Rev. Cienc. Tecnol.
Año 15 / Nº 19 / 2013 / 59–63

El Color como indicador del contenido de flavonoides en miel

Color as an indicator of flavonoids content in honey

María C. Ciappini, María B. Gatti, María V. Di Vito

Resumen

Los pigmentos naturales presentes en la miel son fundamentalmente carotenos y flavonoides; éstos además de aportar color a la miel, le otorgan capacidad antioxidante. El objetivo de este trabajo fue establecer una relación entre el contenido de flavonoides totales y el color de la miel y estudiar la viabilidad de éste parámetro, como indicador de la capacidad antioxidante. Se analizaron 81 muestras, en las que se determinó espectrofotométricamente el contenido de compuestos flavonoides y se midió el color, utilizando un colorímetro digital HANNA. El contenido de flavonoides estuvo comprendido entre 1,42 y 17,75 mg QE/100 g de miel. El rango de colores estuvo completamente representado. La correspondencia entre los valores de color y contenido de flavonoides en las mieles estudiadas (r^2=0,93), indicó que los compuestos flavonoides contribuyeron con su presencia, a constituir este atributo de apariencia, cuya determinación resultaría útil como indicador del contenido de flavonoides en la miel.

Palabras clave: Miel, flavonoides, color, capacidad antioxidante.

Abstract

Natural pigments present in honey are primarily carotenoids and flavonoids, ando also provide color and antioxidant capacity. The aim of this work was to establish a relationship between total flavonoids content and honey color and studying this parameter feasibility as an indicator of antioxidant capacity. Eighty one samples of honey were analyzed. Flavonoid compounds were determined by spectrophotometry and color was measured using a HANNA digital colorimeter. Flavonoids content was between 1.42 and 17.75 mg QE/100 g honey. The range of colors was wholly represented. Color and flavonoids content showed positive correlation (r^2 = 0.93). This correspondence showed that flavonoids content contributed to the appearance attribute. Color determination would be useful as an indicator of flavonoids content in honey.

Key words: Honey, flavonoids, color, antioxidant capacity.

Introducción

Los flavonoides son metabolitos secundarios vegetales de origen biosintético mixto: el anillo A proviene de la ruta de la malonilcoenzima A, el anillo B y la cadena C3n provienen de la ruta del ácido shikímico. Los flavonoides no poseen las características de las vitaminas: no son aminas y conforman otro grupo químico, pero por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos, merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales (1). Son pigmentos fenólicos de las plantas y su contenido alcanza niveles de 500 mg/kg en el polen, 1000 mg/kg en el propóleo y 6 mg/kg en la miel (2), donde mayoritariamente están presentes flavanonas, flavononas y flavonoles.

La miel es una compleja mezcla de carbohidratos y de compuestos minoritarios, producidos en la naturaleza. Los azúcares representan la porción más grande de la composición de la miel (95-99% de sólidos de la miel) mientras que las proteínas, aldehídos aromáticos, ácidos carboxílicos aromáticos y sus ésteres, carotenoides degradados, terpenoides, flavonoides y otros compuestos, contribuyen al sabor de las mieles (2).

La composición química de la miel depende en gran medida de los tipos de flores utilizados por las abejas, así como también, de las condiciones regionales y climáticas, dando como resultado un producto particular, para el que se justifica definir sus características y establecer un "tipo" de miel para cada zona. Definir los atributos de las mieles resulta importante para su posterior comercialización y para aportarle un valor agregado a las mismas. La cotización de una miel en el mercado internacional está determinada en gran parte en base a su color, sabor y contenido de humedad.

