



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**INFLUENCIA DE LOS FACTORES CLIMATICOS SOBRE EL COLOR  
Y EL PERFIL DE ANTIOXIDANTES EN LAS MIELES TABASQUEÑAS**

**MARTHA MARÍA LÓPEZ GONZÁLEZ**

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**


H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO


2014


La presente **Tesis** titulada: “**Influencia de los factores climáticos sobre el color y el perfil de antioxidantes en las mieles tabasqueñas**”, realizada por la alumna: **Martha María López González**, bajo la dirección del **Consejo Particular** indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


**MAESTRA EN CIENCIAS  
EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:   
DR. JOSÉ HIPÓLITO RODOLFO MENDOZA  
HERNANDEZ

ASESOR:   
DR. JUAN MANUEL ZALDÍVAR CRUZ

ASESOR:   
DR. ÁNGEL SOL SÁNCHEZ

ASESOR:   
DR. IVÁN ALFREDO ESTRADA MOTA

**H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO A 03 DE OCTUBRE DE 2014**

# INFLUENCIA DE LOS FACTORES CLIMÁTICOS SOBRE EL COLOR Y EL PERFIL DE ANTIOXIDANTES EN LAS MIELES TABASQUEÑAS

Martha María López González  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS

## RESUMEN

La miel es un líquido complejo natural, dulce y viscoso producido por las abejas a partir del néctar de flores y exudados de plantas. Debido a que México posee una gran biodiversidad de plantas, las mieles podrían presentar propiedades biológicas relevantes, las cuales se encuentran fuertemente vinculadas con el origen floral, ambiente y factores climáticos. El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antioxidante, el perfil de los compuestos fenólicos, y el origen botánico de las mieles tabasqueñas y cómo influyen los factores climáticos de precipitación y temperatura sobre estos. Se seleccionaron cinco regiones del estado de Tabasco (Chontalpa, Centro, Pantanos, Sierra y Ríos). El contenido total de fenoles solubles, el contenido de flavonoides totales, análisis de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y el color variaron entre regiones. El nivel de fenoles solubles totales y flavonoides totales fue más alto en la miel multifloral de la región del Centro y de la Chontalpa, respectivamente. Cinco grupos de compuestos fenólicos se identificaron en las muestras de miel: cinco ácidos cinámicos, tres ácidos benzoicos, cuatro flavonoles, un flavonol, y una flavona. Los valores de ABTS y DPPH en la miel de cada región fueron 29.0-71.5  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g, y 15.7 a 57.2  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g, respectivamente. El contenido de fenoles solubles totales, flavonoides totales y color, se relacionan estrechamente con la actividad antioxidante de la miel. Los compuestos fenólicos son los responsables de la actividad antioxidante de la miel, encontrándose que la miel de es una buena fuente de antioxidantes. Las características geográficas y climatológicas, tales como la temperatura y la precipitación, tienen influencia sobre la vegetación (flora néctar-polinífera), por lo que la composición química y polínica de la miel puede cambiar y por lo tanto el color y el perfil de antioxidantes pueden ser afectados.

**Palabras claves:** *Actividad antioxidante; Color; Flavonoides totales; Compuestos fenólicos.*

## INFLUENCE OF CLIMATIC FACTORS ON THE COLOR AND PROFILE OF ANTIOXIDANTS IN HONEYS FROM TABASCO.

### ABSTRACT

Honey is a sweet and viscous fluid natural complex produced by bees from the nectar of flowers and plant exudates. In spite of Mexico has a great diversity of plants, honeys could present relevant biological properties, which are strongly linked to the floral origin, environment and climatic factors. The aim of this study was to determine the antioxidant activity, profile of phenolic compounds and botanical origin of honey from Tabasco and how they are influenced by climatic factors as precipitation and temperature. Five regions of the state of Tabasco were selected in order to realize this research: Chontalpa, Centro, Sierra, Pantanos y Rios. As a result it was gotten that the total soluble phenols, total flavonoid content, analysis of phenolic compounds, antioxidant activity and color varied between regions. The level of total soluble phenols and total flavonoids was higher in the multi-flower honey from the region of Center and Chontalpa respectively. Five groups of phenolic compounds were identified in the honey samples: five cinnamic acids, three benzoic acids, four flavonols, a flavonol and a flavone. ABTS and DPPH values in honey from each region were 29.0-71.5 mM Trolox / 100 g, and 15.7 to 57.2 mM Trolox / 100 g, respectively. The content of total soluble phenols, total flavonoids and color, are closely related to the antioxidant activity of honey. Phenolic compounds are responsible for the antioxidant activity of honey, finding that honey Tabasco is a good source of antioxidants. The geographical and climatic features such as temperature and precipitation, influence vegetation (flora nectar-polinífera), so that the chemical composition of honey and pollen can change and therefore the color and antioxidant profile may be affected

**Keywords:** *Antioxidant activity; Color; Total flavonoids; Phenolics*

## DEDICATORIA

### **Mi tesis la dedico con todo amor y cariño.**

Al creador de todas las cosas, a ti Dios, que me has prestado la vida hasta el día de hoy, gracias por darme fortaleza, salud, sabiduría; por ello, con toda la humildad te doy las Gracias.

Con mucho cariño y amor a mi Madre **Candelaria González Vidal** que ha estado conmigo en todo momento. Gracias mamá por darme una carrera y una maestría para mí futuro y por creer en mí, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre nos hemos apoyado, gracias por todo tu amor, confianza, por tus sabios consejos, por tu comprensión, por corregir mis faltas y celebrar mis triunfos. Por ser el pilar de mi vida te agradezco de todo corazón el que hayas estado siempre a mi lado te quiero mucho mamá.

Con mucho amor a **Gerónimo Torres Pérez**, por la confianza y apoyo brindado en este trayecto de mi vida. Me ha demostrado su amor, por, nunca dejarme sola, alentarme en los momentos difíciles, por tantas sonrisas compartidas y momentos maravillosos y por darme la certeza que siempre estás ahí.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los millones de mexicanos (as) que pagan impuestos, quienes a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han afianzado parte de mí formación académica

Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por permitirme realizar mí tesis dentro de sus instalaciones, haberme brindado todas las facilidades necesarias para llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. Juan Manuel Zaldívar Cruz, que confió en mí y me invitó a este proyecto maravilloso. Por su amistad, por tantos momentos compartidos, los académicos que me dejaron tantas enseñanzas y por los no académicos que me permitieron conocerlo y admirarlo; por su paciencia, por mostrarme que en la ciencia puede haber otros caminos, por su compañía, por su voz de aliento cuando las cosas no iban bien por tantos conocimientos y sonrisas compartidas Gracias.

A mis asesores: Dr. José Hipólito Rodolfo Mendoza Hernández, Dr. Ángel Sol Sánchez, Dr. Iván Alfredo Estrada Mota, por todo el apoyo brindado durante el tiempo que duró el desarrollo de esta investigación, por su paciencia y su grata amabilidad hacia mí persona Muchas Gracias.

A la línea prioritaria de Investigación 8 del Colegio de Postgraduados "Impacto y Mitigación de Cambio Climático por las facilidades prestadas para el desarrollo de la presente investigación de tesis.

Al Dr. Enrique Sauri Duch y al M. C. Víctor Manuel Moo Huchín a quienes admiro y respeto por haberme guiado en el estudio de actividad antioxidante y compuestos fenólicos en las mieles, durante mi estancia en el Instituto Tecnológico de Mérida, por su disponibilidad de tiempo y por el apoyo brindado para la realización de mí tesis. Mil Gracias

A los apicultores del Estado de Tabasco, que me apoyaron con las muestras de mieles y espero que este trabajo sea de su utilidad.

A mis profesores del Campus Tabasco que me formaron como Maestra en Ciencias.

A mi amiga Selene Yuliet que siempre ha estado conmigo en las buenas y en las malas a pesar del tiempo y la distancia, por regañar a todos menos a mí, te quiero y aprecio mucho Flaca .

A mis compañeros del PROPAT generación 2012-2014 por su amistad que siempre me brindaron; Felipe, Wilber, Elmer, José María, Sergio Alexander, Carlos, Evelin, Eglá, Lidia y Mirna.

**A TODOS MIL GRACIAS.**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. OBJETIVOS .....	10
2.1. Objetivo general .....	10
2.2. Objetivos específicos .....	10
CAPÍTULO I. COMPUESTOS ANTIOXIDANTES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, COLOR Y ANALISIS MELISOPALINOLÓGICO DE MIELES DE TABASCO, MÉXICO.....	11
1.1. INTRODUCCIÓN .....	12
1.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
1.4. CONCLUSIONES .....	29
1.5. LITERATURA CITADA.....	31
CAPÍTULO II. DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LAS MIELES TABASQUEÑAS .....	36
2.1. INTRODUCCIÓN .....	37
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
2.4. CONCLUSIONES .....	44
2.5. LITERATURA CITADA.....	45
CAPÍTULO III. RELACIÓN DE LOS PERFILES ANTIOXIDANTES EN MIELES TABASQUEÑAS CON EL COLOR, TIPO DE POLEN Y FACTORES CLIMÁTICOS DE PRECIPITACIÓN Y TEMPERATURA. ....	48
3.1. INTRODUCCIÓN .....	49
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
3.4. CONCLUSIONES .....	55
3.5. LITERATURA CITADA.....	57
CAPITULO IV. CONCLUSIONES GENERALES .....	61



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Localización de los sitios de muestreo de las mieles obtenidas del Estado de Tabasco, México.....	14
<b>Tabla 2.</b> Origen floral, contenido de fenoles solubles totales y flavonoides totales de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.....	23
<b>Tabla 3.</b> Contenido de compuestos fenólicos de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México. ....	24
<b>Tabla 4.</b> Actividad antioxidante de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México. ....	26
<b>Tabla 5.</b> Características del color de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.....	27
<b>Tabla 6.</b> Matriz de correlación de los parámetros investigados (coeficientes de correlación de Pearson).....	29
<b>Tabla 7.</b> Localización de los sitios de muestreo de las mieles obtenidas del Estado de Tabasco, México.....	39
<b>Tabla 8.</b> Rango de color para clasificar las mieles según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA). ....	41
<b>Tabla 9.</b> Color de las mieles identificadas de acuerdo a los estándares del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) con equivalencias en mm Pfund.....	41
<b>Tabla 10.</b> Color identificados de acuerdo a los parámetros colorimétricos CIE L*, a*, b* expresado en un ángulo de tono °Hue. ....	43
<b>Tabla 11.</b> Matriz de correlación de los parámetros investigados (coeficiente de correlación de Pearson) expresado con un nivel de confianza del 95%.....	44
<b>Tabla 12.</b> Localización de los apiarios.....	50
<b>Tabla 13.</b> Efecto de la temperatura y precipitación sobre el polen, color y antioxidantes en mieles de Tabasco, México. ....	55

## 1. INTRODUCCIÓN

La miel es un fluido dulce y viscoso. Se ha empleado como agente terapéutico durante miles de años en la medicina tradicional debido a sus propiedades curativas (Pichichero *et al.*, 2009). Sin embargo, hasta hace apenas un siglo, la miel no había sido estudiada de manera científica y no se tenía información acerca de los compuestos responsables de su actividad biológica.

La miel posee propiedades antioxidantes, que se deben principalmente a su composición química. Compuestos como azúcares, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos le confieren las propiedades de inhibir el estrés oxidativo *in vitro* y el crecimiento de microorganismos patógenos (Ferreira *et al.*, 2009; Pichichero *et al.*, 2009). La composición química de la miel depende en gran medida del origen floral y de las condiciones geográficas y climáticas, por lo tanto las propiedades biológicas se ven fuertemente influenciadas por dichos factores (Al *et al.*, 2009).

México es un país biodiverso, lo que implica una amplia gama de material biológico, incluidas flores y plantas que poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas, los metabolitos responsables de estas propiedades podrían ser transportados por las abejas a las mieles por lo que esperaríamos que éstas presenten propiedades biológicas importantes (Pichichero *et al.*, 2009)

Los compuestos fenólicos con actividad antioxidante son capaces de inhibir radicales libres por medio de la donación de electrones y átomos de hidrógeno, asimismo pueden secuestrar metales precursores de reacciones productoras de radicales libres (Al *et al.*, 2009).

Debido a que no existe suficiente información científica de los compuestos responsables de las propiedades biológicas de las mieles tabasqueñas, se planteó el estudio de seis muestras de mieles producidas en diferentes regiones del Estado. (Cárdenas, Huimanguillo, Centro, Tacotalpa, Balancan y Centla). Con el objetivo de determinar los compuestos fenólicos totales, flavonoides, actividad antioxidante, color y la relación que existe entre ellos y los factores climáticos de precipitación y temperatura.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Determinar la influencia de los factores climáticos sobre el perfil de antioxidantes, su relación con el color y el origen botánico de las mieles tabasqueñas.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Clasificar por su color, las muestras de mieles obtenidas de la región de la Sierra, región de la Chontalpa, región de los Ríos y la región de los Pantanos.
- Determinar el tipo de polen, mediante un análisis melisopalinológico.
- Determinar el contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante de las muestras.
- Determinar el perfil de antioxidantes en las mieles por medio de HPLC.
- Relacionar los perfiles antioxidantes con el color, tipo de polen y factores climáticos de precipitación y temperatura.

