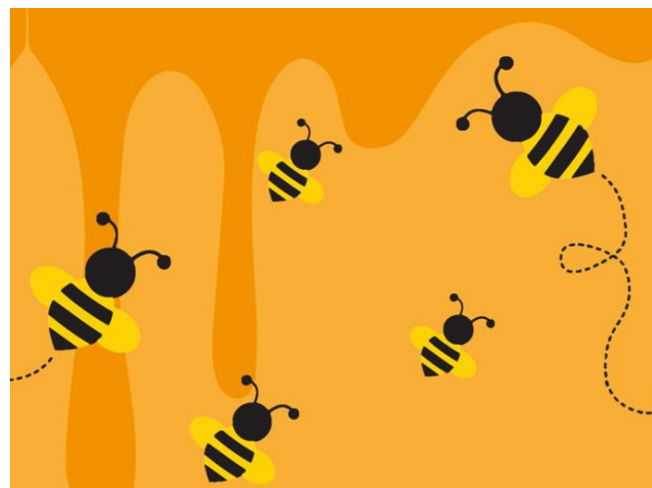


# Mel Centauri



Table 1. Results of Centauri honey analysis

Centauri Honey analysis	Results
Total phenol	77.65 mg gallic acid equivalent/100g
Total flavonoids	18.53 mg quercetin equivalent/100g
Total antioxidant	74.75 mg trolox equivalent/100g



Propriedades Medicinais?

## Qualidade e parâmetros físico-químicos do mel

- Garantia de qualidade do mel
- Instituições internacionais:
  - Comissão Internacional do Mel (IHC)
  - Codex Alimentarius
  - Comissão Europeia
- Sugerem níveis de parâmetros e metodologias de análises para garantir a autenticidade do mel
- Alguns parâmetros neste trabalho:



# Mel Centauri: amostras em estudo



## Color, Moisture and Conductivity tests:

Samples	Color (mm Pfund)	Moisture content (%)	Conductivity (mS.cm <sup>-1</sup> )
A	150 ± 0.00 (Dark amber)	14 ± 1	1.65 ± 0.21
B	63 ± 1.5 (Light amber)	18,1 ± 1	0.44 ± 0.02
C	57 ± 2.5 (Light Amber)	16 ± 1	0.31 ± 0.00
D	31 ± 1 (White)	15 ± 1	0.22 ± 0.00
E	85 ± 1.7 (Light Amber)	16,6 ± 1	0.72 ± 0.01

**Table 1.** Physicochemical parameters: color, humidity, and conductivity include: (mean +/- SD).

## Parâmetros físico-químicos: cor, humidade e condutividade

**Cor:** incolor a castanho escuro (Codex, 2001)

### Sabor

(cores claras - sabor suave,  
mel escuro - sabor mais pronunciado)

**Humidade** - condições climáticas, colheita afeta os parâmetros físico-químicos (viscosidade e cristalização e logo qualidade):

**Geralmente: < 20%**

### Condutividade

relacionada: minerais, proteínas e ác. orgânicos (logo diretamente ligada às cinzas)  
característica - avaliação nutricional

parâmetro útil: diferenciação de diferentes origens botânicas

padrões internacionais:

recomendam max 0,8 mS/cm (mel de néctar)



# Mel Centauri: amostras em estudo



## Acidity test:

Samples	pH initial	Free for pH=7 (meqKg <sup>-1</sup> )	Free for pH=8.3 (meqKg <sup>-1</sup> )	Lactonic (meqKg <sup>-1</sup> )	Total (meqKg <sup>-1</sup> )
A	4.348	9.6 ± 0.6	13.7 ± 0.5	4.1 ± 1.2	13.7
B	3.049	6.4 ± 0.1	8.8 ± 0.1	4.8 ± 0.2	11.2
C	3.100	4.6 ± 0.0	6.8 ± 0.2	3.5 ± 0.1	8.1
D	3.200	4.1 ± 0.2	6.5 ± 0.5	3.5 ± 0.2	7.6
E	3.600	7.2 ± 0.0	9.9 ± 0.2	4.4 ± 0.2	11.6

