



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Contenido total de flavonoides y medida del color en mieles aragonesas

Flavonoid total content and colour measure in aragonesese honey

Autor/es

Ángela García Domingo

Director/es

Consuelo Pérez Arquillué
Susana Bayarri Fernández

Facultad de Veterinaria

2018

INDICE

1. RESUMEN.....	2
1.1 Resumen.....	2
1.2 Abstract.....	2
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 Origen de la miel y su comercialización.....	3
2.2 Principales componentes de la miel.....	6
2.3 Flavonoides en la miel	10
2.4 Propiedades sensoriales de la miel y su evaluación.....	13
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	16
4. METODOLOGÍA	17
4.1 Muestras analizadas	17
4.2 Determinación del contenido total de flavonoides	18
4.3 Medida del color	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
5.1 Contenido de flavonoides totales.....	21
5.2 Resultados del color de la miel	23
5.3 Relación entre el contenido de flavonoides y el color de las mieles en mm Pfund 27	
6. CONCLUSIONES	28
6.1 Conclusiones.....	28
6.2 Conclusions.....	29
7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA	30
8. BIBLIOGRAFÍA.....	30

1. RESUMEN

1.1 Resumen

La miel es una sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera*, cuya composición debe cumplir con la normativa legal, así como debe satisfacer las exigencias nutritivas y organolépticas del consumidor.

Es un producto que tiene compuestos beneficiosos para la salud, destacando en este trabajo los compuestos flavonoides, que además de influir en el sabor y el color, también tienen funciones antioxidante, antiinflamatoria y antialérgica, entre otras.

Las características organolépticas de la miel dependerán del origen floral, factores edáficos y climáticos, la raza de la abeja, el estado de la colonia, y el procesado. De las características organolépticas la más importante es el color, ya que determinará en gran medida la decisión de compra.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar el contenido de flavonoides en muestras de mieles crudas aragonesas mediante el método del tricloruro de aluminio, medir su color mediante fotometría (escala Pfund) y espectrofotometría (sistema CIELAB), y posteriormente hallar la posible relación entre el color y el contenido de flavonoides.

Los resultados de estas determinaciones mostraron que el contenido total de flavonoides se encuentra entre 3,55 y 19,95 mg (EQ)/100g de miel, similares a mieles de otros orígenes. La medida de color Pfund evidenció una gran variedad de colores de las mieles analizadas, dados los distintos orígenes geográficos y botánicos. Comparando los resultados obtenidos con la escala Pfund y con el sistema CIELAB, se observó una alta correlación entre los valores Pfund y las coordenada a^* y h_{ab} . No hubo correlación entre el contenido de flavonoides y los mm Pfund, por lo que esta determinación no es útil para conocer la cantidad total de flavonoides en una miel.

1.2 Abstract

Honey is a sweet natural substance produced by bee *Apis mellifera*, whose composition is a key aspect to obey what is dictated in the legislation and to satisfy the nutritive and organoleptic requirements of the consumer.

It is a product that has beneficial compounds for health, highlighting in this project flavonoids compounds which, in addition to modify the taste and colour, also have antioxidant, anti-inflammatory and anti-allergic function, among others.

The organoleptic characteristics of honey will be different depending on the floral origin, edaphic and climatic factors, the bee race, the state of the colony, and the processing. Among the organoleptic characteristics the most important is the colour because it will largely determine the purchase decision.

The objective of this project was to determine the content of flavonoids in samples of raw aragonesa honey by means of the aluminum trichloride method, to measure its colour using photometry (Pfund scale) and spectrophotometry (CIELAB system) and then to determine the possible relationship between the colour and the flavonoid content.

The results of these determinations showed that the content of total flavonoids is between 3,55 y 19,95 mg (EQ)/100 g of honey, similar to honey of other origins. The Pfund colour measure showed a great variety of colours of honey analysed, from different geographical and botanical origins. The comparison of the results obtained with the Pfund colorimeter and with the CIELAB system showed the high correlation between the result in mm Pfund and the coordinate a^* and the h_{ab} . The correlation between the flavonoid content and the Pfund mm is not good, so this determination is not useful to know the flavonoid content.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Origen de la miel y su comercialización

Según la norma de calidad de la miel (Real Decreto 1049/2003 y sus posteriores modificaciones), la miel es la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure.