## **CAPÍTULO I. COMPUESTOS ANTIOXIDANTES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, COLOR Y ANALISIS MELISOPALINOLÓGICO DE MIELES DE TABASCO, MÉXICO.**

M. M. López-González <sup>a</sup>, J.M. Zaldívar- Cruz<sup>a\*</sup>, J.H.R. Mendoza Hernández, A. Sol-Sánchez<sup>a</sup>, E. Sauri-Duch<sup>b</sup>, V.M. Moo-Huchín<sup>c</sup>, I.A. Estrada-Mota<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Colegio de Postgraduados, Campus-Tabasco. Periférico Carlos A. Molina Km 3.5. Carretera Cárdenas Huimanguillo. H. Cárdenas Tabasco. C.P 86500.

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Mérida. Avenida Tecnológico km. 4.5 S/N, Mérida, Yucatán. C.P. 97118

<sup>c</sup>Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el Estado de Campeche. Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal. Calkiní, Campeche. C.P. 24900

### **RESUMEN**

Muestras típicas de miel producidas en cinco regiones diferentes del estado de Tabasco, México fueron analizadas por su color y compuestos antioxidantes. La composición floral (% de polen), el contenido total de fenoles solubles, el contenido total de flavonoides, análisis de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y el color variaron entre regiones. El nivel de fenoles solubles totales y flavonoides totales fue más alto en miel multifloral de la región del Centro y Chontalpa, respectivamente. Cinco grupos de compuestos fenólicos se identificaron en las muestras de miel: cinco ácidos cinámicos, tres ácidos benzoicos, cuatro flavonoles, un flavonol, y una flavona. Valores de ABTS y DPPH en la miel de cada región fueron 29.0-71.5  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g, y 15.7 a 57.2  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g, respectivamente. El contenido de fenoles solubles totales, flavonoides totales y color, se relacionan estrechamente con la actividad antioxidante de la miel. Los compuestos fenólicos son los responsables de la actividad antioxidante de la miel. Nuestros resultados indican que la miel de Tabasco es una buena fuente de antioxidantes.

**Palabras claves:** *Miel; Actividad antioxidante; Color; Multifloral*

## ABSTRACT

Typical samples of honey produced in five different regions of the state of Tabasco, Mexico were analyzed for their color and antioxidant compounds. The floral composition (% of pollen), total soluble phenols, total flavonoid content, analysis of phenolic compounds, antioxidant activity and color varied between regions. The level of total soluble phenols and total flavonoids was higher in multi-flower honey from the region of Central and Chontalpa respectively. Five groups of phenolic compounds were identified in the honey samples: Five cinnamic acids, benzoic acids three, four flavonols, a flavonol, flavone and ABTS and DPPH values in honey from each region were 29.0-71.5 mM Trolox / 100 g, and 15.7 to 57.2 mM Trolox / 100 g, respectively. The content of total soluble phenols, total flavonoids and color, are closely related to the antioxidant activity of honey. Phenolic compounds are responsible for the antioxidant activity of honey. These results indicate that honey Tabasco is a good source of antioxidants.

**Keywords:** *Honey; Antioxidant activity; Color; Multifloral.*

### 1.1. INTRODUCCIÓN

La miel es el producto alimenticio complejo natural producido por las abejas a partir del néctar de las plantas. La composición química de la miel es compleja, y contiene aproximadamente 181 sustancias que incluyen azúcares, proteínas, vitaminas, minerales, enzimas, flavonoides, ácidos fenólicos y compuestos volátiles (Al-Mamary *et al.*, 2002). Los principales componentes de la miel son, la glucosa, fructosa, sacarosa, minerales y proteínas (Kirk y Sawyer, 1991). Se ha demostrado que la miel sirve como una fuente de antioxidantes naturales, que son eficaces en la reducción del riesgo de enfermedades del corazón, cáncer, disminución del sistema inmune, cataratas, procesos inflamatorios, etc (The National Honey Board, 2003). La miel también puede prevenir las reacciones de oxidación de deterioro en alimentos como el pardeamiento enzimático de frutas y hortalizas (Chang *et al.*, 2011), la oxidación de los lípidos en la carne (McKibben y Engeseth, 2002). Los componentes de la miel responsables de su

efecto antioxidante son flavonoides (crisina, pinocembrina, pinobanksina, quercetina, kaempferol, luteolina, galangina, apigenina, hesperetina, miricetina), ácidos fenólicos (cafeico, cumárico, ferulico, ellagico, clorogénico), ascórbico ácido, catalasa, peroxidasa, carotenoides y productos de la reacción de Maillard. La cantidad de estos componentes varía mucho según el origen floral y geográfico de la miel (Bertoncelj *et al.*, 2007). El origen botánico y geográfico de la miel puede ser evaluado a través de un estudio melisopalinológico, que se utiliza para evaluar los tipos de polen presentes en la miel y determinar su fuente floral (Silva *et al.*, 2013). En los últimos años se ha manifestado, un interés creciente en la determinación de la actividad antioxidante de la miel. Se ha observado que el origen botánico de la miel es determinante para su actividad antioxidante, mientras que el procesamiento, manejo y almacenamiento pueden afectar a la actividad antioxidante de la miel sólo en un grado menor (Beretta *et al.*, 2005). También se ha demostrado en varios estudios que el potencial antioxidante de la miel está fuertemente correlacionada con la concentración de fenoles totales presentes en la miel (Beretta *et al.*, 2005). Además, se ha reportado que la actividad antioxidante está también fuertemente correlacionada con el color de la miel, se ha demostrado que las mieles oscuras tienen alto contenido de fenoles totales y consecuentemente mayor actividad antioxidante (Bertoncelj *et al.*, 2007; Beretta *et al.*, 2005). Los compuestos fenólicos se han vuelto más relevantes debido a sus propiedades antioxidantes y sus efectos notables en la prevención de diversas enfermedades asociadas estrés oxidativo como el cáncer (Dai y Mumper, 2010). La apicultura mexicana tiene un alto valor social y económico. Actualmente, México es el quinto mayor productor de miel con cerca de 57.000 toneladas y el tercer mayor exportador del mundo. México exporta miel principalmente a Alemania, Inglaterra y Estados Unidos, pero el problema es que en general los apicultores venden su miel sin una caracterización. El objetivo del presente estudio fue investigar el contenido de compuestos antioxidantes, actividad antioxidante, color y análisis melisopalinológico de miel de Tabasco, México. Esta investigación ayudará a identificar los tipos de miel con propiedades biológicas que podrían promover la apicultura en Tabasco, México, aumentando el valor comercial de estas mieles como fuente de alimento funcional, así como un alimento aditivo.

## 1.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos químicos

El Acido gálico, ácido cafeico, ácido ellágico, ácido transcinámico, ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido sinapico, ácido vanillico, ácido clorogénico, quercetina, catequina, epicatequina, , miricetina, isorhamnetin, apigenina, crisina, kaemperol, reactivo de Folin-Ciocalteu, NaNO<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ABTS (2,2'-Azinobis-3-Etilbenzolina -6-Acido sulfónico), DPPH (2,2'-difeníl-1-picrilhidracilo) y Trolox, se adquirieron de Sigma–Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO). Todos los productos químicos utilizados fueron de grado analítico.

### Muestras

El estudio se realizó en seis muestras (H1-H6) de mieles típicas producidas en cinco regiones del estado de Tabasco, México (Tabla 1). Todas las muestras fueron colectadas de los apicultores locales en 2013 y trasladadas al laboratorio, donde fueron almacenadas a una temperatura de (22 °C) hasta su análisis.

**Tabla 1. Localización de los sitios de muestreo de las mieles obtenidas del Estado de Tabasco, México.**

Muestras de miel	Municipio	Región	Coordenadas
H1	Balancán	Ríos	656284.18´E/1970872.42´N
H2	Cárdenas	Chontalpa	438466.50´E/1988122.71´N
H3	Tacotalpa	Sierra	531896.42´E/1922355.86´N
H4	Huimanguillo	Chontalpa	440247.04´E/1961510.09´N
H5	Centro	Centro	482705.61´E/1986197.97´N
H6	Centla	Pantanos	550043.00´E/2059098.10´N

## **Análisis melisopalínológico**

El procesamiento de las muestras de miel, para extraer el polen, se basó en el método de Von Der Ohe *et al.*, 2004, éste método se llevó a cabo por duplicado y consistió en: pesar 10 g de miel, a los cuales se le agregó 20 ml de agua destilada a 40°C y se disolvió la mezcla, agitando manualmente el tubo de ensaye, hasta homogeneizar. Esta muestra se llevó a una centrifuga durante 20 minutos a 3,000 rpm; la mezcla resultante, se separó mediante decantación, se le agregó 20 ml de agua destilada a 40°C, se volvió a centrifugar por cinco minutos a 3,000 rpm, se decantó y a la fase sólida resultante se le agregó 100 µl de agua destilada. Esta mezcla se dejó en reposo para aplicarle el proceso de la acetólisis siguiendo el método de Erdtman (1969).

## **Análisis cualitativo**

Para la identificación y descripción de los granos de polen, se utilizó un microscopio óptico modelo Motic BA300 con los objetivos 10X, 40X y 100X. La identificación de los granos de polen a diferentes niveles taxonómicos, se realizó por comparación, con la ayuda de claves polínicas (Palacios-Chávez *et al.*, 1991; Martínez-Hernández *et al.*, 1993; Córdova-Córdova *et al.*, 2009; Castellanos-Potenciano *et al.*, 2012)

## **Análisis cuantitativo**

Los porcentajes de cada tipo polínico se calcularon a partir del conteo de 1 500 granos de polen por muestra, en transectos al azar, en el campo visual del microscopio (objetivo 40X) (Louveaux *et al.*, 1987). Especies con porcentajes mayores o iguales al 10% fueron consideradas como importantes.

Las mieles se clasificaron como monoflorales; cuando en su composición se encontró una especie con porcentaje de polen superior o igual a 45% y multiflorales, mixta o polifloral cuando tres o más especies se presentaron con porcentajes iguales o mayores al 10% (Louveaux *et al.*, 1987).



## **Color**

Las características de color fueron evaluadas por el método CIE L\* a\* b\* (Comisión Internacional Iluminación) donde L\* mide luminosidad, tonalidades de rojo y verde ( a\*) amarillo y azul (b\*) a estas se les denomina coordenadas de color las cuales fueron definidas por medio de un espectrofotómetro de esfera portátil modelo SP60 Marca X-Rite. Para ello la miel fue colocada en una caja de Petri de vidrio cubriendo una altura de 10 mm (colocando 40 ml de muestra aproximadamente), las lecturas de color se realizaron por triplicado en mieles líquidas y sin burbujas en diferentes zonas de la caja.

## **Análisis de compuestos antioxidantes**

### **Contenido total de fenoles solubles**

Los fenoles solubles totales se determinaron según Singleton y Rossi (1965). Para la determinación de estos, se tomó una muestra de 50 g de miel, agregando 50 mL de agua destilada y se homogeneizó mezclando manualmente. De esta mezcla se tomaron 50  $\mu$ L y se colocaron en un tubo de ensaye, posteriormente se le agregó 3 mL de agua desionizada y 250  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N). Después de 8 min de reposo (equilibrio), se añadieron 750  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y 950  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O desionizada, esta mezcla se dejó reposar durante 30 min, a temperatura ambiente. Para determinar el contenido de fenoles solubles totales, se utiliza la propiedad de la absorbancia, la cual se leyó con un espectrofotómetro UV-Vis PerkinElmer Lambda 11 a 764 nm. La concentración total de los compuestos fenólicos solubles se calculó utilizando una curva estándar de soluciones acuosas de ácido gálico (0-10 ppm) y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g de miel.

### **Contenido total de flavonoides**

El contenido de flavonoides se determinó de acuerdo con los métodos descritos por González-Aguilar *et al.*, (2007). Para la determinación de estos se tomó una muestra de

50 g de miel, agregando 50 mL de agua destilada y se homogeneizó mezclando manualmente, de esta solución se tomó 1 mL colocándolo en un tubo de ensaye y agregando 4 mL de agua destilada y 300  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  al 5% se mezcló y se dejó reposar por 5 min (equilibrio). Después de equilibrio se añadieron 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% (solución metanólica) la mezcla se dejó reposar durante 1 min y luego se añadieron 2 mL de  $\text{NaOH}$  1 M. y agua destilada hasta completar un volumen de 10 mL y se tomaron lecturas. La absorbancia se determinó a 415 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis PerkinElmer Lambda 11. La concentración de flavonoides totales de miel se calculó utilizando una curva estándar de quercetina (0-60 ppm) y se expresa como mg equivalentes de quercetina (EQ) / 100 g de miel.

