

Influencia del tipo de recipiente y de los métodos tradicionales en el almacenamiento a largo plazo de la miel producida por *Scaptotrigona mexicana* sin aguijón: compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes

Naida Juárez-Trujillo ^a

Simón Carrouché ^{b,c}

María Remedios Mendoza-López ^d

Juan L. Monribot-Villanueva ^e

José A. Guerrero-Analco ^e

Maribel Jiménez-Fernández ^{a*}

^a Universidad Veracruzana. Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Av. Dr. Luis Castelazo, s/n. 91000. Xalapa, Veracruz, México.

^b Istom. Ecole-Supérieure D'agro-Développement International, Francia.

^c Chasseurs De Saveurs S.L. de R.L. Company, Veracruz, México.

^d Instituto de Química Aplicada, Universidad Veracruzana, Veracruz, México.

^e Instituto de Ecología, A.C. Red de Estudios Moleculares Avanzados. Veracruz, México.

*Autor de correspondencia: maribjimenez@uv.mx

Resumen:

La miel de *Scaptotrigona mexicana* se caracteriza por sus propiedades nutricionales y antioxidantes, pero tiene un alto contenido de humedad que afecta su estabilidad durante el almacenamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes mediante espectroscopía UV-Visible, perfil de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas y ácidos

grasos y compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, minerales por espectroscopía de emisión atómica de plasma de microondas, a partir de miel almacenada en diferentes recipientes que, junto con los métodos tradicionales, se utilizan comúnmente para aumentar su estabilidad. La mayoría de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes no fueron significativamente diferentes de las de la miel recién cosechada. Los resultados sugieren que el envase con válvula de retención de escape tiene un efecto significativo en la disminución del contenido de humedad y la actividad del agua, pero no en las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes durante al menos 2 años de almacenamiento. Estos resultados sugieren que el tipo de recipiente debe considerarse al momento de almacenar la miel, ya que afecta significativamente ($P < 0.05$) sus propiedades y calidad.

Palabras clave: Actividad antioxidante; Recipiente; Miel; *Scaptotrigona mexicana*; Abejas meliponas sin aguijón.

Recebido: 08/05/2023

Aceptado: 01/10/2024

Introducción

La miel de las abejas sin aguijón es muy demandada por los consumidores, debido a sus propiedades curativas y a su calidad⁽¹⁾. Sin embargo, este tipo de miel se caracteriza por un mayor contenido de humedad, lo que aumenta la probabilidad de su deterioro. Además, se ha reportado que el exceso de agua puede ser un atributo negativo de calidad, ya que crea un alto riesgo de inducir procesos de fermentación y, consecuentemente, alterar las propiedades organolépticas de la miel⁽²⁾. Se han reportado diversas metodologías para mantener las propiedades nutricionales y sensoriales de la miel, aumentar su estabilidad y mejorar sus condiciones de manejo y comercialización para obtener un producto inocuo para el consumidor⁽³⁾, como el uso de la deshidratación en bandejas de plástico utilizando hornos de temperatura controlada⁽⁴⁾. No obstante, la exposición a altas temperaturas produce un aumento en el contenido de hidroximetilfurfural⁽⁵⁾. Se ha reportado que el calentamiento a temperatura de ebullición elimina las levaduras y reduce el contenido de humedad y que ciertos recipientes, como las ollas de barro sin esmaltar, producen una reducción en el contenido de humedad de hasta un 20 %, aumentando la vida útil de la miel⁽⁶⁾. Sin embargo, los recipientes de barro tienen la desventaja de ser frágiles, de baja capacidad y no funcionales para el transporte. En un método tradicional utilizado en la región del Totonacapan, Veracruz, México, se agregan frijoles a la miel ya que, según los habitantes, estas semillas absorben la humedad de la miel, haciéndola más estable. Otra técnica tradicional es el uso del envasado al vacío para evitar la entrada de aire. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue investigar el efecto del almacenamiento en diferentes recipientes de plástico sobre las

propiedades fisicoquímicas, antioxidantes, compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos, minerales y compuestos volátiles en la miel durante el almacenamiento.

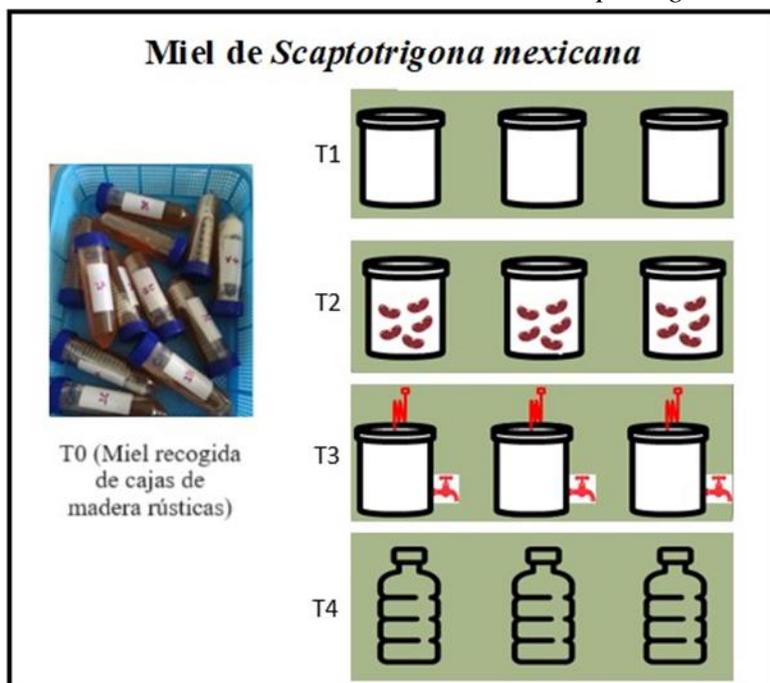
Material y métodos

Productos químicos

2,2'-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Trolox (ácido 6-hidroxi-gálico), quercetina, reactivo de Folin-Ciocalteu y 2,4,6-Tris(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) se compraron a Sigma (St. Louis, MO, EE. UU.).

Recolección de muestras

Veinticuatro (24) litros de miel fueron provistos por la empresa Chasseurs De Saveurs S.A. C.V. Se recolectaron en la región de Zozocolco, Veracruz, México. Las muestras se recolectaron de colmenas en cajas rústicas de madera que los meliponicultores guardan en sus casas. La extracción se realizó durante el mes de mayo de 2018 utilizando una jeringa de 20 ml. El lote de 24 L de miel recolectada se dividió en cuatro lotes (6 L por lote). La miel de cada lote se dividió en tres recipientes de 2 L (Figura 1). T0 (control) se utilizó inmediatamente para el análisis de los parámetros evaluados y se recolectó de cajas rústicas de madera. Los lotes T1 a T4 se colocaron en recipientes de plástico comúnmente utilizados para la comercialización de miel. La descripción de los tratamientos se presenta a continuación: T1: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco (polietileno de alta densidad), T2: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco adicionada con cinco semillas de frijol, T3: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco con válvula de retención de escape (ZAZOLYNE, China) utilizada en la fermentación de vinos, T4: miel almacenada en un recipiente de plástico transparente (tereftalato de polietileno, 1). Las muestras de miel se colocaron en una habitación con una temperatura de 25 °C y se analizaron al inicio y después de 2 años de almacenamiento. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

Figura 1: Tratamientos de envasado de miel de *Scaptotrigona mexicana*

T0= control; T1= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco; T2= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco adicionada con cinco semillas de frijol; T3= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco con válvula de retención de escape; T4= miel almacenada en un recipiente de plástico transparente.

