



ESCUELA DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS, ANIMALES Y AMBIENTALES
INGENIERÍA AGRONÓMICA

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MIELES MONOFLORALES DE LA REGIÓN DE O'HIGGINS Y SU
POTENCIAL EFECTO TERAPÉUTICO**

Javiera Carolina Valenzuela Riquelme
Profesor(a) guía: Dra. Andrea Müller Sepúlveda
Profesor/a colaborador/a: Liliam Monsalve Vidal

Tesina para optar al título profesional de Médico Veterinario

San Fernando, Chile
2023

Dedicatoria (opcional)

Agradecimientos (optativa)

A mis profesoras guía y colaboradora, Dra. Andrea Müller y Liliam Monsalve, por su constante apoyo y motivación durante este proceso. A mi familia, por ser un pilar incondicional en todo ámbito, entregándome seguridad en todas las decisiones que he tomado y enfrentado. Finalmente a mis perritas, Mini y Somi, por las cuales me convertí en Médica Veterinaria.

Índice general

Índice de Tablas	6
Índice de Figuras	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Hipótesis	13
Objetivo General.....	13
Objetivos Específicos.....	13
Materiales y Métodos.....	14
Resultados	21
Discusión	27
Conclusiones	33
Referencias Bibliográficas.....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Condiciones espectrofotométricas EPOCH para medición de polifenoles totales	15
Tabla 2. Condiciones espectrofotométricas EPOCH para medición de capacidad antioxidante	17
Tabla 3. Concentración promedio de polifenoles ($\mu\text{g/g}$) en muestras de mieles monoflorales	21
Tabla 4. Promedio de concentración de polifenoles totales según tipo de miel	21
Tabla 5. Capacidad antioxidante promedio ($\mu\text{g TEAC/g}$) en muestras de mieles monoflorales	22
Tabla 6. Promedio de capacidad antioxidante total según tipo de miel	23

Índice de figuras

Figura 1. Curva de calibración para la determinación de concentración de polifenoles en muestras de mieles monoflorales	20
Figura 2. Curva de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante en muestras de mieles monoflorales	22
Figura 3. Relación entre concentración de polifenoles y capacidad antioxidante en muestras de mieles monoflorales	24
Figura 4. Mapa de provincias de muestras de mieles monoflorales	24
Figura 5. Mapa de provincias de muestras de mieles monoflorales (región de Los Lagos)	25
Figura 6. Mapa de comunas de muestras de mieles monoflorales	25
Figura 7. Mapa de comunas de muestras de mieles monoflorales (región de Los Lagos)	26
Figura 8. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su concentración de polifenoles ($\mu\text{g GAE/g}$).	27
Figura 9. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su concentración de polifenoles ($\mu\text{g GAE/g}$), región de Los Lagos	27
Figura 10. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su capacidad antioxidante ($\mu\text{g TEAC/g}$).	28
Figura 11. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su capacidad antioxidante ($\mu\text{g TEAC/g}$), región de Los Lagos	28

Resumen

La apicultura en la región de O'Higgins ha experimentado un gran desarrollo durante los últimos años, siendo el producto más común y de mayor importancia la miel, sustancia de origen natural producida por abejas *apis mellifera* y compuesta agua, carbohidratos y sustancias bioactivas como los polifenoles. Poca información se tiene respecto al tipo de miel monofloral en la región por lo que se realizó un estudio para determinar la concentración de polifenoles, la capacidad antioxidante en distintas muestras de mieles monoflorales y la relación con su origen. De estas muestras se obtuvo que la concentración de polifenoles osciló aproximadamente entre 340–507 µg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de miel. Al comparar las medias entre ambos tipos de mieles (monoflorales y multiflorales), se determinó que no existen diferencias significativas entre ambas. En relación a la capacidad antioxidante, se obtuvieron valores que variaron entre 125–1432 µg equivalentes de Trolox (TEAC)/g de miel. De acuerdo al origen de las muestras, se determinó que provenían de la región de O'Higgins, específicamente de las provincias de Cachapoal y Colchagua. También se localizaron algunas muestras en la región de Los Lagos, en la provincia de Llanquihue. Finalmente se determinó una correlación positiva entre la concentración de polifenoles y la capacidad antioxidante, pudiendo inferir que las muestras que contienen una alta cantidad de polifenoles, poseen una mayor capacidad antioxidante y por consiguiente podrían tener un mayor efecto terapéutico.

Palabras clave: miel monofloral, concentración de polifenoles, capacidad antioxidante, región de O'Higgins.

Abstract

Beekeeping in the O'Higgins region has undergone great development in recent years, the most common and important product being honey, a substance of natural origin produced by *apis mellifera* bees and composed of water, carbohydrates and bioactive compounds such as polyphenols. Little information is available on the type of monofloral honey in the region, so a study was conducted to determine the concentration of polyphenols, the antioxidant capacity in different samples of monofloral honeys and the relationship with their origin. From these samples it was obtained that the concentration of polyphenols ranged approximately between 340–507 µg gallic acid equivalents (GAE)/g of honey. When comparing means between both types of honeys (monofloral and multifloral), it was determined that there were no significant differences between them. In relation to antioxidant capacity, values ranging from 125–1432 µg Trolox equivalent (TEAC)/g of honey were obtained. According to the origin of the samples, it was determined that they came from the O'Higgins region, specifically from the provinces of Cachapoal and Colchagua. Some samples were also located in the Los Lagos region, in the province of Llanquihue. Finally, a positive correlation was determined between the concentration of polyphenols and antioxidant capacity, inferring that samples containing a high amount of polyphenols will have a greater antioxidant capacity and could therefore have a greater therapeutic effect.

Keywords: monofloral honey, concentration of polyphenols, antioxidant capacity, O'Higgins region.

Introducción

La apicultura en Chile es un rubro de gran importancia (Pélissou et al., 2016) debido a que existen alrededor de 10 mil explotaciones que administran más de 454 mil colmenas, las cuales generan una variedad de productos apícolas como cadena productiva (ODEPA, 2022). La apicultura chilena cuenta con servicios de polinización y producción de miel principalmente, pero también de propóleo, polen, jalea real y cera de abeja como productos apícolas (Iturra, 2021). Es relevante tener en cuenta que la región de O'Higgins es la segunda región del país con mayor cantidad de colmenas (Pélissou et al., 2016), la tercera con el mayor número de apicultores (12% sobre el total de registrados) y habilitada para exportar miel (30% de los registrados pertenecen a esta región) (Iturra, 2021). También es importante destacar que la región de O'Higgins registró un gran aumento en el número de colmenas en el año 2020 con respecto al año 2019, particularmente aumentó en un 41% y lo mismo ocurrió con los apiarios, aumentando en un 52% respecto al año anterior (Iturra, 2021).

Desde la antigüedad, los productos apícolas como la miel, propóleo, polen, jalea real y cera de abeja de *Apis mellifera* han sido comúnmente utilizados como medicamentos naturales por sus propiedades curativas y su alto contenido de moléculas bioactivas (Martinello y Mutinelli, 2021). Hoy en día se siguen utilizando estos productos ampliamente en la comunidad, de los cuales la miel es el principal producto que se obtiene de la actividad apícola (Pélissou et al., 2016) y es reconocida por su alto valor nutricional, su capacidad antioxidante, microbiológica y cicatrizante (Iturra, 2021).