### **Analisis de compuestos fenólicos**

Para la determinación de estos se tomó una muestra de 50g de miel y se mezcló con 250 mL de agua acida (pH 2 con HCl) y se filtró a través de algodón para eliminar las partículas sólidas (Ferrerres, *et al.*, 1994). Después, el filtrado se pasó a través de una columna (50 x 2 cm) de Amberlite XAD-2 (tamaño de poro 9 nm; tamaño de partícula 0.3-1.2 mm). Los diversos compuestos fenólicos se mantuvieron en la columna mientras que los azúcares y otros compuestos polares se eluyeron con el disolvente.

La columna se lavó con agua ácida (250 mL, a pH 2) y posteriormente con agua destilada neutra (250 mL, a pH 7). La fracción fenólica se eluyó con metanol (300 mL hasta que no se eluyó más color). Esta fracción se concentró a presión reducida a 40°C usando un evaporador rotatorio (Buchi R-205, Labortechnik, Suiza). El residuo se reconstituyó en 5 mL de metanol. Una alícuota se filtró a través de una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  y alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  se inyectaron en el sistema de HPLC. Se utilizó una columna Nucleosil C18 250 x 4,6 mm i.d., 5  $\mu\text{m}$ , (operado a 25 ° C). La fase móvil consistió en 1% de ácido fórmico (98%) (A) y acetonitrilo (2%) (B), a una velocidad de flujo de 0.5 mL / min. El gradiente de elución fue 2-100% (B) de 0 a 70 min. Los siguientes estándares fueron adquiridos de Sigma Aldrich: ácido gálico, ácido cafeico, ácido ellágico, ácido transcinámico, ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido

sinapico, ácido vanillico, ácido clorogénico, quercetina, catequina, epicatequina, miricetina, isorhamnetin, apigenina, crisina, kaemperol. Se prepararon curvas de calibración para cada estándar.

## **Actividad antioxidante**

### **DPPH (2,2'-difenil-1-picrilhidracilo)**

El ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) se realizó según la técnica de Brand-Williams *et al.*, (1995) con algunas modificaciones. La solución madre se preparó mezclando 2.5 mg de radicales DPPH con 100 mL de metanol. La absorbancia de la solución se ajustó a  $0.7 \pm 0.02$  en 515 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 11. La preparación de la muestra consistió en mezclar 30 g de miel con 30 mL de agua destilada hasta homogeneizar. Posteriormente 3.9 mL de radical DPPH se colocaron en un tubo de ensaye y 100 mL de solución de miel se añadieron se mantuvo en reposo durante 30 min en condiciones de oscuridad. La disminución en la absorbancia a 515 nm se midió en intervalos de 1min durante los primeros 10 min, y luego a intervalos de 5 min hasta que se estabilizó. Basado en un estudio preliminar, el tiempo requerido para obtener lecturas de DPPH de cada muestra de miel fue de 30 min. La curva de calibración se preparó utilizando Trolox como estándar y los resultados se expresan como equivalentes de  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel.

### **ABTS (2,2'-Azinobis-3-Etilbenzolina -6-Acido sulfónico)**

El ensayo ABTS (2,2'-Azinobis-3-Etilbenzolina-6-sulfónico) se realizó de acuerdo con Miller *et al.*, (1993). El catión ABTS se generó a través de la interacción de 19.2 mg de ABTS disueltos en 5 mL de agua de grado HPLC y 88  $\mu\text{L}$  de persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (0.0378 g / mL). El catión ABTS se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h. El ABTS radical activado se diluyó con etanol a una absorbancia de  $0.70 \pm 0.02$  a 734 nm. Después se adicionó de 30  $\mu\text{L}$  de solución de miel (1 g / mL, en agua) a 2970  $\mu\text{L}$  de solución de ABTS diluido, se registraron las

absorbancias después de 7 min. La curva de calibración se prepararon utilizando Trolox como estándar y los resultados se expresan como equivalentes de  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel.

### **Análisis estadístico**

Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como medias  $\pm$  desviación estándar (SD). Una forma de análisis de varianza (ANOVA) fue realizado por el software Statgraphics Plus, versión 2.1 (Manugistic, Inc., Rockville, MD, EE.UU.). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Duncan. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ). Para determinar la correlación entre los métodos de actividad antioxidante y la contribución de los compuestos antioxidantes a la capacidad antioxidante y color, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson.

### **1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El análisis de polen es una herramienta útil para indicar el origen botánico de las mieles. El análisis polínico de las seis muestras (H1-H6) de las mieles típicas producidas en cinco regiones del estado de Tabasco (Tabla 2), muestra que la mayor proporción de las mieles se obtuvieron a partir de una variedad de flores silvestres, incluyendo *Bursera simaruba* L. Sarg; *Cecropia obtusifolia* Bertol; *Cocos nucifera* L., *Stemmadenia donnell-smithii* Rose. Woodson, *Cissus sicyoides* L., *Rumex americanus* Campd; *Cordia alliodora* Ruíz et Pavón Oken, *Mimosa albida* Humb. & Bompl. ex Willd.; *Mimosa pigra* L.; *Heliocarpus appendiculatus* Turcz, *Celtis iguanaea* Jacq. Sarg; *Piper* sp., y algunas especies de la familia Asteraceae. El análisis de polen también muestra que las seis muestras de miel analizadas se consideran una miel multifloral.

## Compuestos antioxidantes

Los polifenoles o compuestos fenólicos, representan el contenido de fenoles totales. Estos son un grupo importante de compuestos que influyen, no sólo en la apariencia, sino también en las propiedades funcionales de la miel.

En el presente trabajo se encontraron diferencias estadísticas ( $p \leq 0.5$ ) en el contenido de fenoles solubles totales en las seis muestras analizadas (Tabla 2). Estas diferencias podrían ser atribuidas a la fuente floral y región geográfica de colección de las muestras de miel. El contenido de fenoles solubles totales determinado en las muestras de miel varió entre 0.23 y 0.55 mg EAG/100 g de miel, con un promedio de  $0.32 \pm 0.10$  mg EAG / 100 g de miel. De todas las muestras de miel analizadas, la muestra H5 (0.55 mg EAG / 100 g) que corresponde a la región Centro (con alta proporción de polen de *Mimosa albida* y *Cecropia obtusifolia*) resultó con mayor contenido de compuestos fenólicos solubles totales, seguido de las muestras de miel H2 (0.36 mg EAG / 100 g), H6 (0.32 mg EAG / 100 g), H3 (0.30 mg EAG / 100 G), H1 (0.23 mg EAG / 100 g) y H4 (0.23 mg EAG / 100 g). Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a lo reportado por Muñoz *et al.*, (2007) para mieles chilenas de diferente origen floral, pero con valores menores a lo reportado por Socha *et al.*, (2011) para mieles comerciales de la región Malopolska de Polonia.

Las seis muestras de mieles multiflorales del área de estudio, mostraron diferencias estadísticas ( $p \leq 0.5$ ) en el contenido de flavonoides totales (Tabla 2). El contenido de flavonoides totales para las mieles analizadas estuvo comprendido entre 1.52 y 3.30 mg EQ / 100 g de miel, con un valor promedio de  $2.12 \pm 0.58$  mg EQ/100 g de miel. La muestra de miel (H2) proveniente de la región de Chontalpa (con alta proporción de polen de *Stemmadenia donnell-smithii*) obtuvo el mayor contenido de flavonoides totales (3.30 mg EQ / 100 g de miel) en comparación a las demás muestras analizadas, mientras que la muestra H1 resultó con menor contenido de este compuestos antioxidantes (1.52 mg EQ / 100 g de miel). La diferencia en el contenido de flavonoides totales entre las muestras de miel analizadas podría ser parcialmente explicada por la

fuerza floral y región geográfica de Tabasco, México. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los reportados por Lianda *et al.*, (2012) para cinco mieles multiflorales y cuatro mieles de cítricos de Brasil (valores que van de 0.17 hasta 4.27 mg EQ /100 g de miel).

Los compuestos fenólicos han llamado la atención debido a sus propiedades antioxidantes y sus efectos notables en la prevención de diversas enfermedades de estrés oxidativo asociado como el cáncer (Dai & Mumper, 2010). Los compuestos fenólicos presentes en la miel provienen a partir del néctar de las flores, polen y propóleos (Silva *et al.*, 2013). En este trabajo se determinaron los compuestos fenólicos individuales por HPLC de seis muestras multiflorales provenientes de diferentes regiones (Tabla 3). Acorde a los resultados obtenidos, se identificaron y cuantificaron 14 compuestos fenólicos en todas las muestras analizadas: cinco ácidos cinámicos (clorogénico, cafeico, sinápico, ferúlico y trans-cinámico); tres ácidos benzoicos (gálico, p-hidroxibenzoico y ellágico); cuatro flavonoles (miricetina, quercetina, kaemferol y isoramnetina); un flavanol (catequina) y una flavona (apigenina). La composición de compuestos fenólicos individuales fue diferente para las seis muestras de miel analizadas (Tabla 3).

Comparando la composición de compuestos fenólicos, de las muestras de miel evaluadas, resultó que la muestra H4 de la región de Chontalpa (con alta proporción de polen de *Cissus sicyoides*) obtuvo el nivel más alto de catequina, con una concentración promedio de 21.4 mg / 100 g de miel (Tabla 3).

La muestra H6 (región Pantanos) caracterizada por su alta proporción de polen de *Cocos nucifera* obtuvo un mayor número de compuestos fenólicos identificados (9 compuestos), seguido de H5 (8 compuestos), H2 (6 compuestos), H3 (5 compuestos), H4 (4 compuestos) y H1 (3 compuestos). La diferencia en la composición de compuestos fenólicos puede ser atribuida a la fuente floral y a la región geográfica.

El ácido gálico se identificó en las muestras de miel H1, H2, H5 y H6 (Tabla 3) con valores de (0.87mg /100 g de miel, 0.63 mg / 100 g de miel, 0.61mg /100 g de miel, 0.48 mg /100 de miel respectivamente). El ácido clorogénico y el ácido sinápico solo fueron identificados en la muestra H2 de la región Chontalpa (caracterizado por su alta proporción de polen proveniente de *Stemmadenia donnell-smithii*) con una concentración promedio de 1.9 mg / 100 g de miel y 0.45 mg / 100 g de miel, respectivamente. El ácido cafeico se identificó solo en dos muestras, H4 y H6, que corresponden a la región Chontalpa (0.13 mg / 100 g de miel) y región Pantanos (0.08 mg / 100 g de miel), respectivamente. El ácido ferúlico fue identificado en mieles H5 (0.03 mg/100 g de miel) y H6 (0.06 mg/100 g de miel). Por otro lado, el ácido ellágico fue identificado en tres muestras de miel (H3, H5 y H6), con valores de 0.75 mg / 100 g de miel, 1.4 mg / 100 g de miel y 0.29 mg / 100 g de miel, respectivamente. El ácido p-hidroxibenzoico fue identificado en dos muestras de miel, H3 (0.10 mg/100 g de miel) y H6 (0.02 mg/100 g de miel). El ácido trans-cinámico se identificó en mieles de la región Chontalpa (H2) (0.04 mg /100 g de miel) y región Pantanos (H6) (0.02 mg/100 g de miel).

La catequina se identificó en todas las muestras analizadas (Tabla 3), con valores entre 1.81 y 21.47 mg / 100 g de miel. La Miricetina se encontró solo en mieles de Balancán de la región de los Ríos (H1) (0.41 mg / 100 g de miel) y Huimanguillo de la región de la Chontalpa (H4) (0.40 mg / 100 g de miel). La quercetina fue identificada en mieles de la región Centro (H5) (0.20 mg/100 g de miel) y región Pantanos (H6) (0.05 mg / 100 g de miel). El Kaempferol se encontró en mieles H3 (0.31 mg / 100 g de miel) y H5 (0.29 mg / 100 g de miel). La apigenina solo se encontró en la miel de la región Centro (H5) (0.07 mg / 100 g de miel). La Isoramnetina fue el segundo compuesto identificado con más frecuencia en las muestras después de la catequina, con valores que oscilan entre 0.4 y 2.69 mg / 100 g de miel. Comparando los resultados obtenidos en este trabajo con la literatura, la composición de compuestos fenólicos individuales de las muestras de miel analizado fue similar a lo reportado para mieles de otras regiones del mundo como la miel de la región Malopolska de Polonia (lima, néctar de mielada, colza, mielada, acacia, trigo silvestre y multiflorales) (Socha *et al.*, 2011), miel monofloral de Cuba

(*Turbina corymbosa*, *Ipomoea triloba*, *Avicennia germinans*, *Gouania polygama* y *Lysiloma latisiquum*) (Álvarez-Suarez *et al.*, 2010) y miel de Brasil (miel multifloral y miel de cítricos) (Lianda *et al.*, 2012).