**Table 2.** pH and acidity of the honey samples include: (mean +/- SD).

**Acidez do mel** - ácidos orgânicos (principalmente ác. glucônico) e avaliação ác. livres presentes e a acidez lactônica - acidez quando o mel é alcalinizado

## **Mel com baixo pH:**

inibe a existência e desenvolvimento de microorganismos:

- importante durante o armazenamento e extração do mel e relacionado com estabilidade, textura e vida de prateleira

Relatórios publicados: **pH entre 3,2 e 4,5** (usado para distinguir entre néctar e mel de melada)

Limites de acidez livre são **especificados nas legislações europeias: inferiores a 50 meq/kg** (representando a inexistência de fermentação indesejada)



**Teor de cinzas**  
**critério de qualidade** para  
a origem botânica e geográfica do mel

## Composição nutricional

**Teor de proteínas** - marcadores de autenticidade e tentativas de adulteração e indicador de qualidade (enzimas, introduzidas pelas abelhas, derivadas do néctar ou influenciadas pelo tempo de armazenamento)

**valor energético e o teor de carbo-hidratos** não têm regulamentação dos limites, mas são parâmetros importantes para a avaliação nutricional e frequentemente obrigatórios na rotulagem

O mel incorpora açúcares simples ou monossacarídeos:  
**frutose e glucose** - majoritários

### Ash, Protein, Energy and Carbohydrates:

Samples	Ash (g/100g)	Protein contente (g/100g)	Energy (Kcal)	Carbohydrates (mg/100g)
A	0.87 ± 0.12	0.6 ± 0.0	340.5 ± 0.5	84.6 ± 0.1
B	0.17 ± 0.01	0.6 ± 0.0	326.9 ± 0.1	81.2 ± 0.0
C	0.10 ± 0.00	0.6 ± 0.0	335.6 ± 0.0	83.3 ± 0.0
D	0.04 ± 0.00	0.6 ± 0.0	339.8 ± 0.0	84.4 ± 0.0
E	0.33 ± 0.01	0.6 ± 0.0	332.3 ± 0.0	82.5 ± 0.0

**Table 4.** Nutritional parameters: ashes, proteins, energy, and carbohydrates include: (mean +/- SD)

# Mel Centauri: actividades antioxidante e antimicrobiana

## Antioxidant activity

### TBARS

Samples	EC <sub>50</sub> ± SDV
A	2.0 ± 0.1
B	>166.7
C	>166.7
D	>166.7
E	4.8 ± 0.2
Positive control (Trolex)	0.0058 ± 0.0006

## Antifungal activity

Samples	<i>Aspergillus brasiliensis</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC
A	>10	>10	10	>10
B	>10	>10	10	>10
C	>10	>10	10	>10
D	>10	>10	10	>10
E	>10	>10	10	>10
Ketoconazole	0.06	0.125	0.5	1

A ≥ 10 mg/mL todas as amostras  
não apresentaram inibição relevante  
contra todas as estirpes em estudo

(Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601 e *Candida albicans* ATCC 10231)

	A		B		C		D		E		Ampicillin (20mg/mL)		Imipenem (1mg/mL)		Vancomycin (1mg/mL)	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<b>Gram-negative bacteria</b>																
<i>Escherichia coli</i>	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	<0.15	<0.15	<0.0078	<0.0078	n.t.	n.t.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	10	>10	<0.0078	<0.0078	n.t.	n.t.
<i>Morganella morganii</i>	5	>10	5	>10	5	>10	5	>10	5	>10	>10	>10	<0.0078	<0.0078	n.t.	n.t.
<i>Proteus mirabilis</i>	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	<0.15	<0.15	<0.0078	<0.0078	n.t.	n.t.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0.5	1	n.t.	n.t.
<b>Gram-positive bacteria</b>																
<i>Enterococcus faecalis</i>	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	2.5	>10	<0.15	<0.15	n.t.	n.t.	<0.0078	<0.0078
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	<0.15	<0.15	<0.0078	<0.0078	n.t.	n.t.
MRSA	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	10	>10	<0.15	<0.15	n.t.	n.t.	0.25	0.5
<i>Propionibacterium acnes</i>	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0.07	0.07	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.



