

Efecto del tratamiento térmico en la cristalización, actividad antioxidante e hidroximetilfurfural de una miel multifloral recién colectada.

R. Solís-Silva¹, A.D. Hernández-Fuentes¹, R. Jimenez-Alvarado¹, G. Aguirre-Alvarez¹, J.A. Barrera-Jiménez¹, R.G. Campos-Montiel¹.

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Av. Rancho universitario Km. 1 C.P. 43600, Tulancingo, Hgo., México. Tel. 7717172000 Ext.2021.
ruloshifu@gmail.com

RESUMEN:

En el presente trabajo se sometió a tratamiento térmico una miel multifloral recién colectada para determinar su efecto sobre tamaño de cristal, el contenido de fenoles, hidroximetilfurfural y actividad antioxidante. La miel es multifloral con fuentes florales de *Citrus sinensis* y *Olea europea*. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tamaño de cristal, fenoles, hidroximetilfurfural y actividad antioxidante. El tratamiento térmico a 80 °C eliminó los cristales existentes y evitando una posterior cristalización durante el almacenamiento. El tratamiento a 70 °C tuvo a los 120 días de almacenaje un incremento en la actividad antioxidante. En hidroximetilfurfural (HMF) presentó incrementos por el tratamiento térmico y por el almacenamiento a temperatura ambiente. El tratamiento térmico retarda la cristalización en el almacenamiento y algunos casos incrementan la actividad antioxidante.

Palabras clave: Cristalización, Hidroximetilfurfural, Tratamiento térmico.

ABSTRACT:

In the present work a freshly collected multifloral honey was subjected to heat treatment to determine its effect on crystal size, phenol content, hydroxymethylfurfural and antioxidant activity. Honey is multifloral with floral sources of *Citrus sinensis* and *Olea europea*. The results showed significant differences ($p < 0.05$) in crystal size, total phenols, hydroxymethylfurfural and antioxidant activity. Heat treatment at 80 °C eliminated the existing crystals and avoiding a subsequent crystallization during storage. Treatment at 70 °C had an increase in antioxidant activity at 120 days of storage. In hydroxymethylfurfural (HMF) showed increases by the heat treatment and the storage at room temperature. The heat treatment delays crystallization in storage and some cases increase antioxidant activity.

Keywords: Crystallization, Hydroxymethylfurfural, Heattreatment

INTRODUCCIÓN

La miel es considerada como una solución viscosa sobresaturada de azúcares derivada de néctar de las flores, recogido y modificado por la abeja (*Apis mellifera*) que almacena en panales para que esta madure (Vandamme *et al.*, 2013). Esta contiene pequeñas cantidades de aminoácidos, lípidos, vitaminas y minerales además de grandes cantidades de diversos azúcares, glucosa y fructosa son los que se encuentran presentes en mayor proporción representando entre el 65 y 85 % del total de sólidos solubles (Yao *et al.*, 2003). Tanto la composición como las propiedades funcionales que esta presenta son bastantes variables para cada miel en función de factores como son la fuente floral, factores ambientales y condiciones de manejo en la producción (Álvarez *et al.*, 2010).

En la industrialización y procesamiento de la miel la cristalización provoca dificultades en la manipulación afectando directamente la calidad de la miel. En la industrialización de la miel desde el punto de vista del consumidor, una miel cristalizada no cumple con los estándares de calidad demandados, como son fluidez y apariencia (Kabbani *et al.*, 2011).

Generalmente la miel es sometida a un tratamiento térmico para prevenir el desarrollo de microorganismos y retardando la cristalización, así asegurando que la miel se conserve líquida y fluida el mayor tiempo posible, al calentarla a temperaturas elevadas (alrededor de 80°C) (Escriche *et al.*, 2008), sin embargo esto implica un incremento en la concentración de HMF el cual es uno de los principales indicadores de calidad y frescura, y que en mieles frescas o sin calentar prácticamente no hay presencia (Tosi *et al.*, 2004).

El proceso de formación de HMF puede darse de forma natural en la miel durante el almacenamiento debido a la presencia de azúcares simples y agua, pudiendo acelerarse con factores como un medio ácido y el uso de recipientes metálicos incluso a temperaturas bajas (Ribeiro *et al.*, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la muestra

La muestra de miel fresca fue colectada en el mes de Junio del municipio de Huejutla ubicada en la región norte del estado de Hidalgo. La miel es multifloral con fuente floral de *Citrus sinensis* y *Olea europea*.

Aplicación del tratamiento térmico

La miel recién colectada fue distribuida en tubos de ensayo con 15 gr de miel cada uno para posteriormente ser expuestos a tratamiento térmico mediante baño maría a temperaturas de 60 °C, 70 °C y 80 °C durante 10 minutos. Los tubos se protegieron de la luz y se almacenaron para su posterior análisis en los meses siguientes después del tratamiento.

Tamaño de cristal

Se tomó una alícuota de aproximadamente 1ml de miel y se colocó en un porta objetos, posteriormente se observó en un microscopio Olympus CX31. Las muestras de miel cristalizada se observaron en el objetivo 40x. Por medio del programa Infinity capture se tomaron fotografías de 30 cristales de cada una de las muestras tratadas por temperatura y el control sin tratamiento. Con la ayuda del programa Image pro-plus se midió el área en μm^2 de cada uno de los cristales.

Determinación de fenoles totales

Se determinó el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu [8]. Se realizó una dilución de miel 1:10 en agua destilada y se homogenizó, se centrifugó a 11000 rpm durante 15 min a 4 °C, se mezclaron 0.5 ml del sobrenadante con 2.5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, USA) diluido 1 en 10 (1ml de reactivo

de Folin y 9 ml de agua destilada) dejándolos reposar 5 minutos para posteriormente adicionar 2 ml de la solución de carbonato de sodio al 7.5 %, la mezcla se dejó reposar durante 2 horas y se leyó la absorbancia a 760 nm. Los resultados fueron expresados en mg EAG/100 g de miel utilizando una curva de calibración de ácido gálico (Fermont, Productos químicos Monterey)

Determinación de actividad antioxidante por método DPPH

Para la preparación de la solución de DPPH 0.2 Mm, se pesaron 7.8 mg de DPPH (Sigma Aldrich, USA) y se disolvieron en 100 mL de metanol al 80%, la mezcla se dejó en agitación en la oscuridad durante dos horas para su completa disolución. En un tubo de ensayo se colocaron 2.5 mL de solución metanólica de DPPH y se hicieron reaccionar con 0.5 mL de solución de miel, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 minutos y se leyó a una absorbancia de 515 nm. La actividad antioxidante fue determinada usando una curva estándar con ácido ascórbico. Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido ascórbico (mg EAA) /100g de miel [3].

Determinación de Hidroximetilfurfural

El contenido de Hidroximetilfurfural fue determinado por el método Carrez [2]. Que consiste en pesar 5 gr de miel y diluirlos en 25 ml de agua destilada, se adicionan 0.5 ml de Carrez I (Ferrocianuro de potasio) (J.T. Baker, USA), mezclándolo perfectamente, en seguida se agregó 0.5 ml de Carrez II (Acetato de zinc) y se homogeneizo, la mezcla se colocó en un matraz de 50 ml y se aforó con agua destilada. El contenido se filtró con papel se filtró con papel Whatman No.40 eliminando los primeros 10 ml del filtrado. En dos tubos de ensayo se colocaron 5 ml del filtrado, en uno se agregó 5 ml de agua destilada y en el otro 5 ml de bisulfito de sodio al 0.2 % (J. T. Baker, Germany). Se leyeron las absorbancias de la muestra y de referencia (bisulfito de sodio) a 284 nm y 336 nm respectivamente.

Los cálculos para la cantidad de HMF en la miel se determinaron con la siguiente formula:

$$\text{HMF (100 g de miel)} = (A_{284} - B_{336}) * 14.97 * (5/\text{g muestra})$$

Donde:

A 284 = valor de la absorbancia a 284 nm.

A 336 = valor de la absorbancia a 336 nm.

14.97= factor

Expresando los resultados en mg /kg de miel, para todas las pruebas se empleó un Espectrofotómetro JENWAY 6715UV/Vis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestra el efecto del tratamiento térmico en la reducción del tamaño de cristal encontrando diferencias significativas ($p < 0.05$), con una considerable reducción con los tratamientos de 60 y 70 °C y la reducción del 100 % de los cristales con el tratamiento de 80 °C. El contenido de fenoles totales la actividad antioxidante presento un efecto positivo viéndose incrementados con el tratamiento térmico a 70 °C, estos resultados son similares a los encontrados por Jahanet *al.*, (2015) que obtuvo incrementos en la actividad antioxidante atribuyéndolo a la degradación de antioxidantes exógenos y la producción de antioxidantes no nutricionales, resultados de la reacción de Maillard. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en hidroximetilfurfural entre el control y los tratamientos con 60 y 70 °C, el tratamiento térmico, sin embargo con el tratamiento de 80 °C presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) incrementando el contenido de HMF un 3% con respecto al control. Ribeiro *et al.*,(2012) reporta incrementos que exceden los límites establecidos por las normas manejando temperaturas superiores a 100°C y por tiempos de entre 30 y 720 min.

Tabla I. Efecto del tratamiento térmico en el tamaño de cristal, actividad antioxidante e Hidroximetilfurfural

	Tamaño de cristal Área μ^2	Fenoles totales mgEAG/100g de miel	DPPH mgEAA/100g de miel	HMF mg/Kg de miel
Control	13,36±1.38 ^b	31,77± 0.14 ^c	31,91±0.87 ^a	4,60±0.05 ^a
60 °C	2,38±1.37 ^a	30,08±0.49 ^a	33,56±0.27 ^b	4,64±0.09 ^a
70 °C	1,65±0.63 ^a	32,57±0.4 ^d	35,06±1.01 ^c	4,66±0.03 ^a
80 °C	N/D	30,84±0.17 ^b	31,93±0.96 ^a	4,76±0.01 ^b

Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (columnas) según lo determinado por la comparación de medias Tukey.

N/D: No se Detectaron

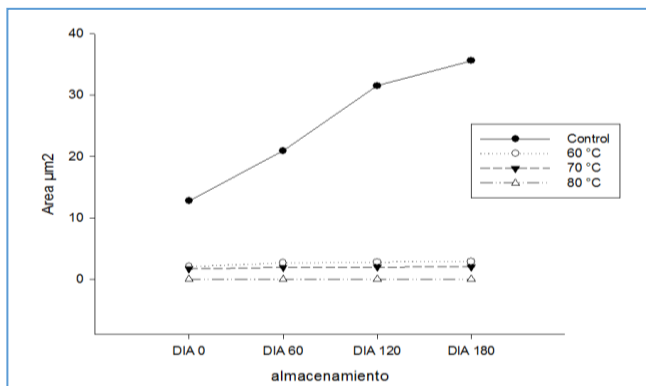


Figura 1. Efecto del almacenamiento en la cristalización

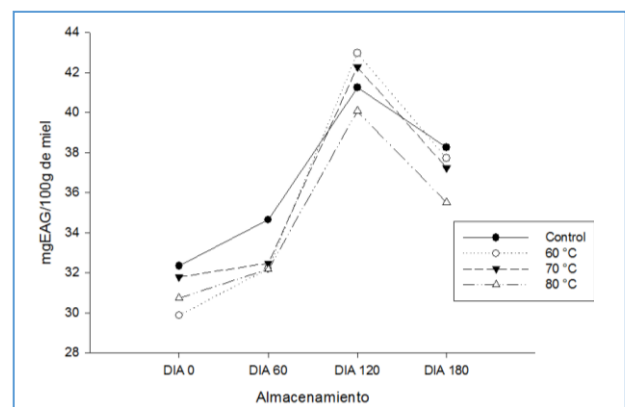


Figura 2. Efecto del almacenamiento en el contenido de fenoles totales

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) durante el almacenamiento únicamente en la miel sin ningún tratamiento incrementando el tamaño de los cristales un 64% a los 180 días de almacenaje, no se presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) en todos los tratamientos con temperatura, el tratamiento con 80 °C presentó la eliminación completa de cristales existentes y evitó la cristalización durante todo el almacenamiento (figura 1).

En la figura 2 se muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días de almacenamiento en todos los tratamientos presentando un incremento en el contenido de fenoles totales al día 120 con una posterior disminución en el día 180. El tratamiento con 60 °C fue el que presentó el mayor incremento (30%).

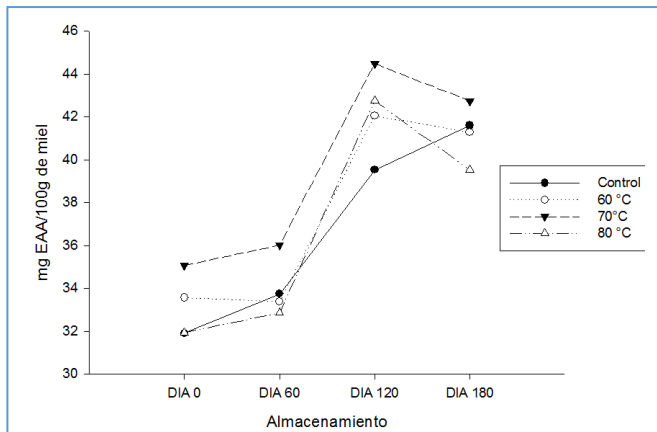


Figura 3. Efecto del almacenamiento la actividad antioxidante DPPH

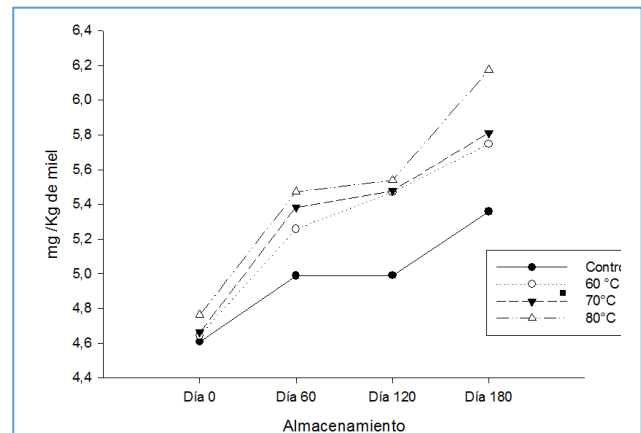


Figura 4. Efecto del almacenamiento en el contenido de hidroximetilfurfural

La figura 3. Muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) durante el almacenamiento en todos los tratamientos, se presentó un incremento en la actividad antioxidante durante el almacenamiento, el tratamiento con 80 °C fue el que presentó el mayor incremento con el 25 % en el día 120 de almacenamiento con respecto al día 0 sin embargo fue el tratamiento que tuvo la mayor disminución al final del experimento.

La figura 4. Muestra diferencias significativas entre el día 0 y 180 de almacenamiento presentando incrementos de hidroximetilfurfural no solo con el tratamiento térmico, la miel sin tratamiento presentó un incremento del 14 % en el contenido de HMF. La miel con el tratamiento térmico de 80 °C presentó los valores más elevados durante todo el almacenamiento mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Kahoun et al., (2017) En su estudio del tratamiento térmico y condiciones de almacenamiento de agua miel puro reportando un incremento del contenido de HMF en las muestras almacenada a temperatura ambiente, se obtuvieron valores más bajos que los reportados por Kowalski et al., (2017) quien sometió a calentamiento miel tres diferentes mieles *Tilia spp.*, *Fagopyrum spp.*, y *Robinia pseudoacacia* provocando incrementos de entre 2 y 3 mg/Kg de miel en un almacenamiento de 90 días.

CONCLUSIONES

El tratamiento térmico a 80 °C mostro eficacia para los cristales existentes y evitando una posterior cristalización durante el almacenamiento .El contenido de hidroximetilfurfural (HMF) presentó incrementos por el tratamiento térmico y por el almacenamiento a temperatura ambiente. El tratamiento térmico retarda la cristalización en el almacenamiento y algunos casos incrementan la actividad antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., ...&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(8), 2490-2499.
2. AOAC980.23. (2005). Hydroxymethylfurfural in Honey, spectrophotometric method AOAC Official Methods 80.23 (18th edition ed., Vol. "Hydroxymethylfurfural in Honey, spectrophotometric method", Chapter 44, pag. 32; AOAC 18th edition 2005., pp. 44).
3. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., &Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Foodscience and Technology*, 28(1), 25-30.
4. Escriche, I., Visquert, M., Carot, J. M., Domenech, E., &Fito, P. (2008). Effect of honey thermal conditions on hydroxymethylfurfural content prior to pasteurization. *Food Science and Technology International*, 14(5 suppl), 29-35.
5. Jahan, N., Islam, M. A., Alam, F., Gan, S. H., & Khalil, M. I. (2015). Prolonged heating of honey increases its antioxidant potential but decreases its antimicrobial activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(4), 134-144.
6. Kabbani, D., Sepulcre, F., &Wedekind, J. (2011). Ultrasound-assisted liquefaction of rosemary honey: *Influence on rheology and crystal content*. *Journal of Food Engineering*, 107(2), 173-178.
7. Kahoun, D., Řezková, S., &Králóvský, J. (2017). Effect of heat treatment and storage conditions on mead composition. *Food Chemistry*, 219, 357-363.
8. Ribeiro, R. D. O. R., Carneiro, C. D. S., Mársico, E. T., Cunha, F. L., Conte Junior, C. A., & Mano, S. B. (2012). Influence of the time/temperature binomial on the hydroxymethylfurfural content of floral honeys subjected to heat treatment. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(2), 204-209.
9. Singleton, V. L., Orthofer, R., &Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
10. Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., &Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 669-678.
11. Vandamme, L., Heyneman, A., Hoeksema, H., Verbelen, J., &Monstrey, S. (2013). Honey in modern wound care: a systematic review. *Burns*, 39(8), 1514-1525.
12. Yao, L., Bhandari, B. R., Datta, N., Singanusong, R., & D'Arcy, B. R. (2003). Crystallisation and moisture sorption properties of selected Australian unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(9), 884-888.