**Tabla 2. Origen floral, contenido de fenoles solubles totales y flavonoides totales de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.**

Muestra	Origen floral	(% de polen)	Fenoles solubles totales mg EAG/ 100 g miel	Flavonoides totales mg EQ/100 g miel
H1	Asteraceae	(37.8%)	0.23 ± 0.00 a	1.52 ± 0.07 a
	<i>Mimosa albida</i>	(10.2%)		
	<i>Rumex americanus</i>	(19.8%)		
	Otras	(32.2%)		
H2	<i>Bursera simaruba</i>	(10.5%)	0.36 ± 0.02 c	3.30 ± 0.19 d
	<i>Cecropia obtusifolia</i>	(16.5%)		
	<i>Stemmadenia donnell-smithii</i>	(24.0%)		
	Otras	(49.0%)		
	<i>Celtis iguanaea</i>	(10.8%)		
H3	<i>Piper sp.</i>	(10.5%)	0.30 ± 0.05 b	2.31 ± 0.10 c
	<i>Heliocarpus appendiculatus</i>	(28.1%)		
	Asteraceae	(19.2%)		
	Otras	(31.4%)		
H4	<i>Bursera simaruba</i>	(10.2%)	0.23 ± 0.00 a	1.80 ± 0.12 b
	<i>Cecropia obtusifolia</i>	(17.7%)		
	<i>Cissus sicyoides</i>	(23.0%)		
	Otras	(49.1%)		
H5	<i>Cordia alliodora</i>	(11.6%)	0.55 ± 0.02 d	2.25 ± 0.06 c
	<i>Mimosa albida</i>	(28.1%)		
	<i>Mimosa pigra</i>	(14.4%)		
	<i>Cecropia obtusifolia</i>	(24.1%)		
	Otras	(21.8%)		
H6	<i>Cocos nucifera</i>	(17.6%)	0.32 ± 0.04 bc	1.89 ± 0.03 b
	<i>Bursera simaruba</i>	(10.4%)		
	Otras	(72.0%)		

Los valores representan el promedio ± desviación estándar (n=3). Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.5$ ).



**Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.**

Compuestos fenólicos	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Ácido gálico	0.87±0.01	0.63±0.02	n.d	n.d	0.61±0.01	0.48±0.05
Ácido clorogénico	n.d	1.9±0.07	n.d	n.d	n.d	n.d
Acido p-hidroxibenzoico	n.d	n.d	0.10±0.01	n.d	n.d	0.02±0.0
Ácido cafeico	n.d	n.d	n.d	0.13±0.0	n.d	0.08±0.0
Ácido sinápico	n.d	0.45±0.0	n.d	n.d	n.d	n.d
Ácido ferúlico	n.d	n.d	n.d	n.d	0.03±0.0	0.06±0.0
Ácido ellágico	n.d	n.d	0.75±0.0	n.d	1.4±0.17	0.29±0.0
Acido trans-cinámico	n.d	0.04±0.0	n.d	n.d	n.d	0.02±0.0
Catequina	10.35±0.53	1.81±1.07	2.88±0.0	21.4±0.4	2.9±0.0	2.7±0.0
Miricetina	0.41±0.0	n.d	n.d	0.40±0.05	n.d	n.d
Quercetina	n.d	n.d	n.d	n.d	0.20±0.0	0.05±0.0
Kaemperol	n.d	n.d	0.31±0.01	n.d	0.29±0.01	n.d
Apigenina	n.d	n.d	n.d	n.d	0.07±0.0	n.d
Isorhamnetin	n.d	2.39±0.01	2.69±0.07	0.95±0.04	0.66±0.01	0.4±0.0

n.d: No detectado

Los valores representan el promedio± desviación estándar (n=3).

Los valores se expresan en mg / 100 g de miel.

### Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los alimentos está determinada por una mezcla de diferentes antioxidantes con diferentes mecanismos de acción; Por lo tanto, la capacidad antioxidante de los productos alimentarios debe ser evaluado con una variedad de métodos que pueden hacer frente a los diferentes mecanismos (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008). Los métodos más utilizados son los radicales ABTS y DPPH (Almeida *et al.*, 2011). Para este efecto, dos sistemas oxidantes se han seleccionado en el presente trabajo DPPH y ABTS, los cuales se basan en la medición de la degradación del color.

Actualmente, se ha puesto mucha atención al potencial antioxidante de la miel como un parámetro de calidad. Este parámetro se correlaciona estrictamente a la presencia de inhibidores de radicales de oxígeno (Lachman *et al.*, 2010).

La Tabla 4 muestra la capacidad antioxidante de la miel multifloral, determinado como equivalentes de Trolox ( $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel) utilizando los ensayos ABTS y DPPH. Todas las muestras de miel exhibieron potencial antioxidante en ambos métodos.

Cuando se utilizó el ensayo DPPH, la muestra de miel con mayor actividad antioxidante correspondió a H5 (57,2  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel) (región del Centro) en comparación con las otras muestras de miel estudiadas. Los valores de actividad antioxidantes en las muestras de miel, usando el ensayo DPPH, son similares a los reportados para mieles Serbias de *Urtica dioica* (49.0  $\mu\text{M}$  Trolox/100 g de miel) y para mieles de *Tilia platyphyllos* (29.0  $\mu\text{M}$  Trolox/100 g de miel) (Gorjanovic *et al.*, 2013).

La actividad antioxidante de las muestras de miel evaluadas con el ensayo de ABTS fue mayor en H2 (71,5  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel), H3 (64,5  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel), y H5 (69,5  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g de miel) (Región de la Chontalpa, Sierra y Centro, respectivamente) en comparación con las otras muestras de miel analizadas. Los valores encontrados en este trabajo son superiores a lo reportado para cinco muestras de miel multifloral y nueve muestras de miel monofloral (valores que van de 8.19 hasta 25  $\mu\text{M}$  Trolox / 100 g) (Rodríguez *et al.*, 2012).

**Tabla 4. Actividad antioxidante de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.**

Muestras de miel	DPPH	ABTS
	$\mu\text{M Trolox}/100 \text{ g de miel}$	$\mu\text{M Trolox}/100 \text{ g de miel}$
H1	20.2 $\pm$ 5.2 a	36.9 $\pm$ 1.9 ab
H2	20.6 $\pm$ 7.5 a	71.5 $\pm$ 0.0 c
H3	15.7 $\pm$ 1.3 a	64.5 $\pm$ 8.1 c
H4	16.8 $\pm$ 3.3 a	38.9 $\pm$ 3.1 ab
H5	57.2 $\pm$ 6.7 b	69.5 $\pm$ 2.0 c
H6	23.9 $\pm$ 2.4 a	29.0 $\pm$ 2.1 a

Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar (n=3). Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,5$ ).

## Color

El color es la primera propiedad sensorial percibida por los consumidores, que podrían determinar si se van a comprar el producto o no. Sin embargo, hay poca información acerca de la aceptabilidad del color de la miel por el consumidor. Bogdanov *et al.*, (2004) reportaron que en Alemania, Austria y Suiza, aprecian las miles oscuras. El color de la miel es uno de los atributos más variables y es determinado principalmente por su origen botánico, pero también su color puede variar por su contenido de cenizas, la temperatura, y tiempo de almacenamiento, así como la presencia de pigmentos antioxidantes como los carotenoides y flavonoides (Terrab *et al.*, 2004).

Los valores de luminosidad ( $L^*$ ), rojo ( $a^*$ ) y amarillo ( $b^*$ ) de mieles multiflorales se muestran en la Tabla 5. Estos resultados muestran que la luminosidad, las coordenadas

de color rojo y amarillo variaron entre las diferentes regiones. Las muestras de miel con valor de  $L^* > 50$  son mieles más claras, mientras que las muestras que tienen valor de  $L^* < 50$  son mieles oscuras (González-Miret *et al.*, 2005). Teniendo en cuenta esta clasificación, las mieles de Tabasco se pueden colocar en el grupo de las mieles oscuras (valores 36,9 - 42,9). Los valores de  $a^*$  variaron desde 5.0 hasta 8.5 y los valores de  $b^*$  de 8.2 a 26, por lo que es evidente que todas las muestras oscuras contenían componentes rojo y amarillo.

**Tabla 5. Características del color de miel de diferentes regiones del Estado de Tabasco, México.**

Muestras de miel	Parámetros de color		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
H1	40.9±0.4	6.7± 0.1	24.5± 0.1
H2	38.1± 0.0	8.5± 0.0	19.3± 0.1
H3	42.2± 0.1	7.0±0.0	25.4± 0.2
H4	42.9± 0.1	5.1± 0.0	26.0± 0.1
H5	36.9± 0.3	8.0±0.2	16.3± 0.7
H6	38.5± 0.3	5.0± 0.1	8.2± 0.3

Los valores representan el promedio ± desviación estándar (n=3).  
Valores expresados en unidades CIE L a\* b\*

### **Coefficiente de correlación de Pearson (r)**

La correlación entre los parámetros analizados de las muestras de miel multifloral provenientes de cinco regiones del Estado de Tabasco, México se muestra en la (Tabla 6). Acorde a los resultados, se encontró una correlación estadística positiva baja entre el contenido de fenoles solubles totales y el contenido de flavonoides totales ( $r= 0.38$ ;  $P\leq 0.05$ ). Este resultado es similar a lo reportado por Meda *et al.* (2005) para 27 muestras de miel multifloral de Burkina Faso ( $r= 0.11$ ), pero el valor de la correlación

encontrado en este trabajo resultó menor a lo reportado por Álvarez-Suarez *et al.* (2010) para algunas mieles monoflorales cubanas ( $r=0.83$ ;  $P\leq 0.05$ ). El coeficiente de correlación bajo reportado en este trabajo, puede atribuirse parcialmente al método de Folin-Ciocalteu que se utilizó para determinar el contenido de fenoles solubles totales, ya que éste puede sobreestimar el contenido de los fenoles presentes, debido a que los compuestos del reactivo pueden reaccionar con los grupos químicos de los aminoácidos y las proteínas; mientras que el método de cloruro de aluminio, utilizado para determinar el contenido de flavonoides, tiende a sobreestimar su contenido, porque éste compuesto es específico sólo para flavonas y flavonoles y no para flavononas como reporta Chang *et al.*, (2002). La actividad antioxidante medida por los ensayos ABTS y DPPH presentó una correlación positiva con el contenido total de fenoles solubles ( $r= 0.60$  y  $r= 0.84$ ,  $P \leq 0.05$ , respectivamente). Hubo una relación significativa entre la actividad antioxidante medido con el método de ensayo de ABTS y flavonoides totales ( $r= 0.74$ ). Estos resultados sugieren que los fenoles solubles totales pueden ser los factores que más contribuyen a la actividad antioxidante en las muestras de miel estudiadas en esta investigación. Varios estudios han reportado una alta correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Lachman *et al.*, 2010; Socha *et al.*, 2011.).

Se encontró correlación negativa entre el contenido de fenoles solubles totales, la actividad antioxidante medida por el ensayo DPPH y la luminosidad ( $L^*$ ) de la miel multifloral de Tabasco ( $r=-0.76$  y  $r=-0.70$ , respectivamente), lo cual indica que el contenido de fenoles solubles totales y la actividad antioxidante evaluada con el ensayo DPPH se incrementa con el color oscuro de la miel, lo que concuerda con los reportes de autores como Beretta *et al.*, (2005) y Bertoncej *et al.*, (2007).

El color rojo ( $a^*$ ) se correlacionó positivamente con los flavonoides ( $r= 0.51$ ), fenoles solubles totales ( $r= 0.44$ ) y la actividad antioxidante medida con el ensayo ABTS ( $r= 0.70$ ). El amarillo ( $b^*$ ) se correlacionó negativamente con los fenoles solubles totales ( $r= -0.76$ ) y la actividad antioxidante medidos con el ensayo DPPH ( $r= -0.70$ ). Una correlación positiva se obtuvo entre los dos ensayos (ABTS y DPPH) utilizados para

medir la actividad antioxidante en las muestras de miel estudiadas ( $R= 0,40$ ,  $P \leq 0,05$ ), lo que indica que las muestras de miel mostraron actividades comparables en ambos ensayos.

**Tabla 6. Matriz de correlación de los parámetros investigados (coeficientes de correlación de Pearson).**

		Compuestos fenólicos solubles totales	Flavonoides Totales	DPPH	ABTS	L*	a*	b*
Compuestos solubles totales	fenólicos	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides Totales		0.38*	-	-	-	-	-	-
DPPH		0.84*	0.136	-	-	-	-	-
ABTS		0.60*	0.74*	0.40*	-	-	-	-
L*		-0.76*	-0.38	-0.70*	-0.32	-	-	-
a*		0.44*	0.51*	0.35	0.70*	-0.50*	-	-
b*		-0.76*	-0.32	-0.70*	-0.24	0.96*	-0.37	-

\*Significativo  $P \leq 0.05$ . Numero de muestras  $n = 6$ .