# Mel Centauri: citotoxicidade

## Citotoxicity assay

Samples	AGS	CaCo-2	MCF-7	NCI-H460	PLP2
A	>400	>400	>400	>400	>400
B	>400	>400	>400	>400	>400
C	>400	>400	>400	>400	>400
D	>400	>400	>400	>400	>400
E	>400	>400	>400	>400	>400
<b>Ellipticine</b>	1.23±0.03	1.21±0.02	1.02±0.02	1.01±0.01	1.4±0.1

Samples	Cytotoxic activity (IC50 µg/mL)	
	HaCaT	HFF-1
A	>400	>400
B	>400	>400
C	>400	>400
D	>400	>400
E	>400	>400

Viability of HaCaT (Human keratinocytes) and HFF-1 (Fibroblasts) cells. Samples tested between 400 – 50 µg/mL. IC<sub>50</sub> ± SEM.

Extratos	IC50 em mg/mL									
	MCF-7 (breast)		SW837 (colorectal)		A375 (MELANOMA)		HFF-1 (FIBROBLASTOS normal n=4)			
	Média	SEM	Média	SEM	Média	SEM	Média	SEM		
A	29.00	1.50	7.35	0.55	5.67	0.15	9.25	0.15		
B	39.85	1.15	6.90	1.20	10.43	0.89	48.10	0.90		
C	3.00	0.70	8.45	0.05	6.29	0.67	16.55	1.55		
D	37.70	2.20	17.55	2.45	22.89	1.05	7.65	1.25		
E	43.00	2.00	8.50	0.20	6.61	0.60	6.25	0.85		
DOXO	0.097 +/- 0.01 µg/mL		0.054 +/- 0.01 µg/mL		0.017 +/- 0.005 µg/mL		0.053 +/- 0.02 µg/mL			
	Doxorubicin (DOXO) was used as positive control									

Células de adenocarcinoma colorretal humano SW837, adenocarcinoma de mama MCF-7, melanoma A375 e linhagens celulares de fibroblastos de prepúcio não tumorigênicos HFF-1

Sulforhodamine B (SRB) assay



Outros ensaios em estudo:

- Composição em Açúcares
- Composição em compostos fenólicos
- Actividade antioxidante entre outros ensaios

## Anti-inflammatory activity

Samples	RAW 264.7
A	62.75 ± 6.03
B	17.86 ± 1.45
C	32.74 ± 2.34
D	63.76 ± 3.30
E	>400
Dexametasone	6.3±0.4

# Mel Centauri

## Viabilidade celular

Efeito citotóxico na linha celular de cancro de pulmão Calu-3 após o tratamento com méis A-E (de maneira dependente do tempo 24,48 e 72 h): **o efeito mais fraco foi observado para o mel B**

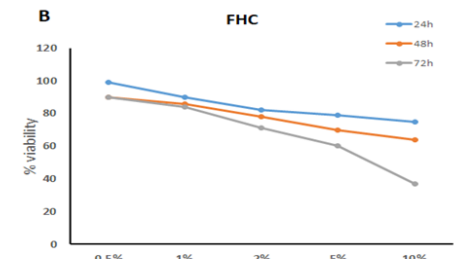
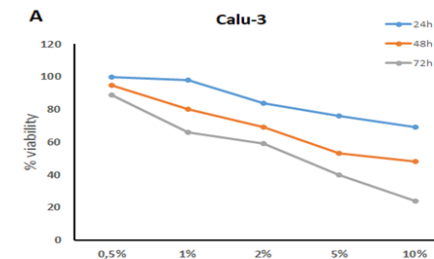
Nenhum efeito citotóxico na linha celular FHC (colon normal linha celular) normal (após 24 h após a exposição) mas os **mel B e C foram os menos ativos** em todos os tempos

Essa percentagem aumentou ao longo do tempo, sendo os mais sensíveis aos efeitos das células após o tratamento do mel após 72 h