De acuerdo al codex alimentarius de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019), la miel corresponde a la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas. Según Kafantaris et al. (2020) la

miel se produce por la deshidratación y maduración del néctar de las flores o de los exudados secretados por otros insectos, o una mezcla de éstos en los panales.

Existen diferentes tipos de mieles dependiendo de la fuente floral de donde proviene el néctar. La primera corresponde a las mieles monoflorales, las cuales provienen de una fuente floral principalmente, en donde el polen que las caracteriza está presente en el sedimento en cantidades superiores al 45%. En segundo lugar, las mieles multiflorales provienen de diversas fuentes florales, en donde ningún polen es el dominante (Al-Hatamleh et al., 2020; Honrado, 2020).

Este producto natural se compone principalmente de agua y carbohidratos, pero también contiene otros compuestos como ácidos orgánicos, minerales, vitaminas, enzimas, proteínas, aminoácidos y varias sustancias bioactivas como son los fenoles y flavonoides que se encuentran en mayor concentración en las mieles de colores más oscuros (Machado De-Melo et al., 2018). También es importante considerar que la composición de la miel y sus actividades biológicas varían dependiendo de sus orígenes botánicos y geográficos (Deng et al., 2018).

Las sustancias bioactivas que forman parte de la miel han sido designadas como las que potencialmente poseen propiedades terapéuticas, las cuales proveen a este producto de actividades antioxidantes, antibacterianas y antiinflamatorias (Machado De-Melo et al., 2018). Terzo et al. (2020) mencionan que los componentes principales responsables de las propiedades antioxidantes son los polifenoles (ácidos fenólicos y flavonoides), vitamina C, E y enzimas.

La capacidad antioxidante que entregan los polifenoles a la miel contribuyen en la prevención de algunas enfermedades mediante la protección de las células frente a un daño causado por agentes oxidativos como, por ejemplo, los radicales libres (Martinello y Mutinelli, 2021). Estos radicales libres están involucrados en la degradación celular y en procesos que llevan a la muerte celular (Meo et al., 2017; Martinello y Mutinelli, 2020). Al contener estos agentes

antioxidantes o compuestos fenólicos, la miel es capaz de enlentecer o inhibir la oxidación de otros compuestos ya que forman moléculas más estables y menos tóxicas, es decir, estabilizan a los radicales libres mediante el desprendimiento de hidrógeno de uno de sus grupos hidroxilo y por consiguiente previenen estos cambios celulares degenerativos en el organismo (Meo et al., 2017; Cianciosi et al., 2018; Martinello y Mutinelli, 2020).

Recientemente se han realizado diversos estudios sobre la capacidad antioxidante y antimicrobiana de algunas mieles de Chile con importantes resultados (Muñoz et al., 2007; Bridi et al., 2017; Giordano et al., 2019; Velásquez et al., 2020), sin embargo, existe escasa información sobre investigaciones de este tipo con mieles de la región de O'Higgins. Las mieles de tipo monoflorales tienen un gran potencial para la producción y el uso como ingredientes naturales y funcionales, con especial atención a su uso en el ámbito médico (Mărgăoan et al., 2021). Además, la medicina veterinaria ha experimentado un gran interés por el uso de la miel como agente terapéutico. No obstante, todavía existe poca información disponible en la literatura sobre el alcance que tiene este producto de la colmena en la terapéutica veterinaria (Vogt et al., 2021).

Por estas razones, el propósito de esta tesis es determinar la capacidad antioxidante de mieles monoflorales de la región de O'Higgins, midiendo las concentraciones totales de polifenoles y su capacidad antioxidante, relacionando el origen de las mieles con su capacidad antioxidante y su potencial efecto terapéutico.

Hipótesis

Las mieles monoflorales de la región de O'Higgins poseen una mayor cantidad de polifenoles, una mejor capacidad antioxidante y por consiguiente un mayor potencial efecto terapéutico.

Objetivo general

Determinar la concentración de polifenoles y la capacidad antioxidante de mieles monoflorales en la región de O'Higgins.

Objetivos específicos

- Determinar la concentración total de polifenoles de diferentes mieles monoflorales de la región de O'Higgins.
- Obtener la capacidad antioxidante de diferentes mieles monoflorales de la región de O'Higgins.
- Relacionar el origen de las mieles monoflorales con su capacidad antioxidante y su potencial efecto terapéutico.

Materiales y métodos

1. Recolección de muestras y obtención de datos

1.1 Obtención muestras de mieles

Se recolectaron muestras de mieles monoflorales producidas por abejas *Apis mellifera L.* de la región de O'Higgins, las cuales fueron aportadas gentilmente por apicultores de la zona y posteriormente se almacenaron fuera de la luz en el Laboratorio de Farmacología de campus Colchagua de la Universidad de O'Higgins.

1.2 Recolección datos apicultores

Posterior a la obtención de las mieles se recolectaron los datos de los apicultores que aportaron las muestras de mieles para tener una base de datos que nos permitió analizar algunos parámetros de las muestras. Para esto se contactó a cada uno de los apicultores vía llamada telefónica y se les preguntaron los siguientes datos:

- Nombre completo
- Rut
- Correo electrónico
- Comuna de la cual se recolectó la miel
- Localidad de la cual se recolectó la miel
- Tipo de miel que proporcionó (monofloral o multifloral)
- Mes y año de envasado de la miel
- Otros datos que pueda proporcionar (como clima de la zona, estado sanitario de sus colmenas y abejas, producción, etc.).

Luego de recolectar estos datos, se le realizó una codificación a cada muestra de miel para su identificación e individualización.

2. Metodologías

En este proyecto se realizaron las siguientes metodologías para obtener los resultados planteados en los objetivos específicos:

2.1 Determinación del contenido de polifenoles totales

2.2 Determinación de la capacidad antioxidante

2.3 Relación del origen de las mieles (georreferenciación), con el contenido de polifenoles totales, su capacidad antioxidante y su potencial efecto terapéutico

2.1 Determinación de polifenoles totales

Se determinó la concentración de polifenoles de cada muestra de miel para posteriormente obtener la capacidad antioxidante de éstas. Para realizar este proceso se utilizó el método colorimétrico que usa el reactivo Folin-Ciocalteu según lo descrito por Badrulhisham et al. (2020) el cual es un método espectrofotométrico. Se utilizó ácido gálico como estándar para construir una curva de calibración lineal. El contenido de polifenoles en las muestras de miel se determinó interpolando las absorbancias resultantes en la curva en función de la concentración de ácido gálico. Los resultados se expresaron como microgramos equivalentes de ácido gálico por gramo de miel ($\mu\text{g GAE/g}$).

A continuación, se detalla el procedimiento de esta metodología:

2.1.1 Condiciones espectrofotométricas

Los principales parámetros espectrofotométricos que se emplearon en el desarrollo de la metodología instrumental se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones espectrofotométricas EPOCH para medición de polifenoles totales

Longitud de onda	765 nm
Temperatura	25°C
Tiempo de incubación	60 minutos
Placa	96 pocillos
Volumen pocillo	300 µL

2.1.2 Preparación muestras de mieles

Antes de iniciar con la parte experimental, todas las muestras de mieles fueron sometidas a un proceso de homogenización y mezcla, esto debido a que la miel tiende a solidificarse y sus componentes no están distribuidos de forma homogénea dentro del envase. Este proceso se realizó revolviendo constantemente con una cuchara todos los envases que contienen las muestras de miel hasta tener una consistencia más blanda y líquida, con la finalidad de tener una muestra representativa de la miel a analizar.

2.1.3 Extracción en miel

Se realizó una extracción para concentrar los analitos (polifenoles) que posteriormente se estudiaron. Para esto se pesaron 5 g de miel monofloral en un tubo falcon o de centrifugación de 50 mL al cual posteriormente se le agregaron 10 mL de metanol al 80%, se agitaron en un vortex para homogenizar las muestras y se protegieron de la luz con papel aluminio. Luego los tubos se agitaron en un orbital shaker por 30 minutos a 300 rpm y después se centrifugaron a 6000 rpm por 15 minutos. Terminados estos procedimientos, se tomó el sobrenadante y se almacenó a -20°C.

2.1.4 Preparación de soluciones

Para esta metodología se prepararon 2 soluciones:

a) Solución ácido gálico: Se utilizó ácido gálico como compuesto fenólico estándar. Para su preparación se disolvieron 10 mg de ácido gálico en 1 mL de etanol. Luego se aforó a 10 mL con agua destilada (1 mg/mL). Finalmente se refrigeró a 4°C hasta por dos semanas.

b) Solución carbonato de sodio (10%): Para su preparación se pesaron 10 g de carbonato de sodio, se añadieron 80 mL de agua destilada y se mezcló hasta disolver. Posteriormente se aforó a 100 mL con agua destilada y se almacenó a 4°C.

2.1.5 Curva de calibrado

Se realizó una curva de calibrado con las siguientes concentraciones: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 y 0,12 mg/mL de ácido gálico.

Para realizar esta curva y determinar el contenido de polifenoles totales se colocó 3,75 mL de agua destilada en un tubo de ensayo y se adicionaron 0,5 mL de la muestra (o solución estándar) que contiene el compuesto fenólico. Para el blanco se agregó 0,5 mL de metanol. Luego se añadió 0,25 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu el cual se diluyó dos veces con agua destilada y se esperó 5 minutos. Después se agregó 0,5 mL de carbonato de sodio al 10%. Finalmente se incubó por 1 hora en oscuridad a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas EPOCH.

Con los resultados obtenidos del lector de microplacas EPOCH, se realizó un triplicado de los valores y de estos se calculó el promedio para cada muestra, con la finalidad de comparar con los demás resultados.

2.2 Determinación de la capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante de las muestras se realizó a través de un método de barrido de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de las mieles, según lo descrito en Badrulhisham et al. (2020). Se determinó la reducción del radical mediante una técnica espectrofotométrica y se utilizó Trolox como antioxidante estándar, expresando los resultados como microgramos equivalentes de Trolox de capacidad antioxidante (TEAC) por gramo de miel ($\mu\text{g TEAC/g}$).

2.2.1 Condiciones espectrofotométricas

Los principales parámetros espectrofotométricos que se emplearon en el desarrollo de esta metodología instrumental se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones espectrofotométricas EPOCH para medición de capacidad antioxidante

Longitud de onda	517 nm
Temperatura	25°C
Tiempo de incubación	30 minutos
Placa	96 pocillos
Volumen pocillo	300 μL

2.2.2 Extracción en miel

Los materiales y métodos que se utilizaron para la extracción en miel son los mismos a los indicados en el punto 2.1.2 y 2.1.3.

2.2.3 Preparación de soluciones

Para esta metodología se prepararon 2 soluciones:

a) Solución de Trolox: Se utilizó Trolox como antioxidante estándar. Para esto se pesaron 10 mg de Trolox en un matraz de aforo de 10 mL que luego se disolvieron en 5 mL de metanol y se aforó a 10 mL con metanol. Posteriormente la solución se almacenó en oscuridad a 4°C.

b) Solución de DPPH (0,1 mM): Para determinar la capacidad antioxidante se realizó un método de barrido de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de las mieles. Para preparar esta solución se pesaron 10 mg de DPPH y se disolvieron con metanol al 80%. Después se aforó a 250 mL con metanol al 80% y se almacenó en oscuridad a 4°C. Esta solución se preparó sólo antes del análisis.

2.2.4 Curva de calibrado

Se realizó una curva de calibrado con concentraciones de: 40, 60, 80, 160 y 240 mg/L de Trolox.

Para realizar esta curva y determinar la capacidad antioxidante de las mieles, en un tubo de ensayo se colocaron 500 µL de la muestra (o solución estándar) y para el blanco se utilizaron 500 µL de metanol. Luego se adicionaron 2500 µL de DPPH 0,1 mM, se mezcló e incubó en oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas EPOCH.

2.3 Georreferenciación

Ya obtenidos los resultados, se les indicó a los apicultores que aportaron las muestras de mieles que enviaran las ubicaciones de donde se extrajeron las muestras de miel, con la finalidad

de correlacionar las distintas zonas de extracción con el contenido de polifenoles totales, su capacidad antioxidante y su potencial efecto terapéutico.

Con esta información, posteriormente se construyeron diferentes mapas (con datos de la provincia, comuna, localidad), según la concentración de polifenoles y su capacidad antioxidante con todas las ubicaciones enviadas para determinar y observar diferencias en la composición de las diferentes muestras. Esto debido a que mieles cosechadas de distintas zonas podrían tener diferencias en sus composiciones dependiendo del tipo de especie floral que provee el néctar, las características del suelo y condiciones climáticas (Badrulhisham et al., 2020).

Resultados

1. Concentración de polifenoles

1.1 Concentración de polifenoles en mieles monoflorales

Se realizó una curva de calibración (Figura 1) para determinar la cantidad de polifenoles en las muestras. Para esto se utilizó la siguiente ecuación $y = 5,3326x + 0,0293$, que nos permitió obtener la concentración específica de polifenoles en $\mu\text{g/g}$.

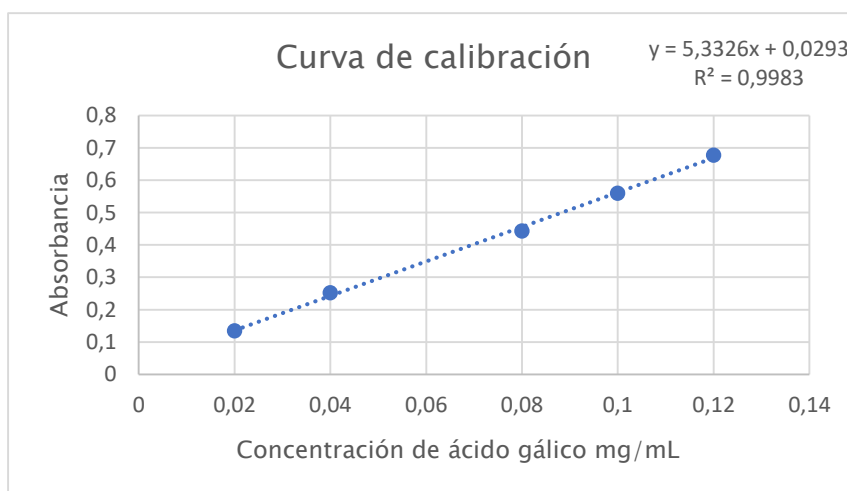


Figura 1. Recta de calibración para la determinación de concentración de polifenoles en muestras de mieles monoflorales

De las 52 muestras estudiadas, 7 de ellas fueron notificadas como mieles monoflorales y 1 de las monoflorales presentaba su origen en la región de Los Lagos (muestra N°3). Para cada muestra se obtuvo un promedio de concentración de polifenoles (Tabla 3), siendo la muestra N°15 (507,51 $\mu\text{g/g}$) la que presentó una mayor concentración de polifenoles, seguida de la N°41 y la N°4 (428,19 $\mu\text{g/g}$ y 395,56 $\mu\text{g/g}$ respectivamente). En relación a la muestra que obtuvo una menor concentración de polifenoles corresponde a la N°3 (340,05 $\mu\text{g/g}$).

Tabla 3. Concentración promedio de polifenoles ($\mu\text{g/g}$) en muestras de mieles monoflorales

Número de muestra	Concentración promedio polifenoles ($\mu\text{g GAE/g}$)	D.E $\mu\text{g GAE/g}$
N°1	377,564415	$\pm 23,628$
N°3	340,059258	$\pm 4,918$
N°4	395,566890	$\pm 9,001$
N°12	378,502044	$\pm 4,688$
N°15	507,519784	$\pm 7,688$
N°41	428,196377	$\pm 20,668$
N°43	364,812661	$\pm 40,756$

1.2 Comparación con promedio de muestras de mieles multiflorales

Al enfocar este estudio en mieles monoflorales, se calculó el promedio total de la concentración de polifenoles en el total de las muestras y en las mieles multiflorales (considerándose también las muestras que no pertenecen a la región de O'Higgins), con la finalidad de comparar resultados posteriormente. Este cálculo se realizó con la misma curva de calibración que se utilizó para las muestras de mieles monoflorales y se utilizó la prueba t de Student para determinar el valor p. Los resultados son presentados en la Tabla 4.

Tabla 4. Promedio de concentración de polifenoles totales según tipo de miel

	Media	D.E	Valor p (diferencia significativa)
Total de muestras	413,95 $\mu\text{g GAE/g}$	$\pm 94,36$	
Mieles monoflorales	398,89 $\mu\text{g GAE/g}$	$\pm 55,02$	0,65
Mieles multiflorales	416,29 $\mu\text{g GAE/g}$	$\pm 99,32$	

2. Capacidad antioxidante

2.1 Capacidad antioxidante en mieles monoflorales

Se realizó una curva de calibración (Figura 2) para determinar la capacidad antioxidante de las muestras de mieles monoflorales. Para esto se utilizó la siguiente ecuación $y = -0,0066x + 1,6711$, que nos permitió obtener la capacidad antioxidante de las muestras en $\mu\text{g/g}$.

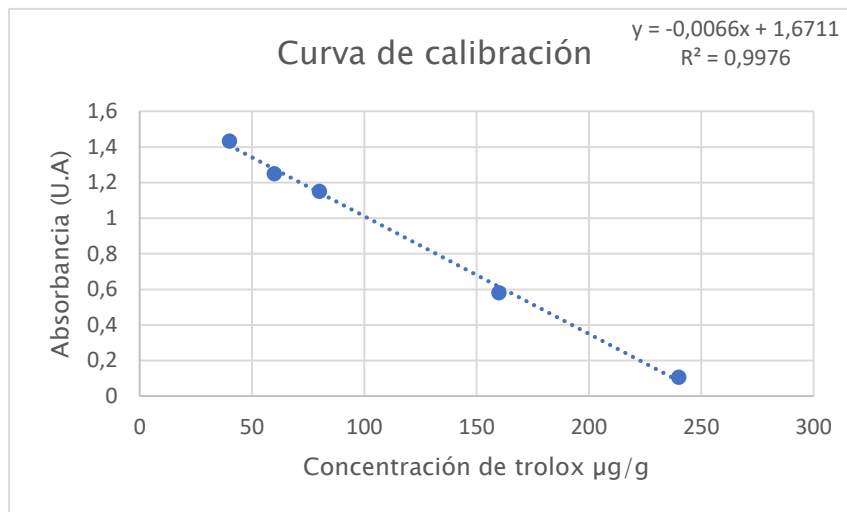


Figura 2. Recta de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante en muestras de mieles monoflorales

Para la determinación de la capacidad antioxidante se obtuvo el promedio de cada muestra (Tabla 5). De estas, la que presentó una mayor capacidad antioxidante correspondió a la N°12 (1432,979 $\mu\text{g TEAC/g}$), seguida de las muestras N°15 y N°41 (1169,343 $\mu\text{g TEAC/g}$ y 1103,333 $\mu\text{g TEAC/g}$ respectivamente). Con respecto a la que manifestó una menor capacidad antioxidante fue la N°1 con un promedio de 125,404 $\mu\text{g TEAC/g}$.

Tabla 5. Capacidad antioxidante promedio ($\mu\text{g TEAC/g}$) en muestras de mieles monoflorales

Número de muestra	Capacidad antioxidante promedio ($\mu\text{g TEAC/g}$)	D.E $\mu\text{g TEAC/g}$
N°1	125,404	$\pm 3,091$
N°3	465,808	$\pm 2,581$
N°4	215,303	$\pm 6,748$
N°12	1432,979	$\pm 5,853$
N°15	1169,343	$\pm 8,479$
N°41	1103,333	$\pm 10,434$
N°43	744,358	$\pm 20,480$

2.2 Comparación con promedio de muestras de mieles multiflorales

Como fue ejecutado en el punto 2.1, también se calculó el promedio total de la capacidad antioxidante de las muestras de mieles multiflorales (incluyendo las muestras que no pertenecen a la región de O'Higgins), con la finalidad de poder comparar los resultados de ambos tipos de mieles. Los resultados (Tabla 6) se obtuvieron con la misma curva de calibración que se utilizó para las muestras de mieles monoflorales y se utilizó la prueba t de Student para determinar el valor p.

Tabla 6. Promedio de capacidad antioxidante total según tipo de miel

	Media	D.E	Valor p (diferencia significativa)
Total de muestras	957,39 µg TEAC/g	±463,26	
Mieles monoflorales	750,93 µg TEAC/g	±503,98	0,21
Mieles multiflorales	989,51 µg TEAC/g	±454,18	

3. Relación entre concentración de polifenoles y capacidad antioxidante

Con los resultados promedio previamente obtenidos, se determinó la relación entre la concentración de polifenoles y la capacidad antioxidante en las muestras de mieles monoflorales (Figura 3). Con esos datos se podrá determinar si existe una relación entre las concentraciones de polifenoles y la capacidad antioxidante en las mieles muestreadas.

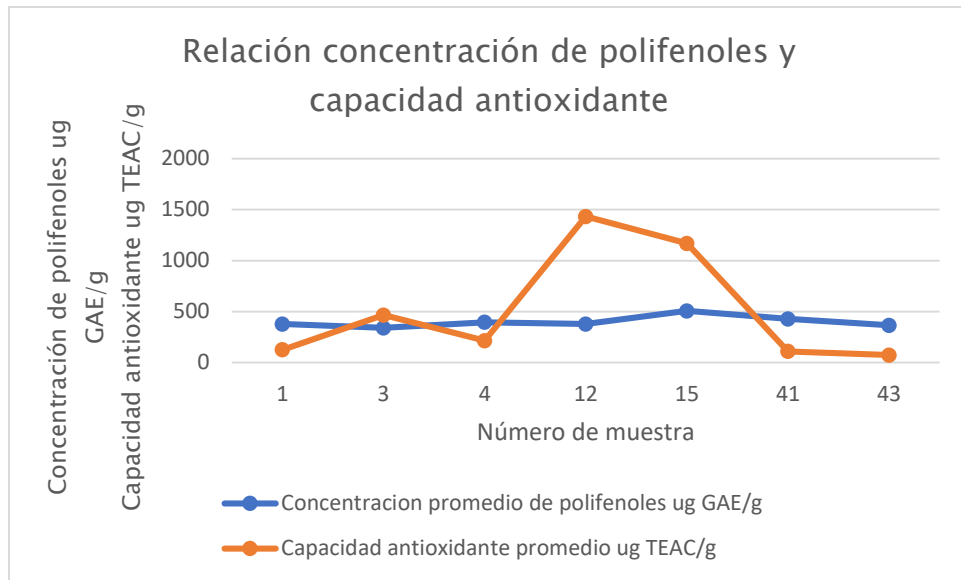


Figura 3. Relación entre concentración de polifenoles y capacidad antioxidante en muestras de mieles monoflorales

3. Georreferenciación

De los datos recolectados por parte de los apicultores, se desprendió que las muestras de mieles monoflorales pertenecen a las provincias de Cachapoal (rojo), Colchagua (azul) y Llanquihue (morado) (Figura 4 y 5).

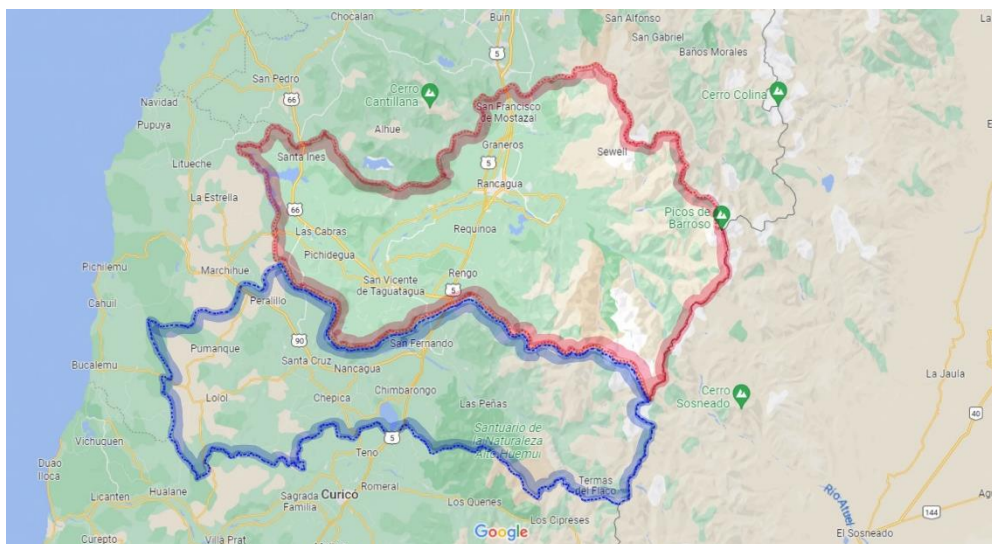


Figura 4. Mapa de provincias de muestras de mieles monoflorales

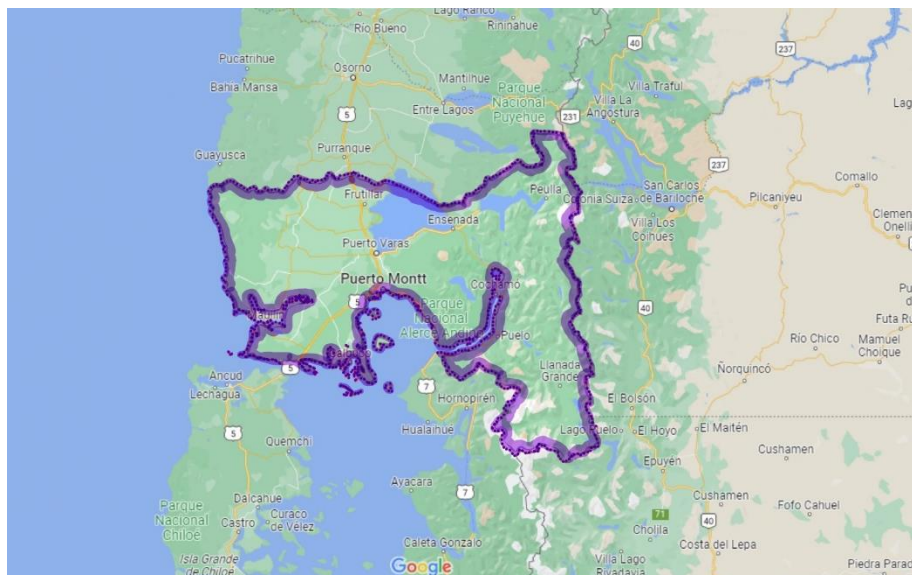


Figura 5. Mapa de provincias de muestras de mieles monoflorales (región de Los Lagos)

De la misma forma, también se determinó que las muestras de mieles monoflorales provienen de las comunas de Rosario, Chimbarongo, Nancagua y Puerto Varas (Figura 6 y 7), destacadas con una marca en color rojo en el mapa.

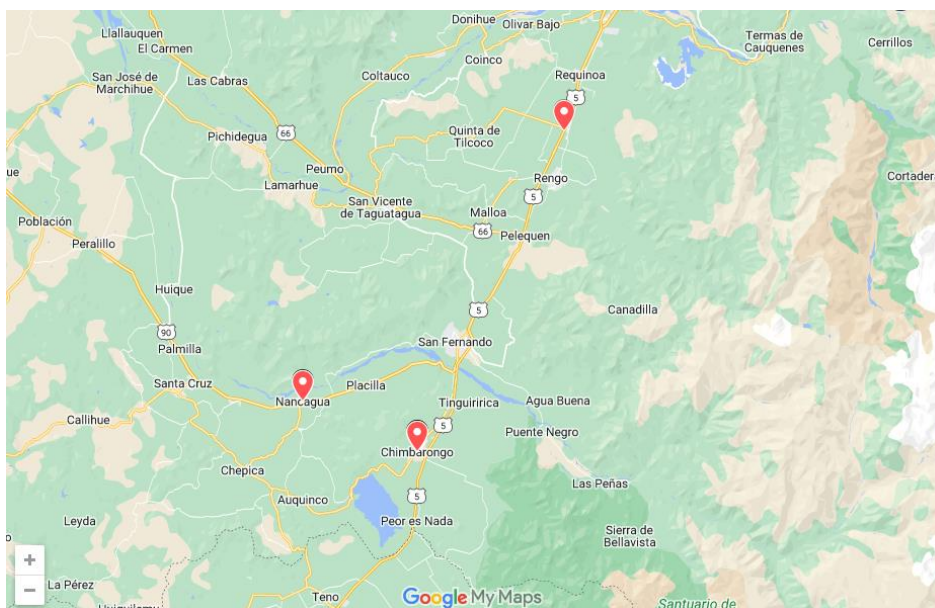


Figura 6. Mapa de comunas de muestras de mieles monoflorales

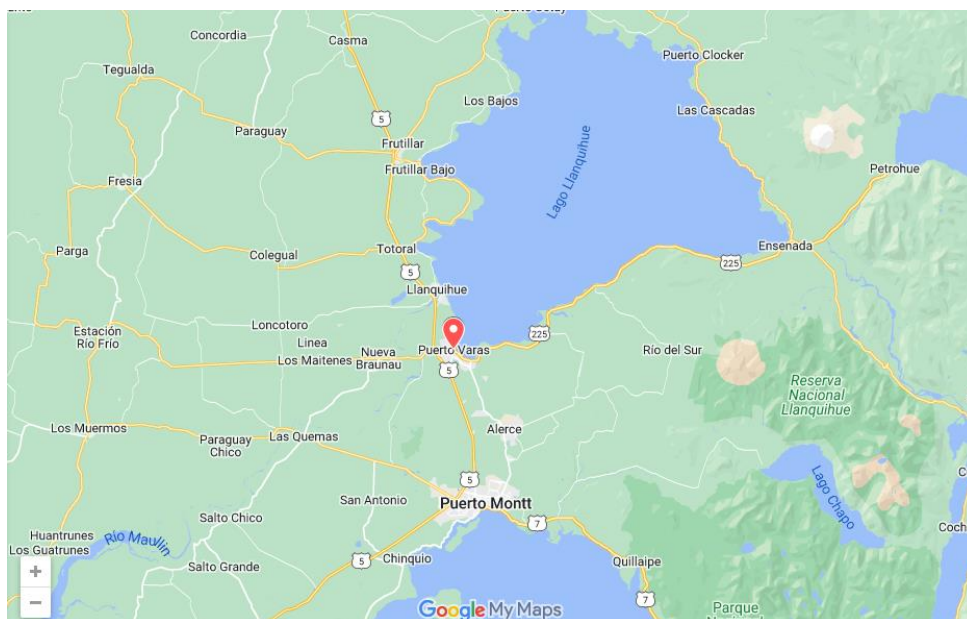


Figura 7. Mapa de comunas de muestras de mieles monoflorales (región de Los Lagos)

Se creó un mapa de acuerdo a los resultados sobre la concentración de polifenoles (Figura 8 y 9), ubicándose con color burdeo las muestras que obtuvieron una mayor concentración de polifenoles y de color naranja las muestras que obtuvieron una menor concentración de polifenoles.

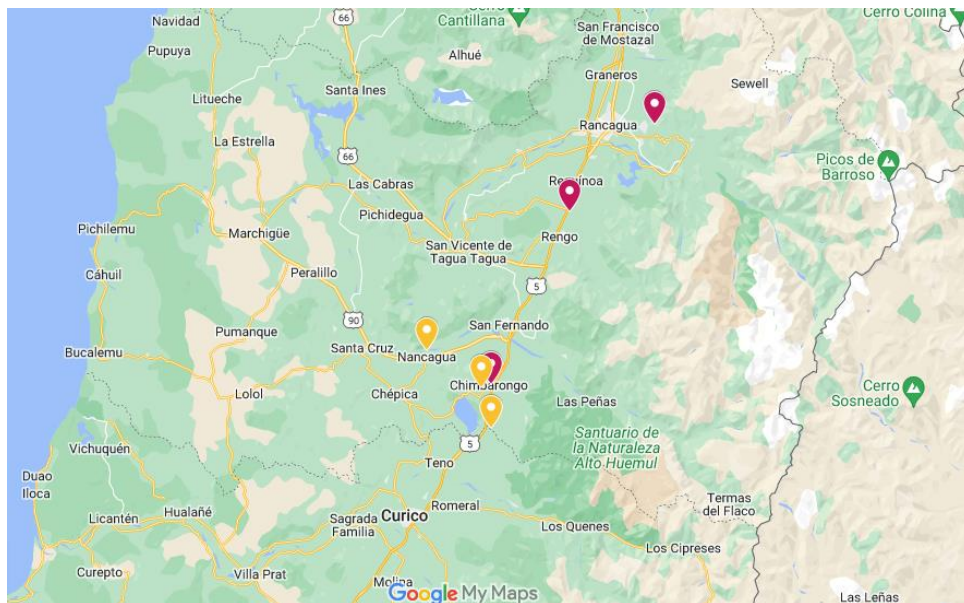


Figura 8. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su concentración de polifenoles (μg GAE/g).

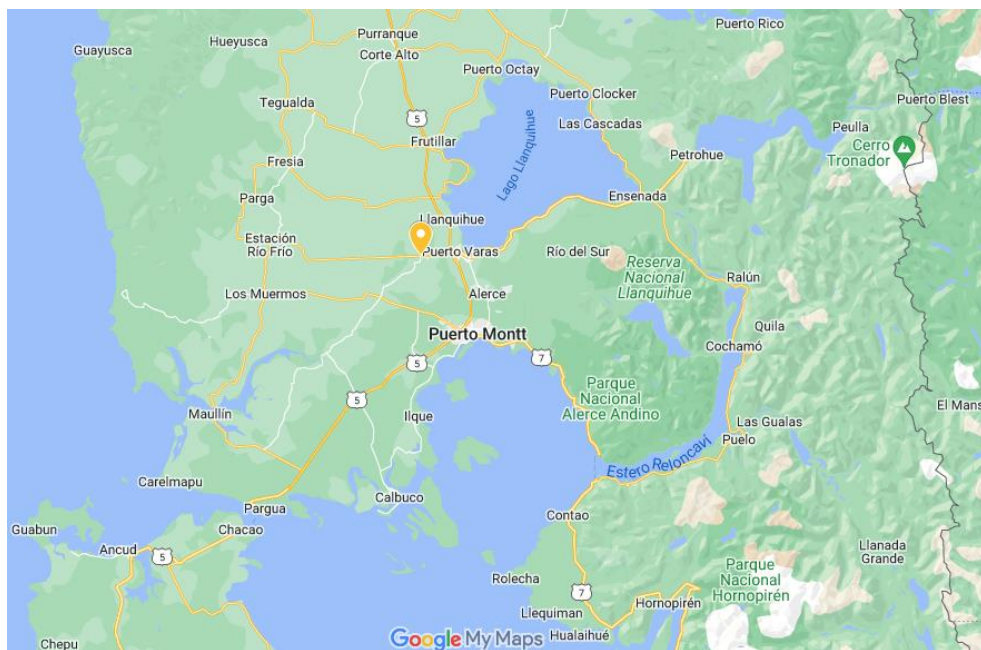


Figura 9. Mapa de muestras de mieles monoflorales de acuerdo a su concentración de polifenoles (μg GAE/g), región de Los Lagos.