El color es una propiedad física inmediatamente observada por el consumidor de alimentos. Su determinación es un criterio de clasificación útil para la miel; el precio de este producto a granel con destino a blends, depende en gran medida de este atributo. Los métodos de determinación del color en la miel se basan fundamentalmente en comparaciones ópticas, utilizando colorímetros Pfund o Lovibond, siendo metodologías sencillas y económicas. Se

han desarrollado otros métodos para la medición del color, tales como la determinación de los parámetros CIELab del sistema triestímulo, pero estos aún no han sido introducidos como controles de rutina (3). Los exportadores de miel han incorporado por su mayor disponibilidad, versatilidad y practicidad, el colorímetro Hanna, que apareció en el mercado en 2004 (4). Varios autores coinciden en que es factible obtener mediciones confiables con el colorímetro Hanna e implementar su uso, prestando especial atención al rango de mieles Blanco Agua (0-8 mm Pfund), Extra Blanco (8-17 mm Pfund) y Ámbar Oscuro (> 114 mm Pfund), donde la correlación entre las mediciones con el colorímetro Hanna respecto del colorímetro Pfund, se alejan de la linealidad (4, 5, 6).

Ulloa y col. (7) encontraron que la miel es una fuente natural de antioxidantes, los cuales son efectivos para reducir el riesgo de enfermedades del corazón, sistema inmune, cataratas y diferentes procesos inflamatorios. Resulta interesante cuantificarlos y establecer un indicador de su presencia, que sea fácilmente medible.

Con el objeto de determinar la contribución relativa de los compuestos flavonoides a las características sensoriales de apariencia en mieles, se evaluó la existencia de una correlación entre el contenido de compuestos flavonoides y el color de la miel, atributo de fácil determinación, que podría ser, además, un indicador de otras características, tales como la capacidad antioxidante.

Material y métodos

Se analizaron 81 muestras, principalmente mieles monoflorales de tréboles (*Trifolium* spp., n=46) y de eucalipto (*Eucalyptus* sp., n=17), provenientes de la Región Pampeana, donde se encuentran principalmente mieles florales de estos orígenes (8, 9, 10, 11, 12, 13). Las mieles restantes provenían de islas del Delta del río Paraná (multiflorales n=18); para referenciarlas en el trabajo, se denominaron mieles del Delta. Las mieles originarias de esta región provienen generalmente de vegetación hidrófila (14, 15).

El carácter monofloral se asignó de acuerdo a la Resolución SAGPyA Nº 274/95 (16) y a los resultados obtenidos mediante análisis palinológico (17).

Los compuestos flavonoides se determinaron según Zhishen y col. (18). Las mediciones se efectuaron sobre soluciones acuosas de miel de concentración igual a 1 mg/mL, sobre las que se adicionaban 0,5 mL de $AlCl_3$ al 5%. Las lecturas se realizaron a 425 nm, en un espectrofotómetro Varian Cary 50 (Las Vegas, USA) y cubetas de cuarzo de 10 mm de paso. Los resultados se expresaron en mg de quercetina equivalente (QE) en 100 g de miel, a partir de la curva de calibración obtenida para soluciones estándar de quercetina (mg QE/100 g miel = 15,26 Absorbancia – 0,09, (R^2= 0,999)). Los resultados se obtuvieron como promedio de tres determinaciones.

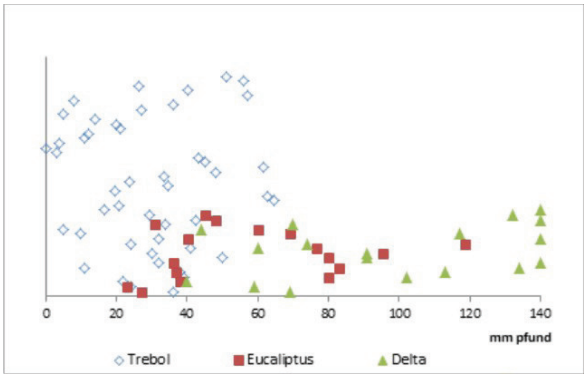
El color se determinó utilizando un colorímetro digital HANNA Honey Color 221 (Woonsocket, USA) con lectura directa en mm Pfund. El equipo se calibró con glicerina y las lecturas de color se realizaron por duplicado, en mieles líquidas y sin burbujas. Las mieles cristalizadas se calentaron a 55 ± 1ºC, hasta la desaparición de los cristales.