Según su origen, la miel se puede clasificar en miel de flores o miel de néctar cuando procede del néctar de las plantas, y miel de mielada cuando en su mayor parte procede de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas o secreciones de las mismas.

El aprovechamiento de la miel se remonta a tiempos prehistóricos, pero la apicultura conocida como la técnica de criar y sacar provecho de las abejas es posterior, se data en el Neolítico, en los comienzos de la agricultura (Gil y Ruiz, 2010).

La apicultura va a favorecer la polinización, puesto que los agentes de polinización son dos en particular, el viento que lleva los pólenes pequeños y ligeros, y los insectos que transportan los pólenes gruesos y pesados de un elevado número de especies vegetales. Las abejas participan en la reproducción de más de la mitad de las especies de plantas con flores y de ahí su importancia en el equilibrio biológico. La flor segrega néctar que atrae a las abejas y estas recogen el polen de los estambres y los depositan en los estigmas de otra flor. Por ello tienen un papel fundamental en la agricultura, y es lo que hace que el sector de la agricultura y el de la apicultura estén tan relacionados.

En la apicultura es importante tanto el proceso de formación de la miel en el panal como las posteriores operaciones que se llevan a cabo. Cuando la humedad de la masa de la miel disminuye hasta alrededor del 16-19% y ha acabado el periodo de concentración, entonces las abejas sellan los alvéolos con una capa de cera llamada opérculo, proceso seguido de la transformación de azúcares en el que la sacarosa pasa a ser una mezcla de glucosa y levulosa por la acción de la diastasa. La invertasa o sacarasa son otras enzimas que intervienen en el proceso de transformación, tal como se explica más adelante. Posteriormente se lleva a cabo la extracción de miel del panal, el sistema más común para la extracción es la centrifugación tras el desoperculado. Luego se purifica mediante filtración, con el fin de eliminar restos de cera y otras impurezas. Se lleva a madurar, momento en el que por diferencia de densidad se separan impurezas que hayan podido quedar y burbujas de aire. Finalmente se pasteuriza y la miel ya está lista para su comercialización.

Según la forma de elaboración, las variedades son las siguientes (Real Decreto 1049/2003):

- Miel en panal: es la miel depositada por las abejas en los alvéolos operculados de panales recientemente contruidos por ellas, o en finas hojas de cera en forma de panal realizadas únicamente con cera de abeja, que no contengan larvas, y vendida en panales, enteros o no.
- Miel con trozos de panal o panal cortado en miel: cuando la miel contiene uno o más trozos de miel en panal.
- Miel escurrida: miel obtenida mediante el escurrido de los panales desoperculados, sin larvas.
- Miel centrifugada: miel obtenida de la centrifugación de los panales desoperculados sin larvas.
- Miel prensada: miel obtenida de la compresión de los panales, sin larvas, con o sin la aplicación de calor moderado, no pasando de los 45°C.
- Miel filtrada: miel obtenida eliminando la materia orgánica o inorgánica ajena a la miel de manera que se genere una importante eliminación de polen.

Según los datos obtenidos del informe del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) de 2017-2019. En España el sector apícola constituye el 0,44% de la producción final ganadera y el 0,17% de la producción final agraria, contando tanto con la miel como con la cera y el polen.

La producción de miel en España ascendió en el 2014 respecto al 2013, llegando a 32.174 toneladas en el 2014. Los orígenes y destinos más importantes en el comercio español de miel son Francia e Italia.

Todas las Comunidades Autónomas españolas producen miel, las más productoras son Andalucía y Valencia que sumaron el 40,7% de la producción nacional en el 2014. Aragón representó el 2,90% de la producción, siendo la miel de milflores la más producida en esta Comunidad Autónoma. El consumo humano de miel en España se encuentra en torno a 0,65 kg por persona al año.

Un aspecto muy importante en la comercialización de la miel es el color. Dependiendo del color de la miel se aceptará mejor o peor el producto. Por un lado los

norteamericanos prefieren mieles claras, de tono blanco agua, extra claro y blanco, mientras que en Europa se prefieren mieles más oscuras (Delmoro et al., 2010).