Propiedades fisicoquímicas

Se determinó la humedad, la conductividad eléctrica, el pH y la acidez titulable de las muestras de miel, utilizando los procedimientos analíticos estándar apropiados⁽⁷⁾. La conductividad eléctrica se determinó con un medidor de conductividad (Mettler Toledo, modelo ME 226, Pittsburgh, EE. UU.) y la actividad del agua se midió con un medidor de actividad de agua (AquaLab, Modelo 4TE, Meter group, Inc, EE. UU.). El color se midió con un colorímetro (ColorFlex V1-72 SNHCX 1115, Hunter Lab, EE. UU.) utilizando los parámetros CIE L*a*, b* y se calculó el cambio total de color, el índice de pardeamiento y el croma.

Contenido total de compuestos fenólicos, vitamina C y actividad antioxidante

El contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante: los ensayos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), FRAP (capacidad de reducción férrica del plasma) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se determinaron utilizando extracto metanólico de miel con dilución 1:100⁽⁸⁾.

Los compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones⁽⁹⁾. Se mezclaron 30 µl de cada muestra y 30 µl de Folin-Ciocalteu y se incubaron durante 2 min (40 °C). Después de añadir 240 µl de Na₂CO₃ (5 %), se incubaron durante 20 min (40 °C). Después de ese tiempo, se leyó la absorbancia (λ = 765 nm). El contenido de vitamina C se determinó mediante una curva estándar elaborada con ácido L-ascórbico (99 % de pureza; Sigma Rec. 84272, St. Louis, Missouri, EE. UU.) a una concentración de 0-50 mg y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por gramo.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se determinó mezclando 30 µl de cada muestra con 270 µl de reactivo DPPH, luego se incubó durante 30 min, posteriormente se leyó la absorbancia (λ = 517 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Se determinó el ABTS, se mezclaron 30 µl de extracto y 270 µl de reactivo ABTS y luego se incubaron durante 30 min (25 °C). A continuación, se midió la absorbancia (λ = 734 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Finalmente, se determinó la FRAP, se mezclaron 30 µl de extracto y 270 µl de reactivo FRAP, luego se incubó durante 30 min (37 °C) y se midió la absorbancia (λ = 593 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Para las dos técnicas se realizó una curva de calibración de Trolox de 0.1-1 mg/ml⁽⁹⁾. Los resultados se expresan en miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de peso seco de cada muestra.

Análisis UPLC-MS

Para los extractos de miel, se pesó un gramo de miel, se añadieron 10 mL de metanol y se sometió a ultrasonicación (microprocesador ultrasónico VCX 750 Sonics Materials, Connecticut, EE. UU.) durante 10 min, este proceso se repitió hasta el agotamiento. Posteriormente, el disolvente se evaporó hasta la sequedad en un evaporador rotativo (Rotavapor R-100, Büchi, Flawil, Suiza). A continuación, el extracto de miel (10 mg) se volvió a disolver en 1.0 ml de MeOH con 0.1 % de ácido fórmico (ambos de grado MS, Sigma-Aldrich), se filtró y se colocó en un vial de cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLC, por sus siglas en inglés) de 1.5 ml. La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos individuales se realizó con un UPLC acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Agilent Technologies 1290-6460, Santa Clara, California, EE. UU.). Las condiciones cromatográficas fueron: flujo 0.3 ml/min, volumen de inyección 2 µL y temperatura de columna 40 °C. El gradiente comenzó en 1 % B, luego cambió a 50 % B en 30 min, luego 99 % B en 4 min seguido de un paso isocrático a 99 % B durante 4 min. Posteriormente, un gradiente a 1 % B en 1 min seguido de un paso isocrático durante 5 min. Las condiciones de espectrometría de masas fueron ionización por electrospray en modo positivo y negativo, temperatura (T) del gas 300 °C y T del gas de la vaina 250 °C con flujos de 5 y 11 L/min, respectivamente. La presión del nebulizador fue de 45 Psi y los voltajes del capilar y boquilla fueron de 3,500 y 500 V, respectivamente. Se buscaron cuarenta y ocho

(48) compuestos: ácido shikímico, ácido gálico, L-fenilalanina, ácido protocatecuico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido gentísico, ácido 4-hidroxifenilacético, (-)-epigallocatequina, (+)-catequina, ácido vainílico, escopolina, ácido clorogénico, ácido cafeico, malvina, kuromanina, procianidina B2, vainillina, queracianina, (-)-epicatequina, ácido 4-cumárico, mangiferina, umbeliferona, (-)-galato de galocatequina, escopoletina, ácido ferúlico, quercetina 3,4-di-O-glucósido, ácido 3-cumárico, ácido salicílico, ácido sinápico, galato de epicatequina, ácido elágico, miricitrina, pelargonidina, quercetina 3-D-galactósido, rutina, ácido p-anísico, quercetina 3-glucósido, luteolina 7-O-glucósido, malvidina, ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzoico, penta-O-galoil-B-D-glucosa, kaempferol 3-O-glucósido, quercitrina, naringina, ácido rosmarínico, ácido trans-cinámico, luteolina y kaempferide. Cada compuesto se identificó mediante un método dinámico de monitoreo de reacciones múltiples y se cuantificó mediante curvas de calibración de 0.25 a 19 μM , con un coeficiente de determinación superior a 0.99⁽⁹⁾.

Compuestos de GC-MS

Los compuestos volátiles (ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos característicos de este tipo de muestra) se determinaron en 3.0 g de miel almacenada. La miel se colocó en un vial sellado con una tapa de PTFE/Teflón y se calentó a 100 °C, luego se inyectó la muestra utilizando un espacio de cabeza modelo 7694E de Agilent Technologies y un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies™, modelo 6890 N, Network GC system, Santa Clara, California, EE. UU.) equipado con una columna capilar DB-5 (60 m \times 0.25 mm DI \times 0.25 μm de espesor de película). Las condiciones de GC fueron temperatura inicial: 45 °C durante 5 min, rampa de calentamiento: 15 °C/min hasta 280 °C, durante 1 min. Helio a un flujo de 1 ml/min, temperatura del inyector de 250 °C. La identificación de compuestos volátiles se realizó por espectrometría de masas utilizando el espectrómetro de masas XL inerte modelo 5975 de Agilent Technologies™, los espectros de masas se obtuvieron por ionización por impacto electrónico a 70 eV. Para su identificación, los espectros de masas obtenidos para cada compuesto se compararon con una base de datos (programa de búsqueda de espectros de masas HP Chemstation-NIST 05, versión 2.0d).