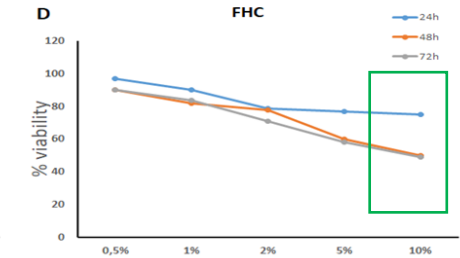
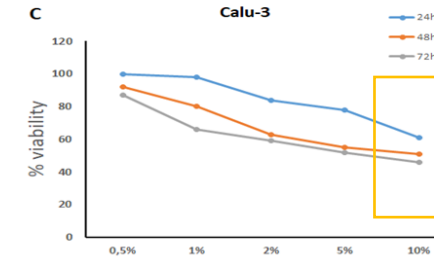
O efeito citotóxico foi avaliado para os méis testados A,B,C,D e E diferentes intervalos de concentração (0,5 -10%) após 24, 48 e 72 horas

nas linha celular de cancro de pulmão (Calu-3) e colon normal linha celular (FHC)

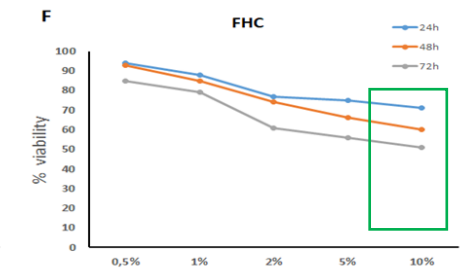
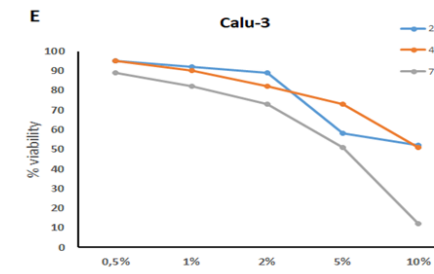
Amostra A



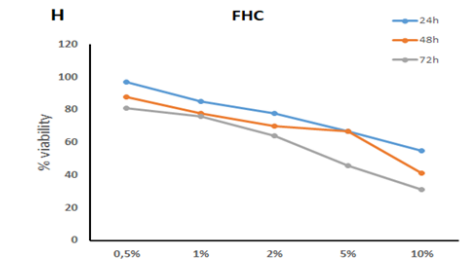
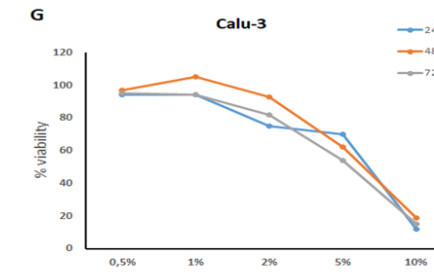
Amostra B



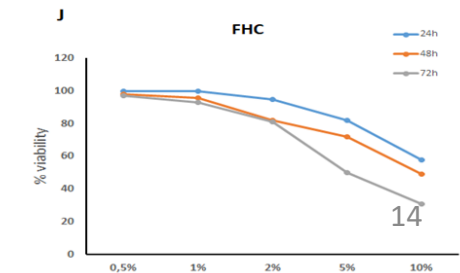
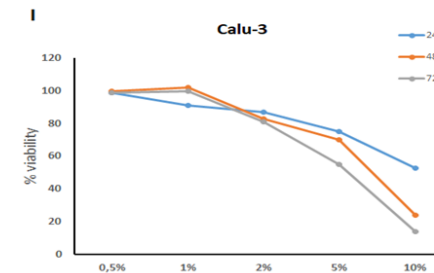
Amostra C



Amostra D



Amostra E

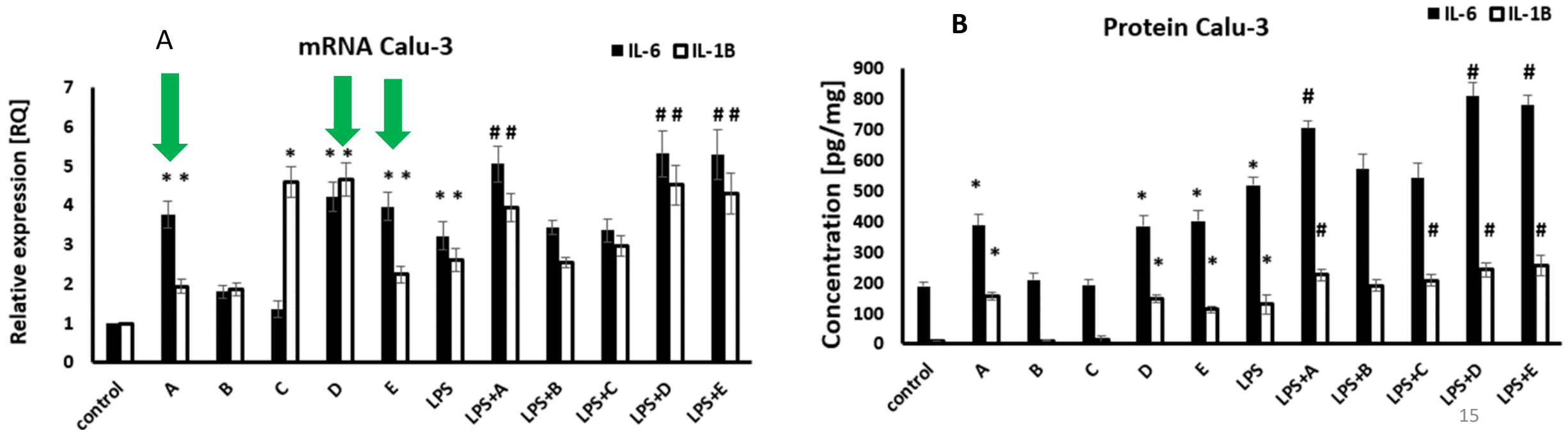




# Mel Centauri

Efeito anti-inflamatório de méis induzidos por LPS em modelo in vitro:  
linha celular de cancro de pulmão- Calu-3

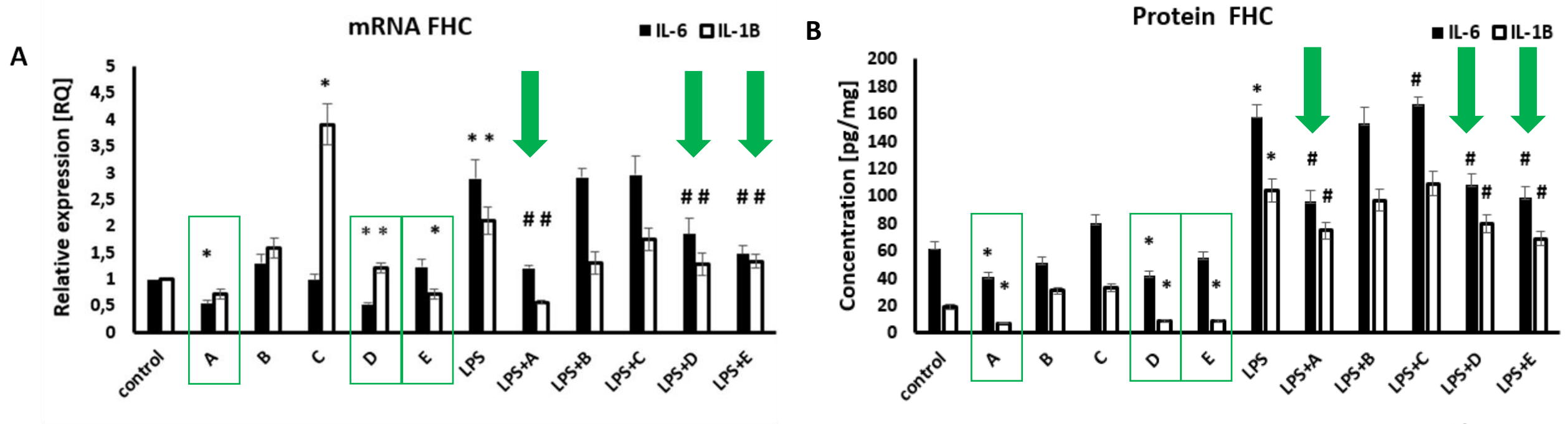
Aumento de citocinas ao nível de genes e proteínas (IL-6 e IL-1 $\beta$ ) em células Calu-3 induzidas por LPS após 24 horas: **efeito forte A, D and E**



# Mel Centauri

Efeito anti-inflamatório de méis induzidos por LPS em modelo *in vitro* na linha celular FHC (colon normal linha celular) normal

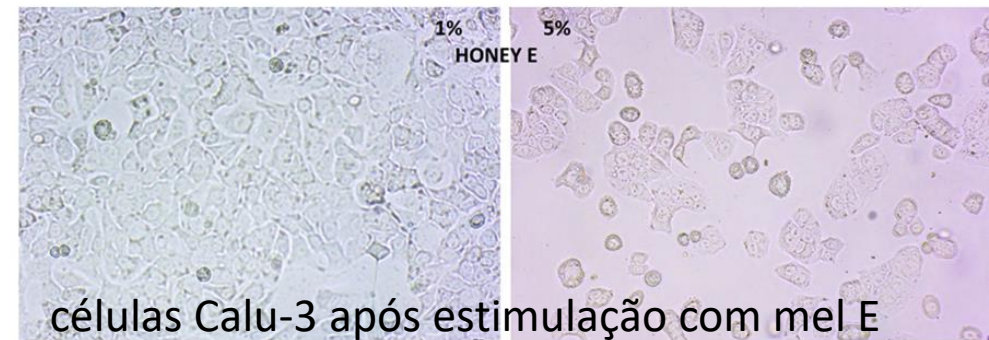
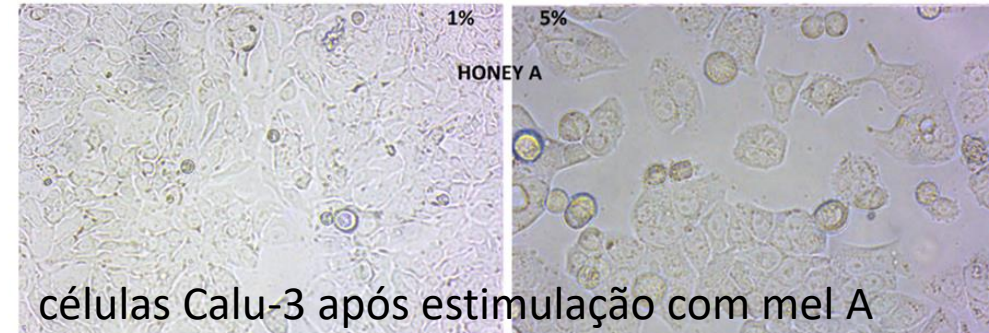
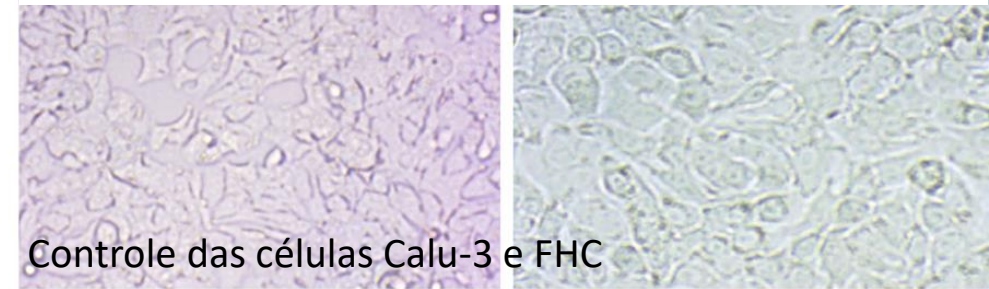
Diminuição no nível das citocinas induzidas por LPS nas células  
O melhor efeito foi observado para os **méis A, D e E**



**Alterações morfológicas após tratamento com mel em células Calu-3 (linha celular de cancro de pulmão) e FHC (colon normal linha celular)**

Observações microscópicas mostraram alterações morfológicas nas células Calu-3 dependendo da concentração de méis A e E (Figura A e B)

Alterações não foram observadas para as células FHC normais na concentração de 1 e 5% (Figura C)





# Mel Centauri: Conclusões

- **Parâmetros físico-químicos e de Qualidade** foram avaliados:
  - Testes de cor, humidade e condutividade (B-E), pH, acidez
- **Bioactividade:**
  - Antioxidante (A e E), antimicrobiana, citotoxicidade, **anti-inflamatória**
- **Actividade anti-inflamatória:**
  - **Nenhum efeito citotóxico** na linha celular FHC (colon normal linha celular)
  - **Efeito anti-inflamatório** de méis **induzidos por LPS** (modelo in vitro na **linha celular FHC**)
    - Diminuição no nível das citocinas induzidas por LPS
    - **efeito** mais efectivo foi observado para os **méis A, D e E**
    - **mel Centauri: potencial agente para melhorar uma resposta imune**
- **Amostra comercial E: a mais bioactiva e com parâmetros físico-químicos mais relevantes**
- **Amostra E e outros derivados:** estudo do consumo de mel Centauri (proteção contra cancro de pulmão e próstata) e previstos **estudos futuros in vivo** para encontrar mais benefícios para a saúde

Amostra E  
comercial



# Agradecimentos



**Márcia Filipe**  
**Eva María Domínguez-Martín**  
**Vera M. Isca**  
**Tiago Granja**  
(Lisbon, Portugal)



**Joana Loureiro**  
**Lucília Saraiva**  
(Porto, Portugal)



**Przemysław Sitarek**  
(Lodz, Poland)



**Miguel José Rodrigues Vilas Boas**  
**Soraia Isabel Domingues Marcos Falcão**



**Ahmet Eren Çakır –**  
**Fundador da Centauri**

## Funding



UIDP/04567/2020

UIDB/04567/2020







<http://cbios.ulusofona.pt/>







+1-469-854-2280/81  
+1-844-395-4102



Lisbon, Portugal &  
Online

REGISTER NOW
















- HOME
- ABOUT ▾
- EXPERTS ▾
- ABSTRACT ▾
- SPONSORS ▾
- REGISTER
- CONTACT US

III Bio.Natural

# Bioactive Natural Products Research Meeting

July 13-14, 2023 | Lisbon, Portugal and Online

## Keynote Speakers

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <br><b>Thomas Efferth</b><br>Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany.         | <br><b>Rohan Davis</b><br>Griffith University Australia                          | <br><b>Cecilia Cagliero</b><br>University of Turin Italy                               |
| <br><b>Haresh S Kalasariya</b><br>Liverpool John Moores University, United Kingdom | <br><b>Bruno Ramos Molina</b><br>Biomedical Research Institute of Murcia, Spain | <br><b>Deniz Tasdemir</b><br>GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research Kiel, Germany |
| <br><b>Learn Han Lee</b><br>Monash University Malaysia                            | <br><b>Christopher Boddy</b><br>University of Ottawa Canada                    | <br><b>Maria Cecilia Carpinella</b><br>Catholic University of Cordoba Argentina      |
| <br><b>Federico Cerri</b><br>University of Milano-Bicocca Italy                   | <br><b>Claudio Ferrante</b><br>D'Annunzio University Italy                     | <br><b>Kamuran Ileri Ozler</b><br>Ankara University Turkey                           |
| <br><b>Annalisa Chiavaroli</b><br>D'Annunzio University Italy                     | <br><b>Maria Loreta Libero</b><br>D'Annunzio University Italy                  | <br><b>Alessandra Acquaviva</b><br>D'Annunzio University Italy                       |



<https://bionaturalconference.com>





ISSN: 2212-4992

# FOOD BIOSCIENCE



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect



Deadlines: First Round Abstract Submission: Before April 24, 2023

Earlybird Registration: Before April 25, 2023



+1-469-854-2280/81  
+1-844-395-4102

Lisbon, Portugal &  
Online

[REGISTER NOW](#)

[HOME](#)

[ABOUT](#) ▾

[SPEAKERS](#) ▾

[ABSTRACT](#) ▾

[SPONSORS](#) ▾

[VENUE](#)

[REGISTER](#)

[CONTACT US](#)

## Awards

**Food Bioscience** Journal is presenting awards to the best oral presenter and best poster presenters to support and encourage young researchers to build their confidence and dedication towards food bioscience.

**Best Oral Presenter** - €350 EURO

**Best Poster Presenter** - €150 EURO

**Certificate** - The winners will receive a certificate issued by Elsevier.

[Submit Your Abstract](#)

Food Bioscience Journal is presenting awards to the best oral presenter and best poster presenters to support and encourage young researchers to build their confidence and dedication towards food bioscience.

Best Oral Presenter - €350 EURO

Best Poster Presenter - €150 EURO

Certificate - The winners will receive a certificate issued by Elsevier.