#### 1.4. CONCLUSIONES

En este estudio se evaluaron los componentes antioxidantes, compuestos fenólicos y color de seis muestras de miel de Tabasco. El análisis de polen mostró que las seis muestras de miel se consideran una miel multifloral.

El estudio también mostró que las muestras de miel contienen cantidades de fenoles solubles totales, flavonoides totales, actividad antioxidante, y compuestos fenólicos; y son diferentes para cada muestra ya que estos dependen principalmente de la fuente floral y la región geográfica.

Los resultados de la correlación indican que los compuestos fenólicos son el componente responsable de la actividad antioxidante y se atribuye principalmente a los flavonoides presentes en la miel.

El contenido de fenoles solubles totales, flavonoides totales y color, se relacionan estrechamente con la actividad antioxidante de la miel. El contenido de fenoles totales solubles y la actividad antioxidante evaluada con el ensayo DPPH se incrementa con el color obscuro de la miel.

La miel de la región Centro, que contiene una alta proporción de polen obtenido de *Cocos nucifera*), mostró valores más altos en el contenido de fenoles solubles totales y actividad antioxidante

## AGRADECIMIENTOS

Martha María López-González es becaria del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y alumna de la Maestría en Ciencias en Producción Agroalimentaria en el Trópico del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. A las Líneas Prioritarias de Investigación del Colegio de Postgraduados, LPI 8: “Impacto y Mitigación del Cambio Climático” por el apoyo financiero para la realización de esta Investigación. Los autores agradecen al Instituto Tecnológico de Mérida las facilidades prestadas para el desarrollo de la Investigación por el uso de su laboratorio.

### 1.5. LITERATURA CITADA

Al-Mamary, M., Al-Meerri, A., & Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22, 1041–1047.

Almeida, M. M., Sousa, P. H., Arriaga, A. M., Prado, G. M., Magalhães, C. E., Maia, G. A., Lemos, T. L. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44, 2155–2159

Alvarez-Suárez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., & Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2490–2499.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Maffei-Facino, R. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 185–191.



- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105, 822–828.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano-Oddo, L. (2004). Physicochemical method for the characterization of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35, S4–S17.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- Castellanos-Potenciano BP, Ramírez-Arriaga E, Zaldívar-Cruz JM. (2012). Análisis del contenido polínico de mieles producidas por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en el estado de Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana* 28(1): 13-36.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178–182.
- Chang, X., Wang, J., Yang, S., Chen, S., & Song, Y. (2011). Antioxidative, antibrowning and antibacterial activities of sixteen floral honeys. *Food & Function*, 2, 541–546.
- Córdova-Córdova, C., E. Ramírez-Arriaga, E. Martínez-Hernández & J. M. Zaldívar-Cruz.(2013). Caracterización botánica de la miel de abeja (*Apis mellifera* L.) de cuatro regiones del estado de Tabasco, México, mediante técnicas melisopolinológicas. *Universidad y Ciencia* vol.29 no.2, pp 163-178.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis, and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313–7352.
- Erdtman, G.(1969). *Handbook of Palynology - An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores*. Munksgard, Copenhagen.

- Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., Soler, C., García-Viguera, C., Ortiz, A., & Tomás-Lorente, F. (1994). A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie*, 25, 21–30.
- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72, s197–s202.
- González-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M. A., & Heredia, F. J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2574–2580.
- Gorjanović, S. Z., Álvarez-Suárez, J. M., Novaković, M. M., Pastor, F. T., Pezo, L., Battino, M., & Sužnjević, D. Z. (2103). Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30, 13–18.
- Iurlina, M. O., Saiz, A. I., Fritz, R., & Manrique, G. D. (2009). Major flavonoids of Argentinean honeys. Optimization of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys. *Food Chemistry*, 115, 1141–1149.
- Kirk, R. S., & Sawyer, R. (1991). Herbs and spices, salt. *Composition and Analysis of Foods*, 9th edition. Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, pp. 391–429
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Sýkora, J., Karban, J., Orsák, M., & Rygerová, B. (2010). Contents of major phenolic and Flavonoid Antioxidants in Selected Czech Honey. *Czech Journal of Food Sciences*, 28, 412–426.
- Lianda, R. L. P., Sant´ana, L., Echevarria, A., & Castro, R. N. (2012). Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23, 618–627.

- Louveaux, J., Maurizio, A. & G. Vorwohl. 1978. Methods of Melissopalimology. *Bee World*, 59: 39-157.
- Martínez-Hernández, J., E. Cuadrillero, O. Téllez, E. Ramírez-Arriaga, S. Sosa, J. Melchor, M. Medina & M. Lozano.(1993). *Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel en la región del Tacaná, Chiapas, México*. Instituto de Geología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 105 pp.
- McKibben, J., & Engeseth, N. J. (2002). Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 592–595.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571–577.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407–412.
- Muñoz, O., Copaja, S., Speisky, H., Peña, R. C., & Montenegro, G. (2007). Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. *Química Nova*, 30, 848–851.
- Palacios-Chávez, R., B. Ludlow-Wiechers y R. Villanueva G. 1991. *Flora palinológica de la reserva de la biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*. Centro de investigaciones de Quintana Roo, México. 321 p.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41, 274–285.

- Rodríguez, B. A., Mendoza, S., Iturriga, M. H., & Castaño-Tostado, E. (2012). Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *Journal of Food Science*, 71, C121-C127.
- Silva, T. M. S., Santos, F. P., Rodrigues, A. E., Silva, E. M. S., Silva, G. S. S., Novais, J. S., Santos, F., & Camara C. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29, 10–18.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Jr., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T. & Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 528–534.
- Terrab, A., González-Miret, L., & Heredia, F. J. (2004). Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry. *European Food Research and Technology*, 218, 488–492.
- The National Honey Board (2003). Honey – Health and therapeutic qualities. 390 Lashley Street Longmont. [www.nhb.org](http://www.nhb.org).
- Von Der Ohe W., Persano Oddo L., Piana M.L., Morlot M., Martin P. (2004) Harmonized methods of melissopalynology, *Apidologie* (Suppl. 1), S18– S25.

## **CAPÍTULO II. DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LAS MIELES TABASQUEÑAS COLOR DETERMINATION IN HONEYS FROM TABASCO STATE, MEXICO ANÁLISIS DEL COLOR DE MIELES TABASQUEÑAS**

M. M. López-González <sup>a</sup>, J.M. Zaldívar- Cruz<sup>a\*</sup>, J.H.R. Mendoza-Hernández, A. Sol-Sánchez<sup>a</sup>, E. Sauri-Duch<sup>b</sup>, V.M. Moo-Huchín<sup>c</sup>, I.A. Estrada-Mota<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Colegio de Postgraduados, Campus-Tabasco. Periférico Carlos A. Molina Km 3.5. Carretera Cárdenas Huimanguillo. H. Cárdenas Tabasco. C.P 86500.

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Mérida. Avenida Tecnológico km. 4.5 S/N, Mérida, Yucatán. C.P. 97118

<sup>c</sup>Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el Estado de Campeche. Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal. Calkiní, Campeche. C.P. 24900

### **RESUMEN**

Para determinar el color de las muestras de miel, se utilizó el método CIE L\* a\* b\*(Commission Internationale de l'Eclairage), el cual consiste en analizar las muestras en tres vertientes; luminosidad (L), tonalidades de rojo y verde (a\*); amarillo y azul (b\*), a estas vertientes se les denomina coordenada, la determinación se realizó por medio de espectrofotometría y para determinar las unidades Pfund se utilizó un colorímetro Hanna. El método CIE L\* a\* b\* mostró valores de L\* comprendidos entre 36.96 y 42.90 unidades CIE L\* a\* b\*, mientras que para la intensidad del color rojo-verde (a\*) y amarillo-azul (b\*) estuvieron entre  $5.01 \pm 0.11$  a  $8.52 \pm 0.03$  y  $16.36 \pm 0.75$  a  $26.07 \pm 0.17$  unidades CIE L\* a\* b\*, respectivamente. Estos valores indican que las mieles del estado de Tabasco, presentan una gran proporción de colores rojo y amarillo. Por otro lado, empleando el colorímetro Hanna, el color varió desde 46.66 hasta 68 mm Pfund y las muestras se clasificaron en 2 grupos: ámbar extra claro y ámbar claro, según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).

**Palabras clave:** *Color, Miel, Comparador Pfund, CIE L\* a\* b\*, Tabasco*

## ABSTRACT

The CIE L \* a \* b \* (Commission Internationale de l'Eclairage), method was used to determine the color of the honey samples, which consists in analyzing the samples in three areas; luminosity (L), and shades red and green (a \*); yellow and blue (b \*), these sides are called coordinate, the determination was performed by spectrophotometry and for determining the units Pfund it was used Hanna colorimeter. The CIELAB method for honeys sampled showed values L\* between 36.96 and 42.90 CIELAB units, and the intensity of the red-green (a \*) and yellow-blue (b \*) values between  $5.01 \pm 0.11$  to  $8.52 \pm 0.03$  and  $16.36 \pm 0.75$  to  $26.07 \pm 0.17$  CIELAB units, respectively. These values indicate that the samples of honey Tabasco state, have a high proportion of red and yellow colors. Furthermore, using the colorimeter Hanna, honey color ranged from 46.66 to 68 mm Pfund (USDA classification). Samples were classified into 2 groups as an extra light amber and light amber.

**Keywords:** *Color; Honey; Comparison Pfund; CIE L\* a\* b\*; Tabasco*

## 2.1. INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia dulce natural producida por las abejas a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje (Bertoncelj *et al.* 2007). La composición química de la miel depende en gran medida de los tipos de flores visitadas por las abejas durante la recolección de néctar y polen, así mismo estas especies vegetales, dependen de las condiciones regionales del clima, que prevalecen en los sitios donde se encuentran localizados los apiarios (Ciappini *et al.* 2013). La producción de miel en México es de una gran tradición (Viuda-Martos *et al.* 2010). Ya que desde hace más de 100 años es utilizada como edulcorante y por sus propiedades medicinales, México es el quinto productor de miel en el mundo, después

de China, Argentina, EE.UU. y Turquía. El estado de Tabasco, produce 235.5 toneladas y se encuentra en los últimos lugares a nivel nacional (INEGI, 2012). Una de las características más atractivas para el consumidor, es el color, sin embargo este es muy variable, ya que depende del origen botánico de las plantas donde pecorean las abejas; composición del néctar así como de las condiciones del sitio de almacenamiento después de la cosecha, en donde la temperatura y tiempo de almacenamiento juegan un papel importante. (Bogdanov *et al.* 2004, Terrab *et al.* 2004, Delmoro *et al.* 2010). Desde el punto de vista comercial el color tiene gran importancia, ya que su precio y el grado de aceptación por el consumidor dependen, en parte, del mismo. Por ejemplo, consumidores de Norteamérica prefieren mieles claras, de tonos agua, extra blanco y blanco (entre 0 y 34 mm Pfund), mientras que los europeos consumen mieles más oscuras, con tonos ámbar extra claro, ámbar claro, ámbar y ámbar oscuro (entre 34 y 114 mm Pfund) (Delmoro *et al.* 2010). En la actualidad existen dos procedimientos para medir color: sensorial e instrumental (Terrab *et al.* 2004). Los métodos más utilizados se basan en la comparación óptica, usando simples instrumentos como el colorímetro Pfund, propuesto por Sechrist (1925) (Fell 1978) o el comparador Lovibond, adoptado por la AOAC (2000) (Aubert y Gonnet 1983). Los valores de estos comparadores dan una medida de la intensidad del color, pero sólo a lo largo del tono de color ámbar normal de la miel (Bogdanov *et al.* 2004). Los métodos de triple estímulo (por ejemplo, el espacio CIE L\* a\* b\*) proporcionan más información sobre el color de la miel que el grado Pfund (Aubert y Gonnet 1983, Terrab *et al.* 2003, Bogdanov *et al.* 2004, Bertoneclj *et al.* 2007; González-Miret *et al.* 2007). El primer intento de utilizar el sistema CIE L\* a\* b\* de medición para evaluar el color de la miel fue de de Aubert y Gonnet (1983). Los autores llegan a la conclusión de que este método debe ser un sistema de investigación estándar para una clasificación más precisa de las mieles, aunque; el índice de Pfund podría permanecer, debido a su facilidad en el uso práctico, como la referencia comercial. El color es la primera propiedad sensorial percibida por los consumidores, que podría determinar si van a comprar el producto o no. Sin embargo, hay poca información acerca de la aceptabilidad del color de los consumidores de miel. El objetivo de este trabajo fue: caracterizar el color de las mieles tabasqueñas mediante dos métodos diferentes; Escala Pfund y CIE L\* a\* b\*.