2.2 Principales componentes de la miel

La composición química de la miel depende del origen floral, de factores edáficos y climáticos, de la raza apícola, del estado de la colonia y de los métodos de recolección.

Como se puede ver en la Tabla 1 y posteriormente en el desarrollo de la información de cada componente según (Real Decreto 1049/2003; Jean Prost, 2007; Gil y Ruiz, 2010; Ulloa et al., 2010). La miel es un alimento cuyos componentes mayoritarios son carbohidratos y agua, lo cual va a influir en gran medida en su valor nutricional, características organolépticas y conservación. Estos aspectos también se ven afectados por otros componentes minoritarios.

Componente	% medio en la miel
Agua	17
Carbohidratos	82
Ácidos libres	0,57
Cenizas	0,17
Proteínas y aminoácidos	0,20
Lípidos	Trazas
Vitaminas	Trazas
Otros	Trazas

Tabla 1. Composición química de la miel.

2.2.1 Agua.

El agua es el segundo componente de la miel más importante. Los valores suelen encontrarse en torno al 17%.

El contenido en agua es un aspecto a controlar, ya que conforme mayor es el contenido de agua más susceptible es la miel al ataque microbiano. Si la cantidad

de agua en la miel es mayor del 23% puede fermentar, por debajo del 17% desaparece prácticamente el peligro de multiplicación de levaduras osmófilas, y si el contenido de agua es demasiado bajo, inferior al 14%, entonces serán mieles excesivamente viscosas y difíciles de extraer y utilizar.

Según la legislación, el contenido de agua en las mieles en general no puede sobrepasar el 20%, a excepción de la miel de brezo con un límite del 23% (Real Decreto 1049/2003).

2.2.2 Carbohidratos.

Contiene aproximadamente un 80-82% de hidratos de carbono. El 70% de los hidratos de carbono son monosacáridos, los mayoritarios son la fructosa y la glucosa, siendo generalmente mayor el contenido de fructosa.

También contiene en menor cantidad disacáridos, trisacáridos y oligosacáridos. Entorno a un 9% son disacáridos, los mayoritarios la maltosa y la sacarosa, esta última tiene que ser menor de 5g/100g de forma general, pero hay excepciones como es en la falsa acacia, alfalfa, Bankisia de menzies, Sulla, Eucalipto rojo, Eucryphia y Citrus que tiene que ser menor de 10g/100g, y para el Espliego y borraja menor de 15g/100g. Los trisacáridos y otros oligosacáridos se encuentran en baja concentración, entorno al 1,5%.

Según la legislación, el contenido de fructosa y glucosa en la miel de flores no puede estar por debajo de 60g/100g, y en la miel de mielada tiene que estar por encima de 45g/100g (Real Decreto 1049/2003).

2.2.3 Ácidos libres.

Tienen un papel importante en el sabor y en la estabilidad microbiológica, forman el 0,57% de la composición total.

En la miel hay más de 18 ácidos, de los cuales el más abundante es el ácido glucónico, que proviene de la glucosa.

Los ácidos van a afectar al valor del pH de la miel, que es de 3'3 - 4'6 para mieles florales y de 5'5 para mieles de mielato (Cortés, Vigil y Montenegro, 2011).

Según la legislación, tienen que encontrarse de forma general por debajo de 50 meq ácidos/kg, y para uso industrial por debajo de 80 meq ácidos/kg (Real Decreto 1049/2003).

2.2.4 Enzimas.

La miel contiene enzimas que son aportadas por los insectos y las plantas. Las abejas las añaden para que se produzca el proceso de maduración de néctar a miel.

Las enzimas presentes en la miel son las siguientes: La gluco-oxidasa que transforma la glucosa en ácido glucónico produciendo peróxido de hidrógeno con acción antiséptica, la catalasa responsable del paso del peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua, las amilasas (α y β) que degradan el almidón en maltosa, la fosfatasa ácida que degrada el almidón, y las más importantes son la invertasa o sacarasa porque se encargan de que se produzcan muchos cambios en la miel, como es la transformación de sacarosa en glucosa y levulosa (Jean Prost, 2007).

La actividad enzimática disminuye a lo largo del tiempo, y puede ser destruida por altas temperaturas. De las enzimas presentes la diastasa es un enzima termosensible que se inactiva a 60°C, por lo que es un indicador de que la miel haya podido ser calentada o esté envejecida. La actividad diastásica indica el grado de frescor de la miel.

Según la legislación de forma general el índice diastásico se tiene que encontrar por encima de 8. Para mieles con un bajo contenido natural de enzimas y un contenido de hidroximetilfurfural menor a 15 mg/kg, el índice diastásico tiene que ser mayor a 3 (Real Decreto 1049/2003).

2.2.5 Hidroximetilfurfural (HMF).

Su origen es por la descomposición de los monosacáridos, principalmente de la fructosa. Su aparición indica una pérdida de calidad por envejecimiento. Es un índice para medir la frescura de la miel (Ulloa et al., 2010).

Según la legislación, en general, excepto para miel de uso industrial, no puede estar por encima de 40 mg/kg. Para mieles originarias de regiones de clima tropical y mezclas de estas no pueden superar 80 mg/kg (Real Decreto 1049/2003).

2.2.6 Cenizas.

Las cenizas se encuentran entorno al 0,17% del total. Dentro de este porcentaje el mineral más abundante es el potasio, en un 80%, aunque depende del suelo y el origen botánico, le sigue el calcio el magnesio y el sodio (Gil y Ruiz, 2010).

2.2.7 Proteínas y aminoácidos.

El contenido de proteínas es muy bajo, entorno al 0,2%. Su origen es vegetal y animal. Principalmente son enzimas y aminoácidos (Gil y Ruiz, 2010).

La concentración de proteínas y aminoácidos representan el contenido de nitrógeno, entorno al 40-80% del nitrógeno total de la miel es proteína (Ulloa et al., 2010).

Las proteínas afectan a la tensión superficial, fomentando la formación de pequeñas burbujas. El contenido de aminoácidos al ser tan pequeño no tiene importancia nutricional.

2.2.8 Lípidos.

Los lípidos en la miel son casi inexistentes. Proviene de las micropartículas de cera que no han sido eliminadas por filtración o decantación (Gil y Ruiz, 2010).

2.2.9 Vitaminas.

El contenido de vitaminas es bajo, de estas las más importantes son las vitaminas B y C. La concentración disminuye en mieles filtradas porque tienen menos polen (Gil y Ruiz, 2010).

Por su composición la miel va a tener ventajas frente a otros edulcorantes. Estas ventajas van a ser tanto nutritivas como tecnológicas, ya que este producto no se somete a procesos de refinado, la glucosa es inmediatamente asimilable, las enzimas de la miel van a favorecer la digestión, aporta vitaminas aunque su contenido sea bajo, mejora el sistema inmune porque participa en el desencadenamiento de varias funciones de respuesta inmune a la infección, tiene actividad antimicrobiana es decir tiene capacidad antiséptica, esta función se da por diversas características de la miel, ya que contiene peróxido de hidrógeno el cual va a ir disminuyendo a lo largo del

tiempo, tiene un alto contenido en azúcar lo que hace que su aw sea baja e impida el crecimiento de la mayoría de microorganismos salvo algunas levaduras y bacterias osmófilas, y tiene un pH bajo en torno a 3'3-4'6 que limitará el crecimiento de algunos microorganismos (Chirife, Zamora y Motto, 2006).

Respecto a su uso en la industria, tiene propiedades que harán que se incluya como ingrediente de otros alimentos, por su capacidad humectante, mejora del sabor, reemplazante de edulcorantes y por el aporte de actividad antioxidante. Por ello se encuentra en bombones, caramelos, para diluir y conservar la jalea real, en la fabricación de hidromiel, para elaborar alimentos infantiles, y además de en estos productos también se utiliza en muchos más por su valor nutritivo y tecnológico (Mendizabal, 2005).

2.3 Flavonoides en la miel

2.3.1 Características y procedencia.

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 átomos de carbono (Limón et al., 2010). Se sintetizan en las plantas a partir de unