

Evaluación del color sobre compuestos bioactivos y estabilidad oxidativa de lípidos en diferentes mieles del estado de Hidalgo

D. Chávez-Borges¹, R. Jiménez Alvarado¹, V.M. Martínez Juárez¹, O.E. Del Razo Rodríguez¹, A.C. Figueira-López² y R.G. Campos-Montiel¹.

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ²Campus da Penha, Universidad do Algarve, Portugal. chavez_1893@hotmail.com

RESUMEN: Esta investigación se realizó para determinar la influencia que tiene el color y la luminosidad sobre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de 4 muestras de miel del estado de Hidalgo. Se encontró que las muestras presentan tendencia hacia tonos oscuros en la escala de Pfund y están dentro del rango de “light amber” y “dark amber”, siendo las mieles con nombre 4VZ y 8FA las que presentan tonos más oscuros, pero sin diferencias estadísticas ($p > 0.05$) en cuanto a luminosidad (L^*), mientras que en el parámetro a^* las que tienen mayor tendencia hacia el vértice rojo son 4VZ y 7OS, todas las muestras presentan valores positivos para tono amarillo en el parámetro b^* . En cuanto al contenido de fenoles la miel 4VZ muestra la mayor concentración, presentando diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre todas ellas; por su parte, los flavonoides se encuentran en un rango de 3.5 y 6.3 mg EAG/100g de miel. EL Índice de Actividad Antioxidante (IAA) sobre lípidos presenta una buena tendencia que aumenta según la concentración de miel añadida. Así se concluye que el color en la miel tiene una influencia directa en cuanto a su contenido de compuestos bioactivos que afectan directamente a su capacidad antioxidante.

Palabras clave: Miel, color, antioxidante.

ABSTRACT: This research was made to determine the influence of color and brightness in bioactive compounds and antioxidant activity of four honey samples of Hidalgo State. It was found that the samples tend to be dark, which in Pfund scale are in the range of “light amber” and “dark amber”, being 4VZ and 8FA honeys darker, but without statistical differences ($p > 0.05$) in brightness (L^*); in a^* parameter the samples tend to red color and the higher values are in 4VZ and 7OS; all samples tend to yellow color in b^* parameter. All samples has significant differences in phenol content, in this case 4VZ has the higher content (72.9 mg EAG/100g honey), flavonoid content shows values between 3.5 and 6.3 mg EAG/100g honey. The antioxidant activity in lipids has a good content and the AAI increase according to the concentration of added honey. In conclusion, the color of honey has a direct influence on its content of active compounds, which directly affect its antioxidant capacity.

Keywords: Honey, color, antioxidant.

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

La miel es un importante producto alimenticio que contiene compuestos bioactivos derivados de plantas y abejas, es rica en ácidos fenólicos y flavonoides, los cuales presentan un amplio rango de efectos biológicos y actúan como antioxidantes naturales. Se ha encontrado que la miel tiene capacidad contra derivados de peróxidos, radicales libres, cancerígenos y ayuda a la cicatrización de heridas (Kaškonienė *et al.*, 2009). El color de la miel es una de las principales características que determinan la cantidad de compuestos bioactivos presentes, pero depende de diversos factores que están relacionados con el origen botánico, composición del néctar, proceso de obtención, temperatura y tiempo de almacenamiento. Mieles naturales con mayor contenido de minerales tienden a ser oscuras debido a la formación de complejos entre elementos de transición y compuestos orgánicos (Sakač *et al.*, 2019).

Los antioxidantes tienen un rol importante en diversos aspectos tecnológicos, así como de salud, y uno de los aspectos en los que se basa es las reacciones del oxígeno y la peroxidación lipídica (Ruiz-Navajas *et al.*, 2011). Además, existe una fuerte correlación entre la actividad antioxidante y el color de la miel. Muchas investigaciones han determinado que las mieles de color oscuro tienen un mayor contenido de compuestos fenólicos totales y en consecuencia una mayor capacidad antioxidante. El

color de la miel, junto con el sabor y aroma son de las características principales para indicar la fuente botánica, el color de la miel puede ir desde amarillo muy pálido, casi blanco, hasta tonos oscuros como ámbar o casi negros (Bertoncelj, Doberšek, Jamnik, & Golob, 2007).

En la actualidad se utiliza una amplia variedad de antioxidantes sintéticos que presentan deficiencias tecnológicas como sensibilidad al calor y volatilidad, pero también presentan antecedentes inusuales en efectos contra la salud, debido a esto se buscan fuentes de antioxidantes naturales que reemplacen a los compuestos sintéticos.

El principal objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros de color y presencia de compuestos bioactivos, y así identificar como pueden influenciar las diferentes tonalidades de miel en el contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides a través de su luminosidad o rango de color en el que se encuentran. A partir de estos resultados se analizó el efecto que tiene la miel con valores altos de compuestos bioactivos y tonalidades oscuras sobre el retraso de la oxidación lipídica de la grasa de cerdo sometida a temperatura y flujo de aire y así determinar su posible uso como aditivo antioxidante en alimentos de origen animal para su mejora tecnológica y nutricional.

Los resultados de los análisis realizados mostraron que la mayoría de las mieles del estado de Hidalgo presentan colores oscuros, clasificados entre Extra light amber y Dark amber en la escala de Pfund, así como tendencia hacia tonos amarillos y rojos en los parámetros de color a^* y b^* , con una luminosidad baja en el parámetro L^* . Por su parte los compuestos bioactivos mostraron buen contenido de fenoles totales entre 22.33 y 72.95 mg EAG/ 100 g miel y una presencia de flavonoides favorables entre 2.008 y 6.32 mg EAG/100 g miel. En cuento a la actividad antioxidante determinada en grasa de cerdo se analizaron las 4 muestras que mostraron mejores resultados en compuestos bioactivos y con todos oscuros de color, estas muestras presentaron un Índice de actividad antioxidante (AAI) similar a lo reportado publicaciones similares por otros investigadores. A partir de estos resultados se demuestra que el color en la miel tiene una influencia directa en cuento a su contenido de compuestos bioactivos que a su vez afectan directamente a su capacidad antioxidante, beneficiando su posible uso para retardar la oxidación lipídica en matrices alimentarias cárnicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE LA MIEL

Las muestras de miel utilizadas en este estudio fueron obtenidas durante el mes de octubre provenientes de diversos municipios del estado de Hidalgo. Tal como se muestra en la tabla I.

Muestra de miel	Municipio
2NR	Tepeji del Rio
4VZ	Zimapán
7OS	Huejutla
8FA	Zimapán

CONTENIDO FENÓLICO TOTAL

El contenido fenólico en la miel se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999). La miel se diluyó 1:10 con agua destilada y la solución resultante se filtró utilizando filtros de papel Whatman No. 1 (125 mm Ø). La solución filtrada (5 ml) se mezcló con 2,5 ml de reactivo de fenol Folin-Ciocalteu 0,2N durante 5 minutos, luego se agregaron 2 ml de solución de Na_2CO_3 (75 g / l). Las muestras se dejaron reposar durante 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad, después de este tiempo se leyó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV / VIS (U 2000 HITACHI) contra agua como blanco. El contenido fenólico total se determinó a partir de una curva estándar hecha con soluciones estándar, utilizando el rango de 0 a 150 μg / ml ($R_2 = 0.9994$). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (mg GAE) por 100 g de miel.

CONTENIDO DE FLAVONOIDES

El contenido total de flavonoides se midió utilizando el método Dowd de acuerdo con (Meda, Lamien, Romito, Millogo, & Nacoulma, 2005). Aproximadamente 1 g de cada muestra de miel se mezcló con 10 ml de metanol puro, la solución se agitó y luego se centrifugó a 15,000 rpm durante 15 minutos, luego de esto. Después de eso, 2 ml del líquido suspendido se mezclaron con 2 ml de tricloruro de aluminio al 2% (AlCl₃) y se dejaron reposar en la oscuridad durante 20 minutos. La absorbancia se midió a 415 nm en un espectrofotómetro UV / VIS (Hitachi U-2000, Tokio, Japón). El contenido total de flavonoides se determinó utilizando una curva de calibración hecha con quercetina, dentro del rango de 0 a 50 µg / mL (R² = 0.9927). Los resultados se expresaron en mg de quercetina (QE) / 100 g de miel.

COLOR

El color de las muestras de miel se midió mediante el método CIE L * a * b * donde la luminosidad representa L * y a * y b * son coordenadas de dos colores. Las muestras se colocaron en recipientes de plástico (40 mm de diámetro, volumen de miel aproximado a 5 ml) sin burbujas en la superficie. El color se estimó mediante lecturas con espectrofotómetro PCE-CSM (Konica Minolta, Japón) con un iluminante D65. Se realizaron 5 mediciones en diferentes puntos de la muestra.

COLOR POR ABSORBANCIA

El color de la miel se determinó por la absorbancia de las muestras en solución al 50% en agua (p / v), se leyó a 635 nm en celdas de 1 ml con un espectrofotómetro UV / VIS (Hitachi U-2000, Tokio, Japón) según lo descrito por Ferreira, Aires, Barreira, and Estevinho (2009). Las mieles se clasificaron según la escala de Pfund luego de obtener los resultados mediante la conversión de los valores de absorbancia de acuerdo con la siguiente ecuación: (mm Pfund) = -38.70 + (371.39 * ABS₆₃₅).

ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LÍPIDOS

La actividad antioxidante de la miel sobre la grasa se determinó mediante el método de Ruiz-Navajas et al. (2011) por medio de los cambios de conductividad con el equipo Rancimat 679 (Hertau de Metrohm AG). Anteriormente, se mezcló la manteca de cerdo derretida (3.5 g) con 0.8; 1.2 y 1.6 g de miel dando una concentración final de 4, 6 y 8 g de miel / 100 g de manteca de cerdo respectivamente en el sistema de reacción. Se vertió 3.5g de manteca de cerdo sin miel y fue usado como blanco. Las muestras se calentaron a 110 ° C y el flujo de aire de 20 l / h, se produjo un burbujeo constante en la mezcla. Al final del período de inducción (IP) se caracterizó por el aumento repentino de la conductividad del agua, debido a la disociación de los ácidos carboxílicos volátiles. El índice de actividad antioxidante (AAI) se calculó a partir de los tiempos de inducción, de acuerdo con la siguiente fórmula: AAI= Período de inducción de grasa con antioxidante/ período de inducción de grasa de cerdo pura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de las pruebas descritas en la metodología se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla II, donde se puede observar la descripción que arroja la escala de Pfund con muestras de miel que presentan tonalidades oscuras, las cuales, según la absorbancia presentada a 635nm se encuentran dentro del rango de “Dark ambar” como lo son 4VZ y 8FA; seguidas del rango “Amber” con un tono ligeramente más claro (2NR), en un rango con tonos más claros de ámbar “Light amber” se encuentra 7OS. Esta escala nos ayuda a tener una perspectiva de las muestras que posiblemente tengan más contenido de compuestos bioactivos, ya que múltiples investigaciones indican que las mieles de tonos oscuros tienen mayor presencia de minerales y compuestos fenólicos.

Tabla II. Escala de color y compuestos bioactivos en muestras de miel.			
Muestra de miel	Color escala Pfund	Fenoles (mg EAG /100g miel)	Flavonoides (mg EAG /100g miel)

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

2NR	Amber	49.438±0.33 ^a	6.329±0.07 ^c
4VZ	Dark amber	72.953±0.72 ^d	5.417±0.16 ^b
7OS	Light amber	64.076±0.29 ^b	5.368±0.09 ^b
8FA	Dark amber	71.576±0.22 ^c	3.559±0.21 ^a
*Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas (p<0.05) entre las mieles tratadas.			

En la tabla II también se pueden observar el contenido de fenoles y flavonoides expresados en mg EAG por cada 100 g de miel, la muestra que presenta mayor contenido de fenoles es la miel 4VZ con 72.953, seguida por las muestras 8FA y 7OS con 71.57 y 64.07 mg EAG/ 100g miel respectivamente; cabe mencionar que en el contenido de compuestos fenólicos se observan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre todas las muestras analizadas. Por su parte la presencia de flavonoides es mayor en la muestra 2NR que muestra diferencias estadísticas (p<0.05) con respecto a las demás mieles, seguida por 4VZ y 7OS con 5.41 y 5.36 mg EAG/100g miel, las cuales no muestran diferencias significativas (p>0.05) entre ellas.

La tabla III indica la escala de color de las muestras de miel determinadas por los parámetros L* a* b*; en cuanto a la luminosidad (L*) no se observan grandes diferencias entre la mayoría de muestras. El parámetro “a” que determina muestra valores positivos en todas las muestras lo que indica tonalidades rojizas o marrones, pero en un nivel bajo ya que son valores cercanos a 0, en este aspecto la miel 7OS muestra una tendencia más elevada que el resto. Por último, el parámetro “b” muestra tendencia hacia tonos amarillos ya que los valores son positivos, se observa una tendencia mayor en la miel 9JG.

Tabla III. Escala de color con parámetros L*a b			
Muestra de miel	Escala de color		
	L*	a*	b*
2NR	30.760±0.34 ^a	1.45±0.08 ^b	2.97±0.26 ^a
4VZ	30.910±0.04 ^a	1.98±0.09 ^c	3.59±0.08 ^c
7OS	30.628±0.13 ^a	2.14±0.09 ^d	3.45±0.17 ^{bc}
8FA	30.870±0.10 ^a	0.44±0.02 ^a	3.21±0.09 ^{ab}
*Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas (p<0.05) entre las mieles tratadas.			

A partir de los resultados obtenidos de compuestos bioactivos (fenoles y flavonoides) y escalas de color, se analizaron las 4 muestras de miel con altos valores para analizar su incidencia en la actividad antioxidante en grasa de cerdo por medio del equipo Rancimat, en la Tabla IV se observan los resultados obtenidos, con índices favorables ya que los valores son positivos, lo que indica que se redujo la oxidación lipídica con la adición de miel. La tendencia incrementa según la concentración de miel añadida ya que los mejores resultados se observan al añadir 8 g de miel por cada 100 g de grasa de cerdo en comparación de 4%.