La correlación entre color y contenido de flavonoides se analizó mediante regresión lineal y logarítmica. Se empleó ANOVA para determinar la existencia de diferencias significativas en el rango estudiado, para las variables dependientes y los distintos orígenes florales, seguido por el test de Tukey. El tratamiento estadístico de los datos se realizó empleando Excel 2010.

Resultados y Discusión

El rango de colores de la escala Pfund estuvo completamente representado, se encontraron muestras cuyos colores estuvieron comprendidos entre 0 y 140 mm Pfund, como se muestra en la Figura 1. El valor promedio de color para las mieles de tréboles fue igual a 29,7 ± 17,3 mm Pfund. El color de las mieles del Delta estuvo comprendido entre 40 y 140 mm Pfund ($\dot{x}$ = 97,6 ± 35,7 mm Pfund) y el color de las mieles de eucalipto alcanzó un valor promedio igual a 58,1 ± 27,3 mm Pfund.

Figura 1: Rangos de color de las mieles según su origen.



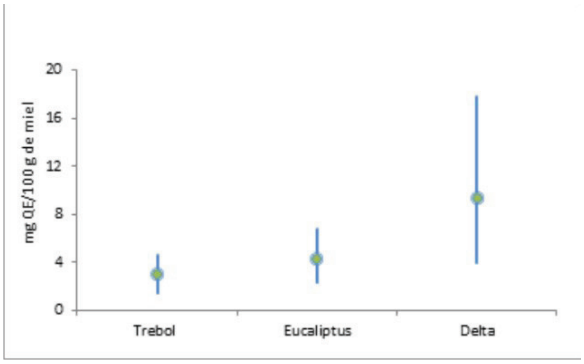
Se encontraron diferencias significativas (p≤0,05) para el color, entre los tres grupos de mieles estudiados.

El contenido de flavonoides estuvo comprendido entre 1,42 y 17,75 mg QE/100g de miel, con un promedio de 4,33 ± 3,05 mg QE/100g de miel. En coincidencia con estos resultados, Meda y col. (19) informaron promedio iguales a 2,57 ± 2,09 mg QE/100 g para mieles multiflorales y mieles de melada; mientras que Vit y col. (20) encontraron contenidos entre 1,90 y 15,74 mg QE/100 g para mieles checas y Muñoz y col. (2) detectaron niveles de flavonoides entre 0,014 a 13,8 mg/100 g de miel, para mieles chilenas, señalando que estos contenidos no tienen interés nutricional en comparación con otros alimentos. Otros autores informaron rangos de menor amplitud, pero comprendidos entre los valores mencionados en el párrafo

anterior (2, 21, 22, 23, 24).

Entre las mieles de tréboles, hubo una muestra con un contenido de flavonoides igual a 7,5 mg QE/100 g; mientras que el 75%, tuvo niveles de flavonoides de 3,60 mg QE/100 g o menores y un promedio de 2,96 ± 0,87. El 75% de las mieles del Delta analizadas mostraron un contenido mayor a 6,19 mg QE/100 g, con un promedio igual a 9,41 mg ± 4,15 mg QE/100 g de miel y el 75% de las mieles de eucalipto tuvieron a lo sumo un nivel de flavonoides de 5,65 mg QE/100g de miel, con un promedio de 4,26 ± 1,43.

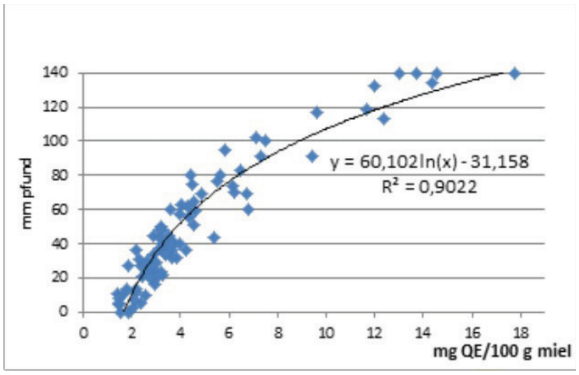
Figura 2:Máximos, mínimos y promedios del contenido de flavonoides en mieles de distinto origen



Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para el contenido de flavonoides entre los tres grupos de mieles estudiados.