Perfil de ácidos grasos

El material aceitoso se extrajo de la miel utilizando un extractor Soxhlet con hexano (60-80 °C) durante 6 h. El extracto aceitoso se filtró y concentró al vacío (Büchi, Flawil, Suiza) para obtener extractos crudos. Los Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (EMAG) se obtuvieron mediante un proceso de esterificación y se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés)⁽¹⁰⁾. Se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies™, modelo 6890 N, Network GC system, Santa Clara, California, EE. UU.) equipado con una columna DB-5 (metilpolisiloxano al 5 %, cat-

1225082, J&W Scientific, EE. UU.). Las condiciones de GC fueron temperatura inicial: 150 °C durante 5 min, rampa de calentamiento: 30 °C/min a una temperatura de 210 °C, 1 °C/min a 213 °C durante 40 min, finalmente 20 °C/min hasta 280 °C durante 40 min. Helio a un flujo de 1 mL/min, temperatura del inyector de 250 °C. La identificación de los ácidos grasos se realizó mediante espectrometría de masas utilizando el espectrómetro de masas XL inerte modelo 5975 de Agilent Technologies™. La identidad de cada ácido graso se asignó mediante un patrón externo (mezcla de EMAG, C8:C22, no. de cat. 18920-1AMP, Sigma-Aldrich) que contenía: ácido octanoico, ácido decanoico, ácido undecanoico, ácido dodecanoico, ácido tridecanoico, ácido tetradecanoico, ácido pentadecanoico, ácido 9-hexadecenoico, ácido hexadecanoico, ácido *cis*-9,12, heptadecanoico, ácido octadecadienoico, ácido *cis*-9-octadecaenoico, ácido heptadecanoico, ácido eicosanoico, ácido 11-eicosenoico.

Análisis de minerales

Para la extracción de minerales, la miel (1 g) se digirió en tubos digestores con una solución de ácido nítrico (5 %) en una proporción de 1:10 (p:v). Los tubos se colocaron en un digestor Kjeldahl (Speed Digester K-439, Büchi, Flawil, Suiza) y se digirieron a 170 °C durante 2 h hasta obtener una solución casi clara. Esta solución se filtró y posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 50 ml y se diluyó con HNO₃ al 5 % para finalmente ser inyectada. La determinación se realizó con un MP-AES Agilent 4100 (Santa Clara, California, EE. UU.) compuesto por un nebulizador inerte One Neb, una cámara de nebulización ciclónica de vidrio de doble paso y un detector de carga acoplada (CCD, por sus siglas en inglés) de estado sólido. El flujo del gas de plasma fue de 20 L/min y el flujo de gas de reposición de 1.5 L/min. Se realizó una curva de calibración a partir de una mezcla de 27 elementos (Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Si, Sr, Ti, Tl, V, Zn) con ocho puntos (concentraciones: 100, 75, 50, 25, 10, 7.5, 5.0 y 1 ppm). El coeficiente de determinación fue superior a 0.98 para cada elemento. Las condiciones del equipo para el análisis fueron: tiempo de captura 13 seg, tiempo de estabilización del plasma con aspiración de muestra 15 seg, tiempo de lectura 3 seg (lectura por triplicado) y tiempo de lavado 20 seg.

Análisis microbiológico

El recuento de bacterias aeróbicas mesófilas totales y de mohos y levaduras se realizó pesando 1 g de miel que se mezcló con 9 ml de tampón PBS. Posteriormente, se realizaron diluciones seriales hasta obtener la dilución 10⁻⁹. Finalmente, se sembró 1 ml de cada dilución en placas de Petri y en agar de recuento en placa (Difco™, BD Detroit, EE. UU.) y agar PDA (agar papa dextrosa, agar de recuento en placa BD™ Difco™) para aeróbicos se vertieron bacterias y mohos y levaduras, respectivamente. Finalmente, se incubaron durante 48 h y 5 días a 35 °C, y se contaron las colonias.

Análisis estadístico

El tratamiento y el análisis se realizaron por triplicado, y los valores se expresaron como media \pm DE (desviación estándar). Todos los datos se analizaron utilizando varianza de una sola vía (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 5 % ($P < 0.05$) utilizando el software estadístico Minitab 16 (Minitab Inc. State College, PA, EE. UU.)⁽⁶⁾.

Resultados

Análisis de propiedades fisicoquímicas

En el Cuadro 1 se muestran las propiedades fisicoquímicas de la miel almacenada en diferentes envases. El contenido de humedad de las muestras analizadas varió de 20.60 a 23.40 %, mientras que la actividad de agua varió de 0.663 a 0.675 después de 2 años de almacenamiento en los diferentes tratamientos. La miel almacenada en un recipiente con válvula anaeróbica mostró la mayor disminución en el contenido de humedad (20.60 %) y en la actividad de agua (0.667) en comparación con el tratamiento control, seguida de la miel almacenada en un recipiente de plástico transparente (contenido de humedad: 22.80 %, $a_w = 0.675$). El alto contenido de humedad está relacionado con el ambiente en el que se encuentran las flores de las que las abejas recolectan néctar. Además, se debe considerar que la miel obtenida de abejas sin aguijón contiene una mayor cantidad de agua, por lo que el efecto que el tipo de recipiente y su permeabilidad tiene un mayor efecto en su estabilidad en comparación con la miel comercial obtenida de *Apis mellifera*^(3,5).

Los parámetros de color de la miel exhibieron ligeros cambios durante el almacenamiento; estos cambios se reflejaron en los valores de croma y en el cambio total de color. La muestra almacenada en recipientes transparentes (T4) presentó un mayor cambio total de color (8.08).

El pH de las muestras varió ligeramente de 3.23 a 3.66. Los valores de pH obtenidos en las muestras estuvieron en el rango reportado para este tipo de miel⁽¹¹⁾. La acidez total de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes (T1-T4) varió de 85.66 a 87.33 meq/kg. Las muestras almacenadas en los diferentes tipos de recipientes (T2-T4) no fueron significativamente diferentes entre sí, pero sí de la muestra control (73.66 meq/kg). Los valores de acidez para los tratamientos T1-T4 fueron similares a los reportados para la miel de abejas sin aguijón, de 85 meq/100 g⁽¹²⁾. Los valores de hidroximetilfurfural (HMF) de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes (4.00-4.78 mg/kg) no fueron significativamente diferentes de los del tratamiento testigo (4.09 mg/kg).

Análisis de la actividad antioxidante

El Cuadro 2 muestra que el contenido de compuestos fenólicos totales, vitamina C y compuestos antioxidantes de la miel almacenada en los diferentes recipientes no fueron significativamente diferentes ($P>0.05$) al del tratamiento control, excepto para la vitamina C y la inhibición de radicales DPPH. El contenido de compuestos fenólicos totales varió de 12.55 a 14.31 mg EAG/100 g de miel y el de vitamina C de 86.86 a 114.17 mg AA/g. De acuerdo con estos valores, la actividad antioxidante determinada por la actividad de eliminación de radicales DPPH presentó altos valores de inhibición (75.57-94.70 %). Del mismo modo, el rango de valores determinado por las pruebas de FRAP (2.23-3.70 mg ET/g) y ABTS (0.61-1.13 mg ET/g) para los diferentes tipos de recipientes muestra que la miel contiene compuestos con una alta capacidad para reducir los iones férricos y que son estables durante el almacenamiento. Estos resultados son consistentes con los reportados para otros tipos de miel⁽¹³⁾ y opuestos a los reportados para la miel sometida a una temperatura de 22-40 °C después de 90 días de almacenamiento⁽¹⁴⁾.

Cuadro 2: Propiedades antioxidantes de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Propiedad	T0	T1	T2	T3	T4
Vitamina C, mg EAA/g	91.40 ± 5.24 ^{a,b}	87.50± 8.26 ^a	86.86±1.02 ^a	114.17±2.16 ^d	106.64±1.35 ^c
Compuestos fenólicos totales, mg EAG/g	12.55 ± 3.24 ^a	13.46± 3.19 ^a	14.06±3.70 ^a	11.82±3.50 ^a	14.31± 2.63 ^a
Inhibición de DPPH, %	87.25 ± 2.65 ^b	94.05±2.69 ^c	75.57±5.65 ^a	94.70±1.88 ^c	84.71±4.65 ^b
FRAP, mg ET/g	2.97 ± 0.95 ^a	3.70±1.87 ^a	2.94±1.05 ^a	2.23±0.98 ^a	2.94±1.60 ^a
ABTS, mg ET/g	0.68 ± 0.18 ^a	0.61±0.22 ^a	0.72±0.31 ^a	0.69±0.24 ^a	1.13±0.76 ^a

Los valores se muestran como la media ± DE (n=3). EAA= equivalentes de ácido ascórbico. EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox.

^{abc} Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos mediante UPLC-MS

En el Cuadro 3 se muestra el análisis de los compuestos fenólicos presentes en la miel recién cosechada y en la miel almacenada en diferentes recipientes. Se identificaron un total de 17 compuestos fenólicos más dos precursores (ácido shikímico y *L*-fenilalanina) en la miel almacenada en los diferentes recipientes. El ácido shikímico (35511-38504.90 µg/g de extracto seco), el ácido 4-hidroxibenzoico (2781.36-2996.87 µg/g de extracto seco), el ácido

4-hidroxifenilacético (1685.49-2294.62 µg/g de extracto seco) y la *L*-fenilalanina (2917.68-3004.45 µg/g de extracto seco) fueron los principales compuestos de las muestras. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en la mayoría de los compuestos fenólicos y precursores de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes después de 2 años de almacenamiento. Los compuestos fenólicos ácido gentísico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido *p*-anísico y el precursor ácido shikímico presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) en las muestras almacenadas en los diferentes recipientes, principalmente en T4 (miel almacenada en un recipiente de plástico transparente). El perfil de compuestos fenólicos encontrados fue similar al reportado para la miel sin agujón por otros autores⁽⁸⁾, sin embargo, se encontraron variaciones con relación a la concentración, estas diferencias en la concentración han sido atribuidas a la variación floral y geográfica y a la época de recolección⁽⁸⁾.

Compuestos volátiles

El Cuadro 4 muestra que se encontraron 18 compuestos volátiles en la miel en los diferentes tratamientos, siendo el acetato de etilo (20.20-30.24 %), el óxido de *cis*-linalool (30.05-34.73 %), el óxido de *trans*-linalool (12.97-15.75 %) y el 1,5,7-octatrien-3-ol, 3,7-dimetil, (12.55-14.67 %) los principales compuestos, los cuales representan aproximadamente el 50 % de los compuestos volátiles presentes en las muestras. Los derivados del alcohol fueron los predominantes en la miel durante el almacenamiento.

Cuadro 4: Compuestos volátiles (%) determinados en la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

N	Nombre del compuesto	TR (min)	T0	T1	T2	T3	T4
1	Acetato de etilo	5.46	-	20.20 ^b	22.25 ^b	30.24 ^c	28.67 ^c
2	3-metilbutanal	5.66	-	-	-	-	-
3	Hexano, 3 metil	7.46	-	1.79 ^a	1.77 ^a	2.18 ^b	1.91 ^b
4	2-Hexeno, 3 metil	8.64	-	0.240 ^b	0.236 ^b	0.272 ^c	0.16 ^a
5	Ácido propanoico, 2-hidroxi-, éster etílico	8.83	8.85 ^c	1.49 ^a	1.54 ^a	1.78 ^b	1.66 ^b
6	Furfural	9.60	-	1.71 ^b	1.87 ^b	0.96 ^a	0.68 ^a
7	D-Limoneno	10.90	0.37	-	-	-	-
8	Acetato de 2-heptanal	10.93	1.38	-	-	-	-
9	Alcohol lilac B	11.05	-	0.14 ^b	0.15 ^b	0.110 ^a	0.112 ^a
10	Alcohol lilac C	11.19	0.09 ^a	0.11 ^a	0.10 ^a	0.09 ^a	0.09 ^a
11	Benzaldehído	11.68	0.87 ^a	1.76 ^b	1.98 ^b	1.99 ^b	2.47 ^c
12	<i>trans</i> - γ -cariofileno	11.89	18.72	-	-	-	-
13	Benceno acetaldehído	12.53	-	6.93 ^b	6.19 ^b	3.24 ^a	3.70 ^a
14	Oxido de <i>cis</i> -linalool	12.71	48.07 ^c	34.09 ^b	34.73 ^b	30.05 ^b	31.51 ^b

15	Oxido de <i>trans</i> -linalool	12.90	21.648 ^b	15.75 ^a	14.81 ^a	12.97 ^a	13.44 ^a
16	1,5,7-octatrien-3-ol, 3,7-dimetil	13.11	-	13.67 ^a	12.55 ^a	14.67 ^a	13.44 ^a
17	Oxido de nerol	13.67	-	1.52 ^c	1.25 ^b	0.85 ^a	1.51 ^c
18	Oxido de linalool	14.00	-	0.61 ^a	0.62 ^a	0.69 ^a	0.69 ^a

Los resultados se expresan como la media \pm DE (n=3).

TR= tiempo de retención.

^{ab} Las letras diferentes en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$). --No presente.

Ácidos grasos presentes en la miel

El análisis del extracto de hexano de las muestras de miel reveló la presencia de ocho ácidos grasos (Cuadro 5). El ácido hexadecanoico (31.12-49.65 %), el ácido octadecanoico (21.48-26.86 %) y el ácido *cis*-9-octadecadienoico (14.31-40.04 %) fueron los principales compuestos encontrados en las diferentes muestras almacenadas.

Cuadro 5: Área relativa (%) de ácidos grasos en el extracto de hexano en la miel recién cosechada (T0-control) y almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Nombre del compuesto	TR (min)	T0	T1	T2	T3	T4
Ácido decanoico	6.42	-	0.47 ^d	0.25 ^b	0.22 ^b	0.19 ^a
Ácido dodecanoico	8.34	29.72 ^c	1.96 ^a	7.02 ^b	2.27 ^a	1.90 ^a
Ácido tetradecanoico	10.49	1.91 ^c	2.07 ^b	1.15 ^a	2.48 ^b	1.19 ^a
Ácido 9-hexadecenoico	12.21	-	0.65 ^a	0.75 ^a	0.55 ^a	0.68 ^a
Ácido hexadecanoico	12.41	22.27 ^a	43.08 ^c	34.33 ^b	49.65 ^c	31.12 ^b
Ácido <i>cis</i> -9,12, Octadecadienoico	13.79	1.41 ^a	2.96 ^b	3.24 ^b	3.71 ^b	3.41 ^b
Ácido <i>cis</i> -9-octadecadienoico	13.83	15.90 ^a	22.36 ^b	32.23 ^c	14.31 ^a	40.04 ^d
Ácido octadecanoico	13.98	28.80 ^b	26.47 ^b	21.44 ^a	26.86 ^b	21.48 ^a

Los resultados se expresan como la media \pm DE (n=3).