## 2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área de estudio.

Las muestras colectadas fueron proporcionadas por apicultores, el muestreo se realizó de Enero a Diciembre del 2013, en las cinco regiones fisiogeográficas del estado de Tabasco (Pantanos, La Chontalpa, La Sierra, Los Ríos y Centro), (Tabla 7). Éstas fueron almacenadas en oscuridad hasta su análisis e identificación.

**Tabla 7. Localización de los sitios de muestreo de las mieles obtenidas del Estado de Tabasco, México**

Apiarios	Municipios	Región	Coordenadas	
Campo Experimental (Km 21) José Mercedes Gamas 2da. Sección	Cárdenas	Chontalpa	438466.50´E	1988122.71´N
	Huimanguillo	Chontalpa	440247.04´E	1961510.09´N
Plátano y Cacao 1ra. Sección Francisco I. Madero 2da. Sección	Centro	Centro	482705.61´E	1986197.97´N
	Tacotalpa	Sierra	531896.42´E	1922355.86´N
CBTA 82	Balancán	Ríos	656284.18´E	1970872.42´N
Nuevo Centla	Centla	Pantanos	550043.00´E	2059098.10´N

### Medición de color

#### Colorímetro Hanna.

Las características de color se evaluaron mediante un colorímetro digital Hanna Honey Color 221 (Woonsocket, USA) con lectura directa en mm Pfund. El equipo se calibró y se utilizó glicerina como estándar. El procesamiento se llevó a cabo por triplicado en mieles líquidas y sin burbujas y consintió en colocar 4 mL de muestra en la celda del colorímetro y posteriormente se tomó la lectura.



## **Espectrofotómetro**

Las características de color fueron evaluadas por el método CIE L\* a\* b\* (Comisión Internacional Iluminación) donde L\* mide luminosidad, tonalidades de rojo y verde (a\*) amarillo y azul (b\*) a estas se les denomina coordenadas de color las cuales fueron definidas por medio de un espectrofotómetro de esfera portátil modelo SP60 Marca X-Rite. Para ello la miel fue colocada en una caja de petri de vidrio cubriendo una altura de 10 mm (colocando 40 ml de muestra aproximadamente), las lecturas de color se realizaron por triplicado en mieles líquidas y sin burbujas en diferentes zonas de la caja.

## **Análisis estadístico.**

Todos los análisis se llevaron a cabo por cuadruplicado y los datos fueron expresados como medias  $\pm$  desviación estándar (SD). Se obtuvieron correlaciones entre los dos métodos mediante el coeficiente de Correlación de Pearson (r) en correlaciones lineales de dos variables.

## **2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Medición de color utilizando el Colorímetro Hanna.**

Los resultados obtenidos con este equipo mostraron que el color de las mieles tabasqueñas varió desde 46.66 hasta 68.00 mm Pfund (Tabla 9). El menor valor se obtuvo para las mieles de Huimanguillo ( $46.66 \pm 0.58$  mm Pfund) ubicado en la Región de la Chontalpa, mientras que el mayor valor fue para la muestra del municipio Centro ( $68.00 \pm 0.00$  mm Pfund), ubicado en la Región Centro (Tabla 9). Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), la escala de colores Pfund se divide en rangos de color, que permiten clasificar a las mieles mediante diferentes denominaciones (Tabla 8). De acuerdo con este parámetro, las mieles del estado de Tabasco se clasificaron en 2 grupos: ámbar extra claro y ámbar claro (Tabla 9).

**Tabla 8. Rango de color para clasificar las mieles según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).**

Escala Internacional	mm Pfund
Blanco agua	0-8
Extra blanco	8-17
Blanco	17-34
Ámbar Extra Claro	34-48
Ámbar Claro	48-83
Ámbar	83-114
Ámbar Oscuro	Más de 114

**Tabla 9. Color de las mieles identificadas de acuerdo a los estándares del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) con equivalencias en mm Pfund.**

Muestra	Color (mm Pfund)	Color identificado
Balancán	57.66 ± 0.577	Ámbar claro
Cárdenas	67.66 ± 0.577	Ámbar claro
Centla	53.66 ± 0.577	Ámbar claro
Centro	68.00 ± 0.00	Ámbar claro
Tacotalpa	59,00 ± 0,00	Ámbar claro
Huimanguillo	46.66 ± 0.577	Ámbar extra claro

### **Medición de color utilizando la escala CIEL\*a\*b\*.**

El color de la miel es un parámetro fisicoquímico que juega un papel crucial durante la elección del producto (Perna *et al.*, 2013). En este estudio, se reportan las características colorimétricas de mieles de diferentes sitios de colecta en el estado de Tabasco, México. Los resultados medidos por el método CIE L\* a\* b\*, mostraron que se tuvieron valores de L\* comprendidos entre 36.96 ± 0.39 y 42.90 ± 0.14 unidades CIE L\*

$a^*$   $b^*$ , y no se encontraron diferencias significativas con respecto a este parámetro entre ellas ( $p < 0.05$ ). La mayor luminosidad se obtuvo para la miel de Huimanguillo, localidad situada en la región de la Chontalpa ( $42.90 \pm 0.14$  unidades CIE  $L^* a^* b^*$ ), mientras que la miel del Centro, de la región del mismo nombre, presentó el menor valor ( $36.96 \pm 0.39$  unidades CIE  $L^* a^* b^*$ ). Tomando en cuenta la luminosidad, González-Miret *et al.*, (2005) clasificaron las mieles en dos grupos, mieles claras con  $L^* > 50$  y mieles oscuras con  $L^* < 50$ , por lo que las mieles de Tabasco bajo estos criterios se clasificaron en mieles oscuras con  $L^*$  (38.11, 36.96, 38.59, 40.92, 4.21, 42.90 unidades CIE  $L^* a^* b^*$ , respectivamente) (Tabla 10). Estos valores son similares a los obtenidos por Tuberoso *et al.* (2014) para mieles monoflorales europeas de *Fagopyrum esculentum L.* y *Mentha spp.* ( $41.3 \pm 2.7$ ,  $44.2 \pm 7.5$  unidades CIE  $L^* a^* b^*$ , respectivamente), pero menores a los de Perna *et al.* (2013) para mieles de diferentes áreas del sur de Italia ( $L^* = 59.94$ ). Los parámetros  $a^*$  (rojo-verde) y  $b^*$  (amarillo-azul) de la miel, pueden interpretarse como un índice deseable de la riqueza de pigmentos tales como carotenoides, xantofilas y antocianos de las especies que aportan el polen a la miel (Frankel *et al.* 1998, Al-Mamary *et al.* 2002 y Antony *et al.* 2000). Para las coordenadas que miden la intensidad del ( $a^*$ ) y ( $b^*$ ), los valores obtenidos estuvieron entre  $5.01 \pm 0.11$  a  $8.52 \pm 0.03$  y  $16.36 \pm 0.75$  a  $26.07 \pm 0.17$  unidades CIE  $L^* a^* b^*$ , respectivamente. Estos valores indican que las muestras de mieles del estado de Tabasco, mostraron una gran proporción de colores rojo y amarillos, que son similares a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2012) para mieles de otras regiones de México.

**Tabla 10. Color identificados de acuerdo a los parámetros colorimétricos CIE L\*, a\*, b\* expresado en un ángulo de tono °Hue.**

Muestra	L*	a*	b*	Hue
Balancán	40.92 ± 0.49	6.74 ± 0.12	24.50 ± 0.19	74.6 ± 0.32
Cárdenas	38.11 ± 0.09	8.52 ± 0.03	19.35 ± 0.18	66.2 ± 40.13
Tacotalpa	42.21 ± 0.17	7.08 ± 0.04	25.40 ± 0.24	74.43 ± 0.16
Huimanguillo	42.90 ± 0.14	5.19 ± 0.03	26.07 ± 0.17	78.75 ± 0.10
Centro	36.96 ± 0.39	8.02 ± 0.20	16.36 ± 0.75	63.88 ± 0.56
Centla	38,59 ± 0,33	5,01 ± 0,11	18,25 ± 0,38	74,66 ± 0,14

**Relación estadística entre escala Pfund y parámetros CIEL\*a\*b\*.**

La correlación entre las mediciones de color efectuadas con el comparador Pfund y CIE L\* a\* b\* se muestra en la (Tabla 11). Los datos se adecuan a una correlación lineal, con un coeficiente de determinación igual a ( $r = 0.731$ ,  $r=0.923$ ,  $r=-0.633$ ,  $r=0.947$ ), indicando que ambos instrumentos permiten obtener resultados similares, estos resultados son similares a los obtenidos por Galleguez *et al.* (2012), para mieles de Argentina. A pesar de las significancias obtenidas en la correlación entre la escala Pfund y CIE L\* a\* b\*, la escala Pfund no toma en cuenta la tonalidad del color de las muestras si no que sólo clasifica en ámbar y no difieren en su tonalidad, por lo tanto la escala Pfund no es suficiente para caracterizar el color de la miel.

**Tabla 11. Matriz de correlación de los parámetros investigados (coeficiente de correlación de Pearson) expresado con un nivel de confianza del 95%.**

	L	Pfund
L		0.731**
a*	-0.500**	0.923**
b*	0.967**	-0.633**
°Hue	0.841**	-0.947**

\*Significativo  $P \leq 0.05$ . Numero de muestras  $n = 6$ .

## 2.4. CONCLUSIONES

Las mieles del estado de Tabasco se clasificaron según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y la escala de colores Pfund en 2 grupos: ámbar extra claro y ámbar claro cuando se utilizó el colorímetro Hanna. Mientras que cuando se empleó el Método CIEL\*a\*b\* y la clasificación de González-Miret *et al.*, (2005) se determinó que todas las mieles del estado de Tabasco son mieles oscuras. Por otro lado, la escala Pfund no es suficiente para caracterizar el color de la miel, ya que solamente las separa en ámbar y sus tonalidades, mientras que el método CIEL\*a\*b\* permite conocer tonalidades de color en las mieles.

## AGRADECIMIENTOS

Martha María López-González es becaria del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y alumna de la Maestría en Ciencias en Producción Agroalimentaria en el Trópico del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. A las Líneas Prioritarias de Investigación del Colegio de Postgraduados, LPI 8: “Impacto y Mitigación del Cambio Climático” por el apoyo financiero para la realización de esta Investigación. Los autores agradecen al Instituto Tecnológico de Mérida las facilidades prestadas para el desarrollo de la Investigación por el uso de su laboratorio.

## 2.5. LITERATURA CITADA

Al-Mamary, M., Al-Meerri, A., Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutritional Research* 22 pp1041-1047.

Antony, S.M., Han, I., Rieck, J.R., Dawson, P.L. (2000) Antioxidative effect of Maillard reaction products formed from honey at different reaction time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 pp3985-3989.

Aubert, S. and Gonnet, M. (1983). Mesure de la couleur des miels. *Apidologie*, 14, 105–118.

Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. and Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, (105), 822-828

Bogdanov, S., Ruoff, K. and Persano, L. (2004). Physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie* 35, S4–S17.

- Fell, R.D. (1978). The color grading of honey. *Am. Bee J.* 18, 782–789.
- Frankel, S., Robinson, G.E., Berenbaum, M.R. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristic of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research* 37 pp.27-31.
- González-Miret, M.L., Terrab, A., Ayala, F., Terrab A., Echavarri J. F., Negueruela, A. I. and Heredia, F. J. (2007). Simplified method for calculation color of honey by application of the characteristic vector method. *Food Research International* 40: 1080-1086
- González-Miret, M.L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M.A. & Heredia, F.J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their Botanical origin. *J. Agric. Food Chem*, 53, 2574-2580
- Hernanz, D., Fernández-Recamales, M.A. & Heredia, F.J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their Botanical origin. *J. Agric. Food Chem*, 53, 2574-2580
- IGEGI (2012) Anuario estadístico de Tabasco. Instituto Nacional de Estadística y Geográfica.  
[http://www.inegi.org.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/aepef/2013/aegpef\\_2013.pdf](http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/aepef/2013/aegpef_2013.pdf). Fecha de consulta 5 junio de 2014
- Perna, A., Simontti, A., Intaglietta, I., and Gambacorta, E. (2013). Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different of southern areas Italy. *Journal of Life Sciences*. 7 (4), pp.428-436

- Rodríguez, B.A., Mendoza, S., Iturriga, M.H., & Castaño-Tostado, E. (2012). Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *Journal of Food Science*, 71, C121-C127.
- Terrab, A., and Heredia, F.J. (2003). Palynological, physic-chemical and color characterization of Moroccan honeys. II. Orange (*Citrus sp.*) honey. *International Journal of Food Science and Technology* 38 (4): 395-402.
- Terrab, A., González-Miret, L. and Heredia, F.J. (2004). Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. *Eur. Food Res. Technol.* 218, 488–492.
- Tuberoso, C. I. G., Jerkovic, I., Sarais, G., Congiu, F., Marijanovic, Z., Kus, P. M. (2014). Color evaluation of seventeen European unifloral honeys types by means of spectrophotometrically determined CIE L\* C\*<sub>ab</sub>h°<sub>ab</sub> chromaticity coordinates. *Food Chemistry*. 145 pp 284-291.
- USDA. 1985. *United States Standards for Grades of Extracted Honey*, USDA, Washington, DC.