Tabla IV. Actividad antioxidante de lípidos por Rancimat			
Muestra de miel	Índice de actividad antioxidante AAI (g miel/100g de grasa)		
	4%	6%	8%
2NR	1.17±0.018 ^{ab}	1.24±0.104 ^a	1.52±0.070 ^b
4VZ	1.12±0.067 ^a	1.36±0.135 ^a	1.50±0.104 ^b
7OS	1.25±0.116 ^b	1.29±0.106 ^a	1.42±0.126 ^{ab}
8FA	1.14±0.138 ^{ab}	1.28±0.097 ^a	1.33±0.062 ^a
*Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas (p<0.05) entre las mieles tratadas.			

Como la mayoría de autores indican, el color de la miel está directamente relacionado con la presencia de minerales, que a su vez está determinada por la fuente floral de la que proceden (Von Der Ohe, Oddo, Piana, Morlot, & Martin, 2004), el color de la miel se relaciona con la composición química,

principalmente con la presencia de carotenoides, flavonoides y polifenoles. Las mieles ámbar u oscuras presentan mayor capacidad antioxidante debido en su mayoría al contenido de compuestos fenólicos, este comportamiento lo muestran las muestras presentadas en la Tabla II en las que se ve una relación positiva en estos parámetros, esta característica es similar a la presentada por Kaškonienė *et al.*, (2009) en mieles de Polonia.

González-Miret, Terrab, Hernanz, Fernández-Recamales, and Heredia (2005) muestra en su comparación de color y compuestos minerales de diversas mieles que en parámetro L* de luminosidad tiene menor nivel en mieles multiflorales principalmente provenientes de zonas boscosas, la característica multifloral está presente en la mayoría de las muestras de miel de estado de Hidalgo, por lo cual se presenta un comportamiento similar a lo descrito por este autor. En general el comportamiento de los parámetros a* y b* es similar a bibliografía consultada en la que dependiendo de la procedencia floral de miel podrá tener tonos amarillos, rojos e incluso verdes en algunas muestras, esta comparación es favorable con los análisis hechos en Eslovenia por (Bertoncelj *et al.*, 2007).

La miel es un antioxidante natural que contiene compuestos bioactivos como fenoles, flavonoides, tocoferoles y productos de la reacción de Maillard (MRP) los cuales en conjunto le confieren un efecto antioxidante (Johnston, Sepe, Miano, Brannan, & Alderton, 2005). Se ha reportado que los MRP ayudan a retardar la oxidación de lípidos debido principalmente a los azúcares reductores y a la fructosa que reaccionan con aminoácidos de la carne durante el proceso de oscurecimiento de la carne y grasa debido al sobrecalentamiento, este efecto lo demuestra Antony, Rieck, and Dawson (2000) en estudios realizados con miel deshidratada sobre carne de pavo. Los resultados obtenidos en esta prueba son similares a los obtenidos por Ruiz-Navajas *et al.*, (2011) en mieles del estado de Tabasco que en concentraciones de 8% y 4% presentan valores de 1.24-1.80 y 1.12-1.50 AAI respectivamente, comprados con los obtenidos en el estado de Hidalgo tienen un comportamiento parecido en AAI correspondiente a la concentración de miel añadida a la grasa de cerdo.

A partir de estos resultados se demuestra que el color en la miel tiene una influencia directa en cuanto a su contenido de compuestos bioactivos que a su vez afectan directamente a su capacidad antioxidante, beneficiando su posible uso para retardar la oxidación lipídica en matrices alimentarias cárnicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Antony, S., Rieck, J., & Dawson, P. (2000). Effect of dry honey on oxidation in turkey breast meat. *Poultry Science*, 79(12), 1846-1850.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822-828. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.060>
- 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(4), 1438-1443. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.028>
- González-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M. Á., & 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(7), 2574-2580. doi: 10.1021/jf048207p
- Johnston, J., Sepe, H., Miano, C., Brannan, R., & Alderton, A. (2005). Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat science*, 70(4), 627-631.
- Kaškonienė, V., Maruška, A., Kornyšova, O., Charczun, N., Ligor, M., & Buszewski, B. (2009). Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminė technologija*, 52(3), 74-80.
- 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(3), 571-577. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Zaldivar-Cruz, J. M., Kuri, V., & Pérez-Álvarez, J. Á. (2011). Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 459-470.

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Sakač, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Pezo, L. L., Kevrešan, Ž. S., Novaković, A. R., & Nedeljković, N. M. (2019). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food Chemistry*, 276, 15-21.
- 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* (Vol. 299, pp. 152-178): Academic Press.
- Von Der Ohe, W., Oddo, L. P., Piana, M. L., Morlot, M., & Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S18-S25.