TR= tiempo de retención.

^{abcd} Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$). -No presente.

Análisis del contenido de minerales

El contenido de minerales se mantuvo constante durante el almacenamiento, y descendió en el siguiente orden: K > Mg > Ca > Na > Si, para la miel almacenada en los diferentes recipientes (Cuadro 6). La concentración de As, Be, Cd, Mo, Ni, Pb, Sb, Ti, Tl y V fue similar a la reportada por Villacrés-Granda *et al*⁽²⁾. El K (109.36-125.68 mg/100 g PS) y el Mg (31.60-100.49 mg/100 g PS) se encontraron en concentraciones más altas en comparación con los otros minerales presentes. El potasio fue el mineral mayoritario, representando un tercio del contenido total y superando al de otros minerales en aproximadamente 10 veces. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los minerales investigados en la mayoría de las muestras evaluadas durante el almacenamiento.

Cuadro 6: Minerales y elementos traza (mg/100 g PS) en la miel recién cosechada (T0-testigo) y almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Mineral	T0	T1	T2	T3	T4
Al	1.378±0.01 ^a	1.352±0.04 ^a	1.451±0.10 ^a	1.221±0.07 ^a	1.235±0.00 ^a
As	-	-	-	-	-
B	1.670±0.02 ^b	1.208±0.03 ^a	1.456±0.10 ^{a,b}	1.765±0.09 ^b	2.089±0.00 ^c
Ba	-	-	-	-	-
Be	-	-	-	-	-
Ca	76.090±0.10 ^b	43.172±0.5 ^a	95.441±0.90 ^c	96.662±0.95 ^c	61.210±1.00 ^b
Cd	-	-	-	-	-
Co	-	-	-	-	-
Cr	-	-	-	-	-
Cu	0.578±0.07 ^b	0.476±0.03 ^b	0.554±0.03 ^b	0.753±0.02 ^c	0.159±0.01 ^a
Fe	0.970±0.08 ^b	0.740±0.02 ^b	1.179±0.09 ^c	0.815±0.03 ^b	0.613±0.06 ^a
K	115.90±3.00 ^a	125.686±2.76 ^b	109.97±2.00 ^a	109.361±3.09 ^a	122.840±2.67 ^b
Mg	84.32±1.00 ^b	100.490±1.98 ^b	31.608±1.65 ^a	96.608±1.49 ^b	87.096±1.34 ^b
Mn	0.11±0.00 ^a	0.123±0.00 ^a	0.14±0.00 ^a	0.113±0.00 ^a	0.189±0.00 ^b
Mo	-	-	-	-	-
Na	28.65±1.02 ^b	35.794±1.17 ^c	20.562±1.07 ^a	26.655±0.45 ^b	21.470±0.98 ^a
Ni	-	-	-	-	-
Pb	-	-	-	-	-
Sb	-	-	-	-	-
Se	4.870±0.98 ^a	4.589±0.76 ^a	4.892±0.49 ^a	4.891±0.29 ^a	5.494±0.57 ^a
Si	45.88±1.00 ^a	46.798±1.06 ^a	40.195±0.30 ^a	53.352±0.69 ^a	51.485±0.70 ^a
Sr	-	-	-	-	-
Ti	-	-	-	-	-
Tl	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-
Zn	0.678±0.05 ^a	0.814±0.06 ^b	0.972±0.05 ^b	0.349±0.06 ^a	0.995±0.04 ^b

Estos valores son el promedio de tres determinaciones.

^{ab} Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$). -: no detectable.

Análisis microbiológico

Los resultados mostraron un mayor número de microorganismos en las muestras iniciales para bacterias mesófilas aeróbicas (1.50×10^2 UFC/g) y mohos, y levaduras totales (2.30×10^2 UFC/g), en comparación con las muestras en los diferentes recipientes almacenados durante dos años (Cuadro 7). Los resultados obtenidos para el análisis de microorganismos para las muestras al inicio del almacenamiento variaron de 0.78×10^2 - 0.98×10^2 UFC/g de

muestra para aerobios mesófilos y 0.03×10^2 - 0.32×10^2 UFC/g de muestra para mohos y levaduras.

Cuadro 7: Bacterias mesófilas aeróbicas, mohos y levaduras totales presentes en las muestras al inicio y después de dos años de almacenamiento en diferentes recipientes

Código del tratamiento	Recuento de aerobios mesófilos totales (UFC/g)	Recuento de mohos y levaduras totales (UFC/g)
T0	1.50×10^{2a}	2.30×10^{2a}
T1	0.89×10^{2b}	0.32×10^{2b}
T2	0.98×10^{2b}	0.15×10^{2b}
T3	0.95×10^{2b}	0.08×10^{2b}
T4	0.78×10^{2b}	0.03×10^{2b}

Estos valores son el promedio de cinco determinaciones (n=5).

T0= almacenamiento inicial.

^{ab} Letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Discusión

La determinación de las propiedades fisicoquímicas, como la humedad, el pH, la acidez y los grados Brix, permite evaluar la calidad de la miel. La humedad de la miel favorece el crecimiento de bacterias y hongos presentes en la miel. El rango de valores de humedad obtenidos para los diferentes tratamientos fue consistente con los reportados para la miel de abejas sin aguijón ecuatorianas⁽²⁾. Se encontró que la muestra almacenada en el recipiente con válvula de retención de escape mostró una reducción significativa en el contenido de humedad en comparación con el tratamiento inicial, lo que posiblemente se deba a que los gases producidos por la fermentación arrastran la humedad presente al espacio de cabeza del recipiente, impidiendo que la humedad regrese. Al mismo tiempo, los cambios de color en la miel están relacionados con su origen botánico, el contenido de minerales, el contenido de compuestos fenólicos, las propiedades antioxidantes, la temperatura ambiente y el tiempo de almacenamiento. El cambio en la miel almacenada en el recipiente transparente posiblemente se deba a que la luz podría afectar los componentes de la miel, como carotenoides y flavonoides⁽¹⁵⁾.

Los valores de pH y la acidez total juegan un papel importante en la calidad de la miel⁽¹¹⁾. Los valores de acidez muestran que esta miel almacenada durante 2 años tiene una acidez mayor. El aumento del valor de acidez durante el almacenamiento puede estar relacionado con la fermentación de la miel y con sus propiedades antimicrobianas, pero también puede dar lugar a un sabor a vinagre indeseable debido a la producción de ácido acético. La acidez de la miel está relacionada con el contenido de glucosa. La glucosa se convierte por la acción de la enzima *D*-glucosa oxidasa en ácido glucónico. Este proceso produce peróxido de

hidrógeno, que es un componente de la acción antimicrobiana de la miel⁽¹⁶⁾. La producción de ácidos se produce no solo por acción enzimática sino también por fermentación de los microorganismos presentes en la matriz. El aumento de la acidez también puede estar asociado con la transformación de azúcares de la miel en alcoholes y luego en ácidos orgánicos por levaduras osmófilas. También es necesario considerar que cuando el contenido de humedad es alto, las bacterias crecen y fermentan los azúcares, produciendo compuestos como el ácido acético que pueden afectar el sabor de la miel⁽¹⁷⁾.

Un factor de calidad muy importante en la miel es la concentración de HMF, ya que es un indicador de la calidad, frescura y añejamiento de la miel. En condiciones como el procesamiento o añejamiento, influenciadas principalmente por la fluctuación de la temperatura, el pH, las condiciones de almacenamiento y el origen floral, pueden ayudar a que se produzca su presencia⁽¹⁸⁾.

La actividad antioxidante de la miel depende de su origen floral y de las condiciones de procesamiento y está estrechamente relacionada con los compuestos químicos que posee. Los componentes de la miel – compuestos fenólicos, flavonoides y ácidos fenólicos, así como clorofila, carotenoides y vitamina C – contribuyen a su actividad antioxidante⁽¹⁵⁾, junto con el hecho de que las propiedades antioxidantes están relacionadas con su color y el contenido de humedad.

La actividad antioxidante de la miel se debe, entre otros factores, a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales se producen en las plantas como sistema de protección y son arrastrados en el néctar extraído por las abejas. El análisis UPLC reveló la presencia de ácido shikímico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxifenilacético y L-fenilalanina, entre otros. Estos compuestos confieren actividad antioxidante a la miel, ya que poseen electrones deslocalizados, los cuales causan actividad de eliminación de radicales libres⁽¹⁹⁾. La actividad de eliminación de radicales de los compuestos fenólicos depende principalmente del número y la posición de los grupos hidroxilo en las moléculas. La presencia de estos compuestos se explica por el hecho de que el ácido shikímico es un precursor de intermediarios metabólicos aromáticos, dentro de los cuales se encuentran flavonoides como la luteolina⁽²⁰⁾. La presencia de estos compuestos fenólicos puede sugerir una posible actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, entre otras propiedades. De acuerdo con el análisis de compuestos fenólicos totales, la concentración de la mayoría de los compuestos fenólicos cuantificados disminuyó en la muestra sometida a tratamiento térmico, en comparación con el control. Esto ayuda a explicar la disminución de la actividad antioxidante.

La identificación de compuestos volátiles desempeña un papel crucial en la evaluación de la calidad de la miel. Estos compuestos, vinculados al néctar de las flores, al origen geográfico y a la estabilidad general, ofrecen información sobre las características únicas de la miel⁽²¹⁾. Cuando la miel se almacena en varios recipientes, hay un aumento de compuestos volátiles

durante el día inicial de almacenamiento. En particular, los ésteres, aldehídos, cetonas y alcoholes se vuelven predominantes después de 2 años, lo que contribuye significativamente al olor y sabor de la miel. La aparición y el aumento de compuestos volátiles específicos puede estar relacionado con el proceso de fermentación, con el tipo de envasado influyendo en la disponibilidad de oxígeno y en la mejora de la respiración anaeróbica. El contenido de humedad afecta aún más la fermentación, favoreciendo la producción de alcohol, dióxido de carbono y ácido acético, todo influyendo en la concentración de compuestos volátiles en la miel⁽¹⁷⁾.

Los ácidos grasos libres, similares a los compuestos volátiles, sirven como marcadores lipídicos que reflejan el origen floral de la miel y pueden ser indicadores cruciales de autenticidad⁽²²⁾. Es probable que los cambios en la concentración de ciertos compuestos volátiles en la miel almacenada en recipientes se deban a la permeabilidad del material del recipiente. Los plásticos, en particular, pueden retener algunos compuestos volátiles, lo que facilita su transferencia entre la miel y el material del recipiente. Esto implica la adsorción o retención de compuestos volátiles en la miel, lo que provoca cambios en su concentración. Además, algunos compuestos volátiles pueden perderse o absorberse, lo que afecta el perfil aromático de la miel y, en consecuencia, altera su sabor y aroma. Los ácidos grasos como el ácido hexadecanoico aumentaron en proporción, mientras que la proporción de ácido dodecanoico disminuyó, y otros como el ácido decanoico y el ácido 9-hexadecenoico emergieron durante el almacenamiento. Estos cambios pueden estar relacionados con variaciones en la actividad del agua y la permeabilidad de los diferentes recipientes utilizados para el almacenamiento. Otro factor es que la cristalización de la miel puede afectar la movilidad y disponibilidad de los ácidos grasos, influyendo en su proporción.

El contenido de minerales es otro factor de calidad de la miel. El análisis muestra que el tipo de minerales y su concentración no varía durante el almacenamiento en los recipientes evaluados, y fue similar a los reportados por otros autores respecto a otros tipos de miel; en consistencia con otros reportes, el potasio fue el mineral más abundante, este es considerado el mineral cuantitativamente más importante en la miel, representando alrededor del 50 % del contenido mineral total. La presencia de Al, Ba, Si y Co se debe principalmente a que estos minerales están presentes de forma natural en el medio ambiente, lo que demuestra que la miel es un muy buen indicador ambiental por lo que refleja el contenido de elementos tóxicos en el agua, el suelo y el aire circundantes⁽²³⁾. La miel puede contribuir a la dieta con elementos como Mg, Ca y K. Mg y K son micronutrientes importantes para el cuerpo humano, ya que están involucrados en muchos procesos fisiológicos y son esenciales para el mantenimiento de la función normal de las células y órganos, mediante los cuales hacen una importante contribución a la salud⁽²⁴⁾. Estos resultados también son consistentes con los reportados en un estudio en miel de abejas sin aguijón de Brasil, donde se encontró que estos minerales son los más importantes cuantitativamente⁽⁸⁾.

La miel puede contener microorganismos de diferentes fuentes, como el polen, los tractos digestivos, el polvo, el aire, el suelo y el néctar, o debido a su manipulación y procesamiento. La presencia de estos microorganismos puede afectar la calidad de la miel durante el almacenamiento, por lo que se realizó un análisis del recuento total de microorganismos aeróbicos y mohos, y levaduras al inicio y al final del almacenamiento en los diferentes recipientes. Estos valores estuvieron por debajo del límite reportado por otros autores y del establecido para la miel de *Apis mellifera*, lo que puede deberse a un manejo adecuado en la cosecha y a la presencia de compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y otros compuestos bioactivos presentes en la miel que tiene un efecto inhibitor sobre este tipo de microorganismos. La concentración de microorganismos aeróbicos y mohos y levaduras totales disminuyó en la miel durante el almacenamiento, lo que es consistente con la reducción de la actividad del agua y la humedad. Esto podría atribuirse a diversos factores, como la cristalización del azúcar o la evaporación del agua debido a la permeabilidad del plástico. La disminución de la concentración de microorganismos es un factor positivo que asegura la calidad de la miel durante su almacenamiento.

Conclusiones e implicaciones

En este estudio se realizó una comparación entre recipientes de plástico utilizados comercialmente, ya que el uso de otro tipo de recipientes, como vidrio o metal, son más costosos para el productor. El estudio demostró que el almacenamiento de la miel en recipientes de plástico tradicionales (polietileno de alta densidad y tereftalato de polietileno) y el uso de ciertas metodologías tradicionales proporcionan diferencias significativas en el contenido de humedad de la miel durante el almacenamiento, siendo el contenido de humedad menor en la miel almacenada en el recipiente con válvula de retención de escape (T3). También se encontró que, en general, el almacenamiento durante 2 años no produce cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas y en el contenido de compuestos fenólicos, los cuales se asocian con una disminución de las propiedades antioxidantes y compuestos volátiles que en conjunto pueden afectar la calidad de la miel. Además, el almacenamiento tuvo un efecto positivo en el análisis microbiológico de la miel. Finalmente, la evaluación de estos parámetros sugiere que el tratamiento T3 sería el más adecuado para el almacenamiento de la miel ya que presentó un cambio total de color menor a 3, un parámetro de calidad importante para los consumidores.

Agradecimientos

Los Autores desean agradecer a la empresa Chasseurs De Saveurs S.A. C.V. de Coatepec, Veracruz, por proporcionar la miel. Asimismo, agradecemos a la Asociación Mexicana de Bosques Comestibles.

Conflicto de interés

Los autores no informaron de ningún posible conflicto de interés

Literatura citada:

1. Arzaluz GA, Obregon HF, Jones RW. Optimum brood size for artificial propagation of the stingless bee, *Scaptotrigona mexicana*. J Api Res 2002;41(1-2):62-63. doi:10.1080/00218839.2002.11101070.
2. Villacrés-Granda I, Coello D, Proaño A, Ballesteros I, Roubik DW, Jijón G, *et al.* Honey quality parameters, chemical composition and antimicrobial activity in twelve Ecuadorian stingless bees (Apidae: *Apinae: Meliponini*) tested against multiresistant human pathogens. LWT - Food Sci Technol 2021;140:110737. doi:10.1016/j.lwt.2020.110737.
3. Martinez RA, Schvezov N, Brumovsky LA, Pucciarelli-Román AB. Influence of temperature and packaging type on quality parameters and antimicrobial properties during Yateí honey storage. Food Sci Technol 2017;38:196-202. doi:10.1590/1678-457X.17717.
4. Carvalho CAL, Fonseca AAO, Souza BA, Clarton L. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: *Meliponinae*) submitted to a dehumidification process. Ann Acad Bras Cienc 2009;81:143-149. doi:10.1590/s0001-37652009000100015.
5. Singh I, Singh S. Honey moisture reduction and its quality. Food Sci Technol 2018;55:3861-3871. doi:10.1007/s13197-018-3341-5.
6. Mohamad-Ghazali NS, Yusof YA, Mohid-Ghazali H, Chin NL, Othaman SH, Manaf, YN, *et al.* Effect of surface area manipulation of clay pot vessel on physicochemical and microbiological properties of stingless bee (*Geniotrigona thoracica*) honey. Food Biosc 2021;40:100839. doi:10.1016/j.fbio.2020.100839.
7. AOAC. Official Methods of Analysis. 17th Edition. Gaithersburg, MD, USA: The Association of Official Analytical Chemists, 2000.
8. Biluca FC, Santos de Gois J, Schulz M, Braghini F, Gonzaga LV, Maltez HF, *et al.* Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (Meliponinae). J Food Compos Anal 2017;63:89-97. doi:10.1016/j.jfca.2017.07.039.

9. Juárez-Trujillo N, Monribot-Villanueva JL, Alvarado-Olivarez M, Luna-Solano G, Guerrero-Analco JA, Jiménez-Fernández M. Phenolic profile and antioxidative properties of pulp and seed of *Randia monantha* Benth. *Ind Crops Prod* 2018;124(15):53-58. doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.052.
10. López-López A, Castellote-Bargalló A, López-Sabater M. Comparison of two direct methods for the determination of fatty acids in human milk. *Chromatographia* 2001;54(11):743-747. doi:10.1007/BF02492493.
11. Jiménez M, Beristain CI, Azuara E, Mendoza MR, Pascual LA. Physicochemical and antioxidant properties of honey from *Scaptotrigona mexicana* bee. *J Apic Res* 2016;55(2):151-160. doi:10.1080/00218839.2016.1205294.
12. Vit P, Medina M, Enríquez ME. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World* 2004;85:2-5. doi:10.1080/0005772X.2004.11099603
13. Kowalski S. Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chem* 2013;141:1378-1382. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.025.
14. Braghini F, Biluca FC, Ottequir F, Gonzaga LV, da Silva M, Vitali L, *et al.* Effect of different storage conditions on physicochemical and bioactive characteristics of thermally processed stingless bee honey. *LWT- Food Sci Technol* 2020;131:109724. doi:10.1016/j.lwt.2020.109724.
15. Vit P. Valorization of stingless bee (Meliponini) honey. *Rev Fac Farm* 2008;50(2):20-28.
16. Demera J, Angert E. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica, *Apidologie* 2004;35(4). doi:10.1051/apido:2004033.
17. Amin FAZ, Sabri S, Ismail M, Chan KW, Ismail N, Esa NM, *et al.* Probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey collected across Malaysia. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17(278):1-15. doi:10.3390/ijerph17010278.
18. Machado De-Melo AA, Almeida-Muradian LBD, Sancho MT, Pascual-Maté A. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *J Apic Res* 2018;57(1):5-37. doi:10.1080/00218839.2017.1338444.

19. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:933-956. doi:10.1016/0891-5849(95)02227-9.
20. Vered T, Gad G. New Insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant* 2010;3(6):956–972. doi:10.1199/tab.0132.
21. Viera da Costa AC, Batista-Sousa JM, Pereida da Silva MAA, dos Santos D, Madruga MS. Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the Brazilian semiarid region. *Food Res Int* 2018;105:10–120. doi:10.1016/j.foodres.2017.10.043.
22. Schievano E, Dettori A, Piana L, Tessari M. Floral origin modulates the content of a lipid marker in *Apis mellifera* honey. *Food Chem* 2021;130050. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130050.
23. Czipa N, Andrási D, Kovács B. Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. *Food Chem* 2015;175:536–542. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.018.
24. Velimirović D, Tošić S, Mitić S, Pavlović A, Rašić-Mišić I, Stojanović G. Mineral, phenolic content and antioxidant activity of selected honey samples consumed in Serbia. *J Apic Res* 2021;62(1):1-13. doi:10.1080/00218839.2021.1898783.

Cuadro 1: Propiedades fisicoquímicas de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Propiedades	T0	T1	T2	T3	T4
Humedad, gH ₂ O/ 100 g m.s.	25.70 ± 0.47 ^b	23.23 ± 0.28 ^{ab}	23.40 ± 0.09 ^b	20.60 ± 1.33 ^a	22.80 ± 0.39 ^a
Actividad del agua (25 °C)	0.733 ±0.006 ^b	0.663±0.001 ^a	0.671 ±0.007 ^a	0.667 ± 0.006 ^a	0.6759 ± 0.003 ^a
<i>L</i> *	18.33 ± 0.37 ^a	20.80 ± 1.85 ^a	21.67 ± 3.59 ^a	18.27± 0.43 ^a	25.64 ± 2.55 ^b
<i>a</i> *	2.84 ± 0.75 ^a	6.66 ± 0.64 ^{b,c}	6.27 ± 0.87 ^{b,c}	5.40 ± 0.64 ^b	8.91 ± 1.82 ^c
<i>b</i> *	5.39 ± 0.23 ^a	7.69 ± 2.34 ^b	8.41 ± 4.58 ^b	4.63 ± 0.08 ^a	7.26 ± 3.45 ^b
Croma	6.11 ± 1.53 ^a	10.17 ± 2.21 ^a	10.49 ± 4.22 ^a	7.11 ± 0.51 ^a	10.02 ± 3.54 ^a
Cambio total de color	-	4.81 ± 0.54 ^b	5.32 ± 0.38 ^b	2.69 ± 0.45 ^a	8.08 ± 0.37 ^c
Índice de pardeamiento	-	0.38 ± 0.09 ^a	0.42 ± 0.05 ^a	0.42 ± 0.03 ^a	0.39 ± 0.02 ^a
pH	3.66 ± .05 ^a	3.23 ± 0.05 ^a	3.26 ± 0.05 ^a	3.40 ± 0.06 ^a	3.43 ± 0.05 ^a
Brix (°)	71.66 ± 0.57 ^a	71.90 ± 0.55 ^a	72.03 ± 0.55 ^a	72.10 ± 0.26 ^a	72.76 ± 0.37 ^a
Conductividad eléctrica, mS/cm	293.33 ±11.54 ^b	320.25 ± 20.00 ^a	293.33 ±15.27 ^b	303.33 ± 5.77 ^b	296.00 ±15.16 ^b
Densidad, g/ml	1.40 ± 0.02 ^b	1.36 ± 0.01 ^a	1.36 ± 0.00 ^a	1.36 ± 0.02 ^a	1.36 ± 0.01 ^a
Hidroximetilfurfural, mg /kg	4.09 ± 0.53 ^a	4.33 ± 0.20 ^a	4.00 ± 0.39 ^a	4.23 ± 0.22 ^a	4.78 ± 0.52 ^a
Acidez titulable, meq/kg m.s.	73.66 ± 0.57 ^a	87.33 ± 6.65 ^b	87.33 ± 0.57 ^b	87.33 ± 2.08 ^b	85.66 ± 1.15 ^b

Los datos representan el promedio de tres réplicas o mediciones ± desviación estándar.

^{abcd} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

-- No presente.

Cuadro 3: Compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$ de extracto seco) de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Compuesto fenólico	T0	T1	T2	T3	T4
Ácido gálico	126.78 \pm 10.00 ^a	136.17 \pm 16.20 ^a	137.88 \pm 4.91 ^a	143.32 \pm 5.97 ^a	135.25 \pm 8.16 ^a
Ácido 4-hidroxibenzoico	2996.87 \pm 135.76 ^a	2847.66 \pm 207.18 ^a	2906.04 \pm 118.78 ^a	2934.22 \pm 105.08 ^a	2781.36 \pm 146.05 ^a
Ácido protocatecuico	637.87 \pm 21.79 ^a	660.19 \pm 22.55 ^a	666.90 \pm 13.40 ^a	648.85 \pm 24.07 ^a	634.87 \pm 34.48 ^a
Ácido vainílico	654.89 \pm 38.33 ^a	612.57 \pm 59.27 ^a	645.12 \pm 39.07 ^a	677.20 \pm 29.77 ^a	633.24 \pm 27.82 ^a
Ácido gentísico	312.90 \pm 89.87 ^a	312.82 \pm 36.07 ^a	280.94 \pm 29.34 ^a	294.31 \pm 10.82 ^a	541.69 \pm 48.62 ^b
Ácido 4-hidroxifenilacético	2198 \pm 129.88 ^a	2294.62 \pm 115.55 ^b	1702.48 \pm 195.65 ^a	2036.27 \pm 133.77 ^b	1685.49 \pm 103.27 ^a
Ácido sinápico	1677.33 \pm 87.99 ^a	1677.70 \pm 81.08 ^a	1636.52 \pm 23.01 ^a	1663.18 \pm 57.32 ^a	1565.35 \pm 80.53 ^a
Ácido salicílico	1244.11 \pm 199.55 ^a	1240.45 \pm 409.54 ^a	1053.87 \pm 54.18 ^a	1074.40 \pm 30.10 ^a	1098.68 \pm 32.97 ^a
Ácido <i>p</i> -anísico	399.97 \pm 29.73 ^b	317.57 \pm 26.29 ^a	455.27 \pm 39.95 ^c	384.97 \pm 38.77 ^b	456.20 \pm 52.69 ^c
Ácido rosmarínico	297.45 \pm 12.95 ^a	275.61 \pm 20.76 ^a	220.68 \pm 58.40 ^a	248.44 \pm 16.14 ^a	276.69 \pm 67.38 ^a
Ácido 4-cumárico	301.86 \pm 38.26 ^a	291.65 \pm 37.60 ^a	320.81 \pm 13.12 ^a	323.82 \pm 7.57 ^a	271.41 \pm 53.92 ^a
Ácido trans-cinámico	139.87 \pm 9.41 ^a	124.02 \pm 7.43 ^a	123.18 \pm 4.77 ^a	122.89 \pm 3.74 ^a	127.99 \pm 3.83 ^a
Luteolina	289.56 \pm 29.44 ^a	273.83 \pm 38.24 ^a	325.69 \pm 104.80 ^a	315.66 \pm 45.43 ^a	320.41 \pm 62.01 ^a
Escopoletina	689.85 \pm 58.33 ^a	673.76 \pm 72.47 ^a	720.55 \pm 26.69 ^a	740.75 \pm 17.46 ^a	619.54 \pm 120.49 ^a
Ácido ferúlico	132.63 \pm 27.82 ^a	127.52 \pm 21.48 ^a	136.69 \pm 20.29 ^a	150.77 \pm 40.86 ^a	111.18 \pm 27.34 ^a
Ácido cafeico	478.86 \pm 96.43 ^a	410.22 \pm 122.14 ^a	570.36 \pm 24.02 ^a	590.65 \pm 27.56 ^a	452.59 \pm 120.71 ^a
Ácido shikímico	36986.87 \pm 3999.20 ^a	38200.95 \pm 3974.40 ^a	37735.48 \pm 2688.39 ^a	38504.90 \pm 2817.73 ^a	35511.01 \pm 5741.62 ^a
Vainillina	97.45 \pm 6.98 ^a	96.17 \pm 5.16 ^a	97.36 \pm 16.74 ^a	85.01 \pm 12.63 ^a	98.26 \pm 12.83 ^a
L-fenilalanina	2930.99 \pm 120.89 ^a	2934.82 \pm 100.09 ^a	2886.78 \pm 115.55 ^a	3004.45 \pm 130.22 ^a	2917.68 \pm 118.89 ^a

Los resultados se expresan como la media \pm DE (n=3).

^{ab} Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$).