### **CAPÍTULO III. RELACIÓN DE LOS PERFILES ANTIOXIDANTES EN MIELES TABASQUEÑAS CON EL COLOR, TIPO DE POLEN Y FACTORES CLIMÁTICOS DE PRECIPITACIÓN Y TEMPERATURA.**

M. M. López-González<sup>a</sup>, J.M. Zaldívar- Cruz<sup>a\*</sup>, J.H.R. Mendoza Hernández, A. Sol Sánchez<sup>a</sup>, E. Sauri-Duch<sup>b</sup>, V.M. Moo-Huchín<sup>c</sup>, I.A. Estrada-Mota<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Colegio de Postgraduados, Campus-Tabasco. Periférico Carlos A. Molina Km 3.5. Carretera Cárdenas Huimanguillo. H. Cárdenas Tabasco. C.P 86500.

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Mérida. Avenida Tecnológico km. 4.5 S/N, Mérida, Yucatán. C.P. 97118

<sup>c</sup>Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el Estado de Campeche. Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal. Calkiní, Campeche. C.P. 24900

#### **RESUMEN**

El clima es un conjunto de condiciones atmosféricas propias de un lugar, constituido por la cantidad y frecuencia de lluvias, la humedad, la temperatura, los vientos, etc., y cuya acción compleja influye en la existencia de los seres sometidos a ella. La presente investigación tuvo como objetivo relacionar los perfiles antioxidantes con el color, tipo de polen y factores climáticos de precipitación y temperatura en muestras de mieles colectadas en los municipios de Huimanguillo, Cárdenas, Centro, Tacotalpa, Centla y Balancán, pertenecientes a (Región de la Chontalpa, Centro, Sierra, Pantanos y Ríos). Las mieles se clasificaron como multiflorales y fueron producidas a temperaturas similares ( $23.68\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3.51$  para Centro y  $25.98\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.89$  para Los Ríos), pero en condiciones diferentes de precipitación, siendo la Zona de la Sierra la que presentó mayor precipitación durante la temporada de producción (precipitación total anual). La región de Pantanos fue quien presentó mayor contenido de compuestos antioxidantes individuales produciendo una miel color ámbar claro. El contenido de compuestos antioxidantes individuales, color y polen se relacionan estrechamente con la temperatura y precipitación.

**Palabras claves:** *Perfil de antioxidantes; Color; Polen; Precipitación; Temperatura*

## ABSTRACT

The climate is a set of characteristics of a place weather conditions, consisting of the amount and frequency of rainfall, humidity, temperature, winds, etc., and whose complex action influences the existence of beings subject to it. The present study aimed to relate the antioxidant profiles with color, type of pollen and climatic factors of precipitation and temperature in honey samples collected in the municipalities of Huimanguillo Cardenas, Centro, Tacotalpa, Balancán, Centla and belonging to the five regions Tabasco state (Region Chontalpa, Centro, Sierra, Pantanos y Ríos). The honeys were classified as multiflowered and were produced at similar temperatures ( $23.68 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3.51$  for Central and  $25.98 \pm 2.89 \text{ }^{\circ}\text{C}$  for Los Ríos), but under different conditions of precipitation. The zona Sierra showed greater precipitation during the production season ( $112.18 \pm 104.99$  mm rainfall). The Marshes region showed higher content of individual antioxidant compounds and produced a light amber honey. The content of individual antioxidant compounds, color and pollen are closely related to temperature and precipitation.

**Keywords:** *Antioxidant profiles; Color; Pollen; Precipitation; Temperature*

### 3.1. INTRODUCCIÓN

El clima se comporta como un sistema único, autorregulado, compuesto por elementos físicos, químicos, biológicos y humanos. Debido a que el clima se relaciona generalmente con las condiciones predominantes en la atmósfera, éste se describe a partir de variables atmosféricas como la temperatura y la precipitación. El clima es un conjunto de condiciones atmosféricas propias de un lugar, constituido por la cantidad y frecuencia de lluvias, la humedad, la temperatura, los vientos, etc., y cuya acción compleja influye en la existencia de los seres sometidos a ella. El clima puede limitar la producción vegetal por falta o exceso de de agua o luz solar (Van Schaik *et al.*, 1993; Lovelock, 2003). Algunos de los efectos de la variabilidad del clima afectan la fenología de las plantas, éstos incluyen la implementación de nuevas hojas o de floración

(Peñuelas *et al.*, 2002; Menzel *et al.*, 2001), desplazamiento del calendario de temporadas de polinización (Jaeger *et al.*, 1996, Emberlin *et al.*, 2007) y un aumento o disminución en la producción de polen de diferentes especies de plantas (Ziska y Caulfield 2000; Teranishi *et al.*, 2000). De tal manera, que estos factores influyen en la flora néctar-polinífera de las diferentes regiones apícolas y puede cambiar la composición química de la miel ya que ésta depende de las condiciones regionales, climáticas, y de los tipos de flores visitadas por las abejas durante la recolección de néctar y polen (Fredes & Montenegro 2006; Muñoz *et al.*, 2007), por lo que el objetivo de este trabajo fue relacionar el perfil de antioxidantes, color y el polen de las mieles tabasqueñas con los factores climáticos de precipitación y temperatura durante la época de producción.

### 3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Delimitación del área de estudio

Las muestras colectadas fueron proporcionadas por apicultores, el muestreo se realizó de Enero a Diciembre del 2013, en las cinco regiones fisiogeográficas del estado de Tabasco (Pantanos, La Chontalpa, La Sierra, Los Ríos y Centro), (Tabla 7). Éstas fueron almacenadas en oscuridad hasta su análisis e identificación.

**Tabla 12. Localización de los apiarios**

Apiarios	Municipios	Región	Coordenadas	
Campo Experimental (Km 21)	Cárdenas	Chontalpa	438466.5'E	1988122.71'N
EJ. Mercedes Gamas	Huimanguillo	Chontalpa	440247.04'E	1961510.09'N
Ra. Plátano y Cacao	Centro	Centro	482705.61'E	1986197.97'N
Francisco I. Madero 2da. Sección	Tacotalpa	Sierra	531896.42'E	1922355.86'N
CBTA 82	Balancán	Ríos	656284.18'E	1970872.42'N
Nuevo Centla	Centla	Pantanos	550043.00'E	2059098.10'N

(Ej. Ejido, Ra. Ranchería)

## **Análisis melisopalinológico**

### **Preparación de la muestra**

El procesamiento de las muestras de miel, para extraer el polen, se basó en el método de Von Der Ohe *et al.*, 2004, éste método se llevó a cabo por duplicado y consistió en: pesar 10 g de miel, a los cuales se le agregó 20 ml de agua destilada a 40°C y se disolvió la mezcla, agitando manualmente el tubo de ensaye, hasta homogeneizar. Esta muestra se llevó a una centrifuga durante 20 minutos a 3,000 rpm; la mezcla resultante, se separó mediante decantación, se le agregó 20 ml de agua destilada a 40°C, se volvió a centrifugar por cinco minutos a 3,000 rpm, se decantó y a la fase sólida resultante se le agregó 100 µl de agua destilada. Esta mezcla se dejó en reposo para aplicarle el proceso de la acetólisis siguiendo el método de Erdtman (1969).

### **Analisis cualitativo**

Para la identificación y descripción de los granos de polen, se utilizó un microscopio óptico modelo Motic BA300 con los objetivos 10X, 40X y 100X. La identificación de los granos de polen a diferentes niveles taxonómicos se realizó por comparación, con la ayuda de claves polínicas (Palacios-Chavez *et al.*, 1991; Martínez-Hernández *et al.*, 1993; Córdova-Córdova 2009; Castellanos-Potenciano *et al.*, 2012).

### **Analisis cuantitativo.**

Los porcentajes de cada tipo polínico se calcularon a partir del conteo de 1 500 granos de polen por muestra, en transectos al azar, en el campo visual del microscopio (objetivo 40X) (Louveaux *et al.*, 1987). Especies con porcentajes mayores o iguales al 10% fueron consideradas como importantes.

Las mieles se clasificaron como monoflorales cuando en su composición se encontró una especie con porcentaje de polen superior o igual a 45% y multiflorales, mixta o

polifloral cuando tres o más especies se presentaron con porcentajes iguales o mayores al 10% (Louveaux *et al.*, 1987).

### **Perfil fenólico**

Para la determinación de estos se tomó una muestra de 50g de miel y se mezcló con 250 mL de agua acida (pH 2 con HCl) y se filtró a través de algodón para eliminar las partículas sólidas (Ferrerres, *et al.*, 1994). Después, el filtrado se pasó a través de una columna (50 x 2 cm) de Amberlite XAD-2 (tamaño de poro 9 nm; tamaño de partícula 0.3-1.2 mm). Los diversos compuestos fenólicos se mantuvieron en la columna mientras que los azúcares y otros compuestos polares se eluyeron con el disolvente.

La columna se lavó con agua ácida (250 mL, a pH 2) y posteriormente con agua destilada neutra (250 mL, a pH 7). La fracción fenólica se eluyó con metanol (300 mL hasta que no se eluyó más color). Esta fracción se concentró a presión reducida a 40 °C usando un evaporador rotatorio (Buchi R-205, Labortechnik, Suiza). El residuo se reconstituyó en 5 mL de metanol. Una alícuota se filtró a través de una membrana de 0.45 µm y alícuotas de 20 µL se inyectaron en el sistema de HPLC. Se utilizó una columna Nucleosil C18 250 x 4,6 mm i.d., 5 µm, (operado a 25 ° C). La fase móvil consistió en 1% de ácido fórmico (98%) (A) y acetonitrilo (2%) (B), a una velocidad de flujo de 0.5 mL / min. El gradiente de elución fue 2-100% (B) de 0 a 70 min. Los siguientes estándares fueron adquiridos de Sigma Aldrich: ácido gálico, ácido cafeico, ácido ellágico, ácido transcinámico, ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido sinapico, ácido vanillico, ácido clorogénico, quercetina, catequina, epicatequina, , miricetina, isorhamnetin, apigenina, crisina, kaemperol. Se prepararon curvas de calibración para cada estándar se prepararon para la cuantificación.

### **Análisis de color**

Las características de color fueron evaluadas por el método CIE L\* a\* b\* (Comisión Internacional Iluminación) donde L\* mide luminosidad, tonalidades de rojo y verde ( a\*)

amarillo y azul ( $b^*$ ) a estas se les denomina coordenadas de color las cuales fueron definidas por medio de un espectrofotómetro de esfera portátil modelo SP60 Marca X-Rite. Para ello la miel fue colocada en una caja de petri de vidrio cubriendo una altura de 10 mm (colocando 40 ml de muestra aproximadamente), las lecturas de color se realizaron por triplicado en mieles líquidas y sin burbujas en diferentes zonas de la caja.

### **Análisis estadístico de los datos**

Se empleó la hoja de cálculo Excel de Office 2007 de Microsoft para calcular las medias y la desviación estándar de los resultados obtenidos en cada uno de los ensayos realizados.

### **3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La relación entre el tipo de antioxidante, polen y el color presente en las mieles, para cada tipo de clima, se muestran en la (Tabla 13). En ella se aprecia que la especie *Mimosa albida* Humb, & Bonpl. ex. Willd (dormilona) se encuentra en dos regiones: Centro y Los Ríos; la familia Asterácea en Los Ríos y Sierra; la especie *Bursera simaruba* L. Sarg.(palo mulato) en las regiones de La Chontalpa y Los Pantanos y *Cecropia obtusifolia* Bertol (guarumo) en La Chontalpa y Centro, ninguna especie resultó con polen predominante (más de 45%), sin embargo, se encontraron especies con porcentajes considerables, como por ejemplo en la región de la Chontalpa la *Cissus sicyoides* L. (uva silvestre) con un 23% y *Stemmadenia donnell-smithii* Rose. Woodson (cojón) con un 24%; en la región del Centro se encontró *Cecropia obtusifolia* en un 24.1%; en la Región de los Ríos se encontró Asteraceae con un 38.8% y en la región de los Pantanos se encontró *Cocus nucifera* L. (coco) en un 17.6% y finalmente en la Región de la Sierra se encontró *Heliocarpus appendiculatus* Turcz (jolutzín blanco) con un 28.1%; por lo que las mieles analizadas se clasificaron en multiflorales. El resto de las especies encontradas en las mieles analizadas fueron *Cordia alliodora* Ruiz et Pavón (bojón), *Rumex americanus* Campd., *Celtis iguanaea* Jacq. (uña de gato) y *Piper sp.*

La coloración presente de las mieles fue ámbar claro y ámbar extra claro, esta última en la región de la Chontalpa, específicamente en el municipio de Huimanguillo. Respecto al análisis de antioxidantes, que se muestra en la (tabla 13), se encontró que el polifenol catequina está presente en todas las muestras de miel analizadas y su concentración va desde 1.8 a 21.4 mg/100 g de miel, por lo que a presencia y concentración se puede inferir su importancia en la composición de las mieles. Este compuesto es caracterizado por tener potencial antioxidante y es utilizado para la prevención de diversas enfermedades asociadas al estrés oxidativo como el cáncer (Andrade *et al.*, 1997).