Discusión

El estudio de la composición química de polifenoles totales y de la capacidad antioxidante de la miel tanto monofloral como multifloral, ha sido estudiado durante varios años globalmente (Velásquez et al., 2020), en donde Chile no ha sido una excepción. Aun así, falta información sobre las mieles de la región de O'Higgins y su relación con su georreferenciación.

Con esta investigación se logró determinar que tres muestras (N° 15, 41 y 4) obtuvieron una mayor concentración de polifenoles (507,51 $\mu\text{g GAE/g}$, 428,19 $\mu\text{g GAE/g}$ y 395,56 $\mu\text{g GAE/g}$ respectivamente) en comparación a las restantes. Estos resultados difieren de los obtenidos por Velásquez et al. (2020), en donde en un estudio similar determinaron que los compuestos fenólicos en miel de ulmo en Chile oscilaron entre 1760–2080 $\mu\text{g GAE/g}$, valores mayores a los obtenidos en nuestro estudio. De la misma manera, en una publicación por Alves et al. (2013), al determinar el contenido total de fenoles a través del método colorimétrico Folin–Ciocalteu, obtuvieron que las muestras de mieles monoflorales de especies como romero, naranja, eucaliptus, entre otras, también fueron mayores (valores entre 500–1300 $\mu\text{g GAE/g}$ aproximadamente) que las concentraciones de este estudio.

Semejantemente, en un estudio sobre las propiedades bioactivas de mieles tanto monoflorales como multiflorales en Argentina (Isla et al., 2011), el contenido fenólico total en sus muestras determinado con el reactivo Folin–Ciocalteu, se encontró entre 187,30–1073,21 $\mu\text{g GAE/g}$, siendo las mieles multiflorales las que obtuvieron una mayor concentración de compuestos fenólicos (875,75–1073,21 $\mu\text{g GAE/g}$), aproximadamente tres veces mayor a las muestras de mieles de limón monoflorales (entre 183,30–400 $\mu\text{g GAE/g}$ aproximadamente), valores que se asemejan más a los obtenidos en nuestro estudio. Por el contrario, Akgün et al. (2021), también analizaron las propiedades fisicoquímicas, el contenido total de fenoles y la capacidad antioxidante de diferentes mieles en Turquía, en donde la miel multifloral obtuvo un

promedio de 260 μg GAE/g (siendo el máximo 360 μg GAE/g), valor menor a los obtenidos en nuestro estudio.

En la presente investigación se determinó el promedio total de la concentración de polifenoles y de capacidad antioxidante en muestras de mieles multiflorales y monoflorales. Con esos resultados, al presentarse una $p > 0,05$ se puede deducir que no hay diferencias significativas entre las medias de ambos tipos de mieles.

En relación a la capacidad antioxidante de las muestras, Badrulhisham et al. (2020) señalaron en su estudio que la capacidad antioxidante medida a través del ensayo con DPPH en muestras de mieles kelulut se encontraron en un rango de 41,52–781,77 μg TEAC/g, valores similares a los obtenidos en nuestro estudio, incluso siendo algunos más altos, tales como las muestras N° 12, 15 y 41 (1432,97 μg TEAC/g, 1169,343 μg TEAC/g y 1103,333 μg TEAC/g respectivamente).

De acuerdo a la relación entre la concentración de polifenoles y la capacidad antioxidante de una muestra de miel, estas dos variables deberían presentar una directa relación, es decir, al tener una mayor concentración de polifenoles, la muestra de miel debería presentar una mayor capacidad antioxidante. Como se presenta en la Figura 3, no todas las muestras de mieles monoflorales presentan esta relación, presentándose estas diferencias probablemente porque no se sabe con exactitud el tipo de miel estudiada. Al igual que en este estudio, esta relación también fue determinada por Wilczyńska (2010), quien demostró en su investigación que diferentes mieles de origen polaco previamente sometidas a un análisis para determinar si eran multiflorales o monoflorales, presentaron una correlación positiva entre el contenido total de polifenoles y la capacidad antioxidante, lo que significa que los polifenoles corresponden a uno de los principales componentes responsables de la actividad antioxidante en mieles (Wilczyńska, 2010).

Por otro lado, el origen botánico de la miel puede variar según región. De acuerdo a la información entregada por los apicultores, el origen botánico de las muestras de mieles era bastante diverso, indicando que las muestras de mieles monoflorales provenían de especies botánicas como la mora (*Rubus ulmifolius*), quillay (*Quillaja saponaria*) y álamo (*Populus nigra*) entre los más predominantes de la región de O'Higgins. De acuerdo a este origen, el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante puede variar, como lo fue el caso de la región de Los Lagos, en donde se estudió miel de Ulmo monofloral (Velásquez et al., 2020). En la región de Valparaíso también se determinó el contenido total de fenoles en algunas muestras de mieles monoflorales, siendo su origen botánico *Persea americana*, *Quillaja saponaria*, *Trevoa trinervis* y *Eriobotrya japonica* (Sánchez et al., 2012), obteniendo diferentes resultados en comparación al presente estudio.

En este tipo de investigaciones idealmente se debería identificar con exactitud el tipo de miel a estudiar (ya sea multifloral o monofloral) a través de un análisis de polen u otro método, pero por razones de tiempo no se pudo llevar a cabo ese análisis para nuestro estudio, por lo que sólo se consideró la información entregada por los apicultores al momento de diferenciar una muestra de miel monofloral o multifloral, existiendo la probabilidad de imprecisiones.

Por otra parte, es de importancia tener en consideración que se estudiaron muy pocas muestras de mieles monoflorales las cuales pueden ser no significativas para la ejecución de un buen análisis.

Conclusiones

El presente estudio proporciona enriquecedora información sobre la concentración de polifenoles y la capacidad antioxidante de diferentes muestras de mieles monoflorales de la región de O'Higgins para luego relacionar su origen con la capacidad antioxidante y su potencial efecto terapéutico. Se obtuvieron diferentes valores promedio sobre la concentración de polifenoles, siendo la media total 416,29 $\mu\text{g GAE/g}$ para las muestras de mieles multiflorales y presentando un valor de media total menor para las mieles monoflorales (398,89 $\mu\text{g GAE/g}$). Con los cálculos estadísticos, se puede concluir que no hay diferencias significativas entre las medias de ambos tipos de mieles.

La capacidad antioxidante varió en cada muestra, obteniendo valores que oscilaron entre 125–1432 $\mu\text{g TEAC/g}$. Similar a la concentración de polifenoles, también se presentaron valores diferentes para la capacidad antioxidante de mieles multiflorales (989,51 $\mu\text{g TEAC/g}$) y mieles monoflorales (750,93 $\mu\text{g TEAC/g}$). Con estos datos cuantitativos tanto de la concentración de polifenoles como de la capacidad antioxidante, se puede concluir refutar la hipótesis de este estudio, debido a que las mieles multiflorales presentaron en promedio una mayor concentración de polifenoles y una mayor capacidad antioxidante que las mieles monoflorales en la región de O'Higgins, infiriendo que las mieles multiflorales tendrán un mejor potencial efecto terapéutico.

En relación al origen, se puede concluir que las muestras que presentan una mayor capacidad antioxidante pertenecen a las provincias de Cachapoal y Colchagua, específicamente a las comunas de Nancagua, Chimbarongo y Rosario.

Gracias a este estudio existirá mayor información sobre mieles monoflorales de la región de O'Higgins, sin embargo, es importante señalar que se necesita más investigación para confirmar realmente el tipo de miel que fue estudiada, ya que solamente se basó en la información entregada por los apicultores de la región.

Referencias bibliográficas

Akgün, N.; Çelik, Ö. F.; Kelebekli, L. (2021). Physicochemical properties, total phenolic content, and antioxidant activity of chestnut, rhododendron, acacia and multifloral honey. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3501–3508.

Al-Hatamleh, M.A.; Hatmal, M.M.; Sattar, K.; Ahmad, S.; Mustafa, M.Z.; Bittencourt, M.D.C.; Mohamud, R. (2020). Antiviral and Immunomodulatory Effects of Phytochemicals from Honey against COVID-19: Potential Mechanisms of Action and Future Directions. *Molecules*, 25(21), 5017. DOI: 10.3390/molecules25215017

Alves, A.; Ramos, A.; Gonçalves, M. M.; Bernardo, M.; Mendes, B. (2013). Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(2), 130–138.

Badrulhisham, N.S.R.; Ab Hamid, S.N.P.; Ismail, M.A.H.; Yong, Y.K.; Zakuan, N.M.; Harith, H.H.; Saidi, H.I.; Nurdin, A. (2020). Harvested locations influence the total phenolic content, antioxidant levels, cytotoxic, and anti-inflammatory activities of stingless bee honey. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(4), 950–956. DOI: 10.1016/j.aspen.2020.07.015

Bridi, R.; Nuñez-Quijada, G.; Aguilar, P.; Martínez, P.; Lissi, E.; Giordano, A.; Montenegro, G. (2017). Differences between phenolic content and antioxidant capacity of quillay Chilean honeys and their separated phenolic extracts. *Ciencia e Investigación Agraria*, 44(3); 252–261. DOI: 10.7764/rcia.v44i3.1756

Cianciosi, D.; Forbes-Hernández, T.Y.; Afrin, S.; Gasparrini, M.; Reboredo-Rodríguez, P.; Manna, P.P.; Zhang, J.; Bravo, L.; Martínez, S.; Agudo, P.; Quiles, J.L.; Giampieri, F.; Battino, M. (2018).

Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules*, 23(9), 2322. DOI:10.3390/molecules23092322

Deng, J.; Liu, R.; Lu, Q.; Hao, P.; Xu, A.; Zhang, J.; Tan, J. (2018). Biochemical properties, antibacterial and cellular antioxidant activities of buckwheat honey in comparison to Manuka honey. *Food Chemistry*, 252, 243–249. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.115

FAO–Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). Normas para la miel. Codex Alimentarius. En: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012s.pdf [Consultado el 29 de abril de 2022]

Giordano, A.; Retamal, M.; Fuentes, E.; Ascar, L.; Velásquez, P.; Rodríguez, K.; Montenegro, G. (2019). Rapid Scanning of the Origin and Antioxidant Potential of Chilean Native Honey Through Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Food Analytical Methods*, 12(7), 1511–1519. DOI: 10.1007/s12161-019-01473-z

Honrado, A. (2020). Composición fisicoquímica, compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la miel. Trabajo fin de grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos. Universidad Zaragoza. En: <https://zaguan.unizar.es/record/94716/files/TAZ-TFG-2020-1977.pdf> [Consultado el 29 de abril de 2022]

Isla, M. I.; Craig, A.; Ordoñez, R.; Zampini, C.; Sayago, J.; Bedascarrasbure, E.; Alvarez, A.; Salomón, V.; Maldonado, L. (2011). Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT–Food Science and Technology*, 44(9), 1922–1930.

Iturra, C. (2021). Apicultura Chilena: principales cifras y desafíos futuros. ODEPA. Ministerio de Agricultura. En: https://www.opia.cl/601/articles-118948_archivo_01.pdf [Consultado el 29 de abril de 2022]

Kafantaris, I.; Amoutzias, G.; Mossialos, D. (2020). Foodomics in bee product research: a systematic literature review. *European Food Research and Technology*, 247(2), 309–331. DOI: 10.1007/s00217-020-03634-5

Machado De-Melo, A.A.; Almeida-Muradian, L.B.D.; Sancho, M.T.; Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5–37. DOI: 10.1080/00218839.2017.1338444

Mărgăoan, R.; Topal, E.; Balkanska, R.; Yücel, B.; Oravec, T.; Cornea-Cipcigan, M.; Vodnar, D.C. (2021). Monofloral Honeys as a Potential Source of Natural Antioxidants, Minerals and Medicine. *Antioxidants*, 10(7), 1023. DOI: 10.3390/antiox10071023

Martinello, M.; Mutinelli, F. (2021). Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants*, 10(1), 71. DOI: 10.3390/antiox10010071

Meo, S.A.; Al-Asiri, S.A.; Mahesar, A.L.; Ansari, M.J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.12.010

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. DOI: 10.1590/S0100-40422007000400017

ODEPA–Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. (2022). Apicultura. En: <https://www.odepa.gob.cl/rubros/apicultura> [Consultado el 03 de mayo del 2022]

Pélissou, F.; Galaz, J.C.; Sáez, J.; Hidalgo, M.S. (2016). Apicultura. Agenda de Innovación agraria. FIA – Fundación para la Innovación Agraria. Ministerio de Agricultura. RPI: 266057 ISBN: 978–956–328–180–4

Pontis, J. A.; Costa, L. A. M. A. D.; Silva, S. J. R. D.; Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. Food Science and Technology, 34, 69–73.

Sánchez, E.; Piovano, M.; Valdés, E.; Young, M. E.; Acevedo, C. A.; Osorio, M. (2012). Determination of antioxidant properties of 26 Chilean honeys and a mathematical association study with their volatile profile. Natural Product Communications, 7(7), 1934578X1200700739.

Terzo, S.; Mulè, F.; Amato, A. (2020). Honey and obesity-related dysfunctions: a summary on health benefits. Journal of Nutritional Biochemistry, 82, 108401. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2020.108401

Velásquez P.; Montenegro, G.; Leyton, F.; Ascar, L.; Ramirez, O.; Giordano, A. (2020). Bioactive compounds and antibacterial properties of monofloral Ulmo honey. CyTA–Journal of food, 18(1), 11–19. DOI: 10.1080/19476337.2019.1701559

Vogt, N.A.; Vriezen, E.; Nwosu, A.; Sargeant, J.M. (2021). A Scoping Review of the Evidence for the Medicinal Use of Natural Honey in Animals. Frontiers in Veterinary Science, 1069. DOI: 10.3389/fvets.2020.618301

Wilczynska, A. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of different types of polish honey—a short report. Polish journal of food and nutrition sciences, 60(4).