Para el conjunto de valores obtenidos en este trabajo, las variables color y contenido de compuestos flavonoides presentaron correlación positiva (r^2=0,93). Esta correlación estuvo apropiadamente representada por una función logarítmica, como se muestra en la Figura 3 (R^2 = 0,90).

Figura 3: Relación entre el contenido de flavonoides y el color de la miel



Desde el punto de vista comercial, mieles con colores mayores a 114 mm Pfund son consideradas oscuras y adquieren un valor generalmente menor que otras más claras. Por esa razón, carece de interés discriminar el valor exacto de color por encima de los 114 mm Pfund. Los instrumentos de medición reflejan esta situación y expresan las mediciones de color hasta 140 mm Pfund. Las respuestas de los instrumentos de medición no brindan resultados confiables o discriminantes para este rango de colores, pudiendo este factor incidir en la regresión obtenida.

La relación encontrada entre el contenido de flavonoides y el color, coincidió con lo observado por otros autores, quienes informaron correlaciones positivas entre la actividad antioxidante, el color de las mieles, su contenido de flavonoides y de polifenoles (25, 26, 27). Corbella y col. (28) determinaron que las mieles oscuras se destacan ante las mieles claras por su capacidad antibacteriana, atribuida al peróxido de hidrógeno, y al poder antioxidante, debido a que poseen mayor cantidad de pigmentos vegetales, como carotenoides y, fundamentalmente, flavonoides.

Vit y col. (20) encontraron que la actividad antioxidante de las mieles fue directamente proporcional al color y al contenido de flavonoides. Estos autores consideraron que las propiedades antioxidantes de la miel están relacionadas con su color y con el contenido de humedad, ya que muchos de los pigmentos que presentan actividad antioxidante son hidrosolubles y el contenido de agua de la miel, puede determinar la concentración de estos compuestos y ser los responsables de las variaciones en la actividad antioxidante de las mieles.

Bogdanov (29), en cambio, informó que las mieles oscuras contenían más derivados de ácidos fenólicos y menos flavonoides que las mieles claras, en coincidencia con lo indicado por Tomás Barberán y col. (30). Estos autores atribuyen este fenómeno a la acción de las polifenoloxidasas presentes en la miel, que oxidan a los flavonoides para dar estructuras quinonídicas que se polimerizan. Los compuestos resultantes son de color pardo y le otorgan una coloración más oscura a estas mieles.

Conclusiones

La correspondencia entre los valores de color y contenido de compuestos flavonoides en las mieles estudiadas, indica que estos compuestos contribuyen a constituir ese atributo de apariencia.

Si se considera lo informado por otros autores en relación a la capacidad antioxidante que presentan los flavonoides, podría indicarse que las mieles más oscuras manifiestan también esta propiedad con una mayor intensidad que las mieles más claras. Sin embargo, y teniendo en cuenta que ni el color ni la capacidad antioxidante de la miel dependen solamente de la presencia de flavonoides, es necesario comprobarlo experimentalmente.

Bibliografía

1. **Martínez Flórez, S.; González-Gallego J.; Culebras J. M.; Tuñón M. J.,** *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes, Nutr. Hosp*., 17 (6) 271-278, 2002.
2. **Muñoz, O.; Copaja, S.; Speisky, H.; Peña, R.; Montenegro, G.,** Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mie-

les chilenas e índice antioxidante, *Quim. Nova,* 30(4): 848-851, 2007.

3. **Terrab, A.; Diez, M.J.; Heredia, F.J.,** Chromatic Characterisation of Moroccan Honeys by Diffusse Reflectance and Tristimulus Colorimetry – Non Uniform and Uniform Colour Spaces, *Food Sci. Tech. Int.*, 8(4): 189-195, 2002.
4. **Delmoro, J.; Muñoz, D.; Nadal, V.; Clemente, A.; Pranzetti, V.,** El color de los alimentos: determinación del color en mieles, *Invenio,* 13(25): 149-156, 2010.
5. **Gómez Pajuelo, A.,** Medida digital del color de la miel y su equivalencia en mm Pfund, Actas Feria Apícola de Castilla, Guadalajara, España, en http:// www.feriaapicola.com, (consultado diciembre 2008).
6. **Gaggiotti, M.C.; Cuatrín A.L.; Wanzenried, R.A.; Sabbag, N.G.,** Comparación de cuatro instrumentos para medir color en miel, Libro de Resúmenes XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Concordia, Entre Ríos, Argentina, 2009.
7. **Ulloa, J.A.; Mondragón Cortez, P.M.; Rodríguez Rodríguez, R.; Reséndiz Vázquez, J.A.; Rosas Ulloa, P.,** La miel de Abeja y su importancia, *Fuente,* 2: 11-18, 2010.
8. **Tellería, M.C.,** Analyse pollinique des miels du nord-ouest de la province de Buenos Aires (République Argentine), *Apidologie,* 19 (39): 275-290, 1988.
9. **Tellería, M.C.,** Caracterización botánica y geográfica de las mieles de la provincia fitogeográfica pampeana (República Argentina) II: Tandilia, *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 32 (1-2): 91-94, 1996.
10. **Tellería, M.C.,** Caracterización botánica y geográfica de las mieles de la provincia fitogeográfica pampeana (República Argentina) III: noreste de la Provincia de La Pampa, *Darwiniana,* 34 (1-4): 245-249, 1996.
11. **Irurueta, M.; Oliva, A.; Giradles, X.; Sanchez, J.,** Análisis polínico de mieles de la provincia de Buenos Aires (Argentina). En: Fombella Blanco, M.A., D. Fernández González & R.M. Valencia Barrera. (eds.). *Palinología: Diversidad y Aplicaciones*. XII Simposio de Palinología (A.P.L.E.), León, pp.369-375, 2001.
12. **Malacalza, N.; Caccavari, M. A.; Fagúndez, G. A.; C.E.** Lupano, Unifloral honeys of the province of Buenos Aires, Argentine, *J. Sci. Food Agric.*, 85: 1389-1396, 2005.
13. **Gaggiotti, M.; Wanzenried, R.; Cuatrin, A.,** Informe de siete años de análisis de miel en el Laboratorio de Producción Animal de INTA EEA Rafaela (LPA). Libro de Resúmenes del 2º Congreso Argentino de Apicultura. Mar del Plata, 16, 2008.
14. **Basilio, A.; Romero, J.,** Contenido polínico en las mieles de la región del Delta del Paraná (Argentina), *Darwiniana* 34 (1-4): 113-120, 1996.
15. **Caccavari, M.; Fagúndez, G.,** Pollen spectra of honeys from the middle Delta of Paraná River (Argentina) and their environmental relationship, *Spanish Journal of Agricultural Research,* 8 (1): 42-52, 2010.
16. **SAGPyA. 1995**. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Resolución 274/95. Tipificación por origen botánico (Modificación de la Res. SAGPyA 1051/94). Disponible en http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/apicola, consultado: 12/11/11.
17. **Louveaux, J.; Maurizio, A.; Vorwohl, G.,** Methods of Melissopalynology, *Bee World,* 59: 139-157, 1978.
18. **Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W.,** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64(4): 555-559, 1999.
19. **Meda, A.; Lamien, C.; Romito, M.; Millongo, J.; Nacoulma, O.,** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan Honey, as well as their radical scavening activity, *Food Chemistry,* 91: 571-577, 2005.
20. **Vit, P.; Gutiérrez, M.G.; Titera, D.; Vendar, M.; Rodríguez Malaver, A.J.,** Mieles checas categorizadas según su capacidad antioxidante, *Acta Bioquím. Clin. Latinoam.,* 42(2): 237-244, 2008.
21. **Álvarez Suárez, A.; Tulipani, J.; Romandini, S.; Bompadre, S.; Vidal, A.; Battino, M.,** Determinación de la capacidad antioxidante total en mieles de abeja por el método FIA ABTS, In: Proceedings of the Congreso de Apicultura, p. 33, Concepción, Agosto 2009.
22. **Baltrusaityt, V.; Venskutonia, P.R.; Ceksteryt, V.,** Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts, *Food Chemistry*, 101: 502-514, 2007.
23. **Martos, I.; Cossetini, M.; Ferreres, F.; Tomas Barberan, F.A.,** Flavonoid composition of Tunisian honeys and propolis, *J. Agric Food Chem,* 45: 2824-9,1997.
24. **Yao, L.; Jiang, Y.; Singanusong, R.; Darcy, B.; Datta, N.; Caffin, N.; Raymond, K.,** Flavonoids in Australian Maleluca, Guioa, Lophostemosn, Banskia and Helianthus honeys and their potencial for floral authentication, *Food Res. Int.,* 37 (2) 166-174, 2004.
25. **Frankel, S.; Robinson, G.E.; Berenbaun, M.R.,** Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys, *J. Apic. Res*. 37: 27-31, 1998.
26. **Bertoceij, J.; Dobersek, U.; Jamnik, M.; Golob, T.,** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey, *Food Chem.*, 105(2): 822-8, 2007.
27. **Vela, L.; de Lorenzo, C.; Perez, R.A.,** Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with some physicochemical parameters and poliphenolic content, *J. Sci. Food Agric.,* 87:1069-1075, 2007.
28. **Corbella, E.; Tejera L.; Cernuschi F.,** Calidad y origen botánico de mieles del noreste de Uruguay, *INIA,* 3: 6-7, 2005.
29. **Bogdanov, S.; Ruoffa, K.; Persano Oddo, L.,** Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: a review, *Apidologie,* 35, S4–S17, 2004.
30. **Tomás-Barberán, F.A.; Ferreres, F.; Valbuena, A.O.; Fernández Maeso, M.C.,** Estudio sobre el contenido en flavonoides de las mieles de La Alcarria: Su aplicación en la carac-

terización geográfico-botánica, Castilla, La Mancha, *CSIC,* 1994.

Recibido: 12/09/2012
Aprobado: 04/02/2013

• María Cristina Ciappini[1]
Ingeniera Química y Magister en Tecnología de los Alimentos. Se desempeña como investigadora en el CIDTA, UTN, FRRo, Categoría II en el Programa de Incentivos MECyT. Ha dirigido proyectos de investigación y publicado numerosos artículos en revistas científicas. Es docente en carreras de grado y de posgrado (UTN, UNR), en áreas de Calidad, Fisicoquímica y Análisis Sensorial de los Alimentos. Participa en actividades de jurado y ha dirigido tesis de maestría. Es Directora del Área de Posgrado y Educación Continua UTN-FRRo. laboratorio@ucel.edu.ar

• María Bernardita Gatti[1]
Ingeniera en Tecnología de los Alimentos y cursó la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de UNL (pendiente tesis) y la Especialización en Cultivo de Granos de FAUBA. Se desempeña como Investigadora en el Área de Investigación y Desarrollo en Tecnología de los Alimentos de UCEL, donde ha participado en proyectos de investigación, relacionados con la caracterización fisicoquímica y nutricional de alimentos, así como también con análisis sensorial y desarrollos. Es docente en carreras afines a la tecnología alimentaria.

• María Victoria Di Vito[1]
Ingeniera en Tecnología de los Alimentos y posee título de especialización en Docencia Universitaria. Se desempeña como Investigadora en el Área de Investigación y Desarrollo en Tecnología de los Alimentos y es docente en la Licenciatura en Nutrición en UCEL y en otras instituciones. Ha publicado artículos en revistas científicas y asistido a numerosos congresos y reuniones científicas, en carácter de disertante, expositor y participante. Participa en tareas de extensión y asesoramiento técnico.

1. UCEL – Universidad del Centro Educativo Latinoamericano. Tel. 54-341-426-1241. E-mail: laboratorio@ucel.edu.ar - Pellegrini 1332, Rosario, Santa Fe, Argentina.