Otro polifenol encontrado en cinco de las muestras analizadas fue el isorhamnetin, cuyas concentraciones van de 0.4 a 2.6 mg/100 g de miel. Este polifenol un antimicrobiano y cicatrizante muy utilizado en las culturas antiguas.

Así mismo, otro aspecto a destacar, en cuanto a la presencia de antioxidantes, es que en las muestra de miel analizadas en este trabajo, se encontraron diferente número de componentes fenólicos para cada una de las muestras de las regiones en Tabasco, esto puede deberse a las diferentes condiciones climáticas de las regiones; así por ejemplo en la muestra de la región de los Pantanos se encontraron nueve compuestos fenólicos; en la región del Centro se identificaron ocho de éstos compuesto y en la región de los Ríos solo se encontraron tres tipos de antioxidantes.

En relación a los efectos que el clima puede tener en la determinación de las características de la miel, como se aprecia en la (tabla 13), las diferentes condiciones de precipitación pueden determinar la flora identificada en cada una de éstas, ya que las diferencias de cantidad de agua precipitada son de 1548.3 mm entre la región más seca (Ríos) y la más húmeda (Sierra), esto queda evidenciado en la flora identificada en cada una de estas regiones, en donde las especies encontradas son diferentes a excepción de las Asteraceae. En relación a las temperaturas no hay variaciones considerables, ya que entre la región más caliente (Chontal) 26°C y la menos cálida (Pantanos) 23°C, solo hay 3 grados de diferencia.

**Tabla 13. Efecto de la temperatura y precipitación sobre el polen, color y antioxidantes en mieles de Tabasco, México.**

Subregión	P total (mm)	T Media anual (°C)	Tipo de clima	Origen floral	Color	Perfil de antioxidantes (Compuestos <b>fenólicos</b> )
Chontalpa	2395.3	25.7	Af	<i>Bursera simaruba</i> (10.2%) <i>Cecropia obtusifolia</i> (17.7%) <i>Cissus sicyoides</i> (23%) Otros	Ámbar extra claro	Acido cafeico, catequina, miricetina, isorhamnetin
Huimanguillo				<i>Bursera simaruba</i> (10.5%) <i>Cecropia obtusifolia</i> (16.5%) <i>Stemmadenia donnell-smithii</i> (24%) Otros		
Cárdenas	2192.9	26.24	Af		Ámbar claro	Acido galico, catequina, acido clorogenico, acido sinapico, acido trans-cinamico, isorhamnetin.
Centro	2292.8	23.68	Af	<i>Cordia alliodora</i> (11.65%) <i>Mimosa albida</i> (28.1%) <i>Mimosa pigra</i> (14.4%) <i>Cecropia obtusifolia</i> (24.1%) Otros	Ámbar claro	Acido galico, acido ferulico, acido ellagico, catequina, quercetina, kaemperol, apigenina, isorhamnetin
Centro						
Ríos	1798.2	25.98	Am	Asteraceae (37.8%) <i>Mimosa albida</i> (28.1%) <i>Rumex americanus</i> (19.85) Otros	Ámbar claro	Acido galico, catequina, miricetina.
Balancán						
Pantanos	1823.6	22.72	Am	<i>Cocos nucifera</i> (17.6%) <i>Bursera simaruba</i> (10.45%) Otros	Ámbar claro	Catequina, quercetina, isorhamnetin, acido galico, acido p-hidroxibenzoico, acido cafeico, acido ferulico, acido ellagico, acido trans-cinámico,
Centla						
Sierra	3346.5	25.8	Af	<i>Celtis iguanaea</i> (10.8%) <i>Piper sp.</i> (10.5%) <i>Heliocarpus appendiculatus</i> (28.15%) Asteraceae (19.2%) Otros	Ámbar Claro	Acido p- hidroxibenzoico, acido ellagico, catequina, kaemperol, isorhamnetin.
Tacotalpa						

Am. Cálido húmedo con abundantes lluvias en verano, Af: cálido húmedo con abundantes lluvias todo el año.

### 3.4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que las condiciones geográficas y climatológicas, tales como temperatura y precipitación, tienen influencia sobre la distribución de la vegetación en un lugar determinado (flora néctar-polinífera) lo que concuerda con lo señalado por (Iurlina *et al.*, 2009), por lo que la composición química y polínica de la miel puede cambiar (Fredes & Montenegro 2006; Muñoz *et al.*, 2007) (Castellanos-Potenciano *et al.*, 2012 y Córdova-Córdova *et al.*, 2013) y por lo tanto el



color y el perfil de antioxidantes pueden ser afectados. La flora néctar-polinífera varió entre regiones, aunque algunas especies como *B. simaruba*, *M. albida*, *C. obtussifolia*, y la familia Asteraceae se encontraron en más de una región. Por otro lado, las mieles obtenidas en estos tipos de clima (Af y Am) presentaron un color ámbar claro y solamente la miel de Huimanguillo presentó un color ámbar extra claro, esto puede deberse a los granos de polen contenidos en esta miel, de acuerdo (Terrab *et al.*, 2004) los granos de polen con alta luminosidad tienden a dar mieles de color claro y éstos a su vez provienen de flores de colores claros.

Los exceso de lluvia provocan a su vez condiciones de alta humedad relativa y ésta condición, propicia que el néctar en las plantas sea de menor calidad, ya que diluye la concentración de azúcares, por otro lado, si la humedad relativa es muy baja, se produce un desecamiento del néctar, que impide ser libado por la abeja ambas condiciones se presentan en las regiones del presente estudio. Por otro lado la temperatura óptima para una condición favorable, en la recolección de néctar, está en entre los 12 y 25 °C; temperaturas mayores a éstas, provocan la evapotranspiración en la planta y esto induce el cierre de los nectarios. Así mismo, si la temperatura es muy baja, las plantas detienen sus funciones fisiológicas.

El perfil de polifenoles obtenidos para las mieles en este trabajo, contribuyó al conocimiento de la composición de antioxidantes de mieles de Tabasco, mostrando una gran diversidad de compuestos mostrados en la tabla 13, con esta caracterización, se puede valorar de mejor manera el producto melífero de Tabasco.

## AGRADECIMIENTOS

Martha María López-González es becaria del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y alumna de la Maestría en Ciencias en Producción Agroalimentaria en el Trópico del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. A las Líneas Prioritarias de Investigación del Colegio de Postgraduados, LPI 8: “Impacto y Mitigación del Cambio Climático” por el apoyo financiero para la realización de esta Investigación. Los autores agradecen al Instituto Tecnológico de Mérida las facilidades prestadas para el desarrollo de la Investigación por el uso de su laboratorio.

### 3.5. LITERATURA CITADA

Andrade, P., Ferreres, F., and Amaral, M. T. (1997) . Analysis of honey phenolic acids by HPLC, its application to honey botanical characterization. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. vol. 20, no. 14, pp. 2281–2288.

Castellanos-Potenciano, B.P., Ramírez-Arriaga, E., Zaldívar-Cruz J.M. (2012). Análisis del contenido polínico de mieles producidas por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en el estado de Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana* 28(1): 13-36.

Córdova-Córdova, C., Ramírez-Arriaga, E., Martínez-Hernández, E. & Zaldívar-Cruz. J. M. (2013). Caracterización botánica de la miel de abeja (*Apis mellifera* L.) de cuatro regiones del estado de Tabasco, México, mediante técnicas melisopalinológicas. *Universidad y Ciencia* vol.29 no.2, pp 163-178.

Emberlin, J., Laaidi, M., Detandt, M., Gherig, R., Jaeger, S., Myszkowska, D., Nolard, N., Rantio-Lehtimäki, A., Stach, A. (2007) Changement climatique et évolution du contenu pollinique dans l'air dans sept pays européens: exemple du bouleau. *Rev Fr Allergol* 47:57–63. doi:10.1016/j.allerg.2006.11.005.

Erdtman, G. (1969). *Handbook of Palynology - An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores*. Munksgard, Copenhagen.

Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., Soler, C., García-Viguera, C., Ortiz, A., & Tomás-Lorente, F. (1994). A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie*, 25, 21–30.

Fredes, C. & Montenegro, G. (2006). Heavy metals and other trace elements contents in Chilean honey. *Ciencia. Investigación. Agraria*, 33(1), 50-58.

Iurlina, M. O., Saiz, A. I., Fritz, R., & Manrique, G. D. (2009). Major flavonoids of Argentinean honeys. Optimization of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys. *Food Chemistry*, 115, 1141–1149.

Jäeger, S., Nilsson, S., Berggren, B., Pessi, A. M., Helander, M., Ramfjord, H. (1996) Trends of some airborne tree pollen in the Nordic countries and Austria, 1980–1993. A comparison between Stockholm, Trondheim, Turku and Vienna. *Grana* 35:171–178. doi:10.1080/ 00173139609429078.

Louveaux, J., Maurizio, A. & G. Vorwohl. 1978. Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59: 39-157.

Martínez-Hernández, J., Cuadrillero, E., Téllez, O., Ramírez-Arriaga, E., Sosa, S., Melchor, J., Medina, M. & Lozano, M.(1993). *Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel en la región del Tacaná, Chiapas, México*. Instituto de Geología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 105 pp.

Menzel, A., Sparks T. H., Estrella N, Koch, E., Aasa, E., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., Chmielewski, F.M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, A., Defila, C., Donnelly, A., Fililla, Y., Jatczak, K., Måge, F., Mestre, A.,

Nordli, Ø., Peñuelas J, Pirinen, P., Remišová, V., Scheifinger, H., Striz, M., Susnik, A., Van, Vliet., AJ,H., Wielgolaski, F.E., Zach, S., Zust ,A. (2006) European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob Chang Biol* 12:1969– 1976. doi:10.1111/j.1365-2486.2006.01193.x

Muñoz O., Copaja, S., Speisky, S., Peña, R., ontenegro, G. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 4, 848-851, 2007.

Palacios-Chávez, R., Ludlow-Wiechers, B. y Villanueva, G. 1991. *Flora palinológica de la reserva de la biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*. Centro de investigaciones de Quintana Roo, México. 321 p.

Peñuelas, J., Filella, I., Comas, P. (2002) Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Glob Chang Biol* 9:131–140. doi:10.1046/j.1365-2486.2002.00489.x.

Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T. & Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 528–534.

Teranishi, H., Kenda, Y., Katoh, T., Kasuya, M., Oura, E., Taira, H. (2000) Possible role of climate change in the pollen scatter of Japanese cedar *Cryptomeria japonica* in Japan. *Clim Res* 14:65–70. doi:10.3354/cr014065.

Terrab, A, Escudero, M.L, González-Miret, M.L, & Heredia F. J. (2004). Colour characteristics of honeys as influenced by pollen grain content: a multivariate study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84:380–386 DOI: 10.1002/jsfa.1668

Von der Ohe W., Persano Oddo L., Piana M.L., Morlot M., Martin P. (2004) Harmonized methods of melissopalynology, *Apidologie* (Suppl. 1), S18– S25.

Ziska LH, Caulfield FA (2000) Rising carbon dioxide and pollen production of common ragweed, a known allergy-inducing species: implications for public health. *Aust J Plant Physiol* 27:893– 898.

## CAPITULO IV. CONCLUSIONES GENERALES

Este estudio se valoraron los componentes antioxidantes y color de seis muestras de miel de diferentes regiones de Tabasco, México. El análisis de polen muestra que seis muestras de miel se consideran una miel multifloral obtenida de diferentes regiones. El estudio también mostró que las muestras de miel Tabasco contienen diferentes cantidades de fenoles solubles totales, flavonoides totales, actividad antioxidante, y compuestos fenólicos; y que éstas dependen principalmente de la fuente floral y la región geográfica.

Las mieles del estado de Tabasco se clasificaron según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y la escala de colores Pfund en 2 grupos: ámbar extra claro y ámbar claro cuando se utilizó el colorímetro Hanna. Mientras que cuando se empleó el Método CIEL\*a\*b\* y la clasificación de González-Miret *et al.*, (2005) se determinó que todas las mieles del estado de Tabasco son mieles oscuras

Las características geográficas y climatológicas, tales como la temperatura y la precipitación, tienen influencia sobre la vegetación (flora néctar-polinífera), por lo que la composición química y polínica de la miel puede cambiar y por lo tanto el color y el perfil de antioxidantes se pueden ser afectados.

## LITERATURA CITADA

Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S. 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*. 112: 863-867.

Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., Estevinho, L.M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. 114: 1438-1443.

Pichihero, E., Canuti, L., Canini, A. 2009. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 89: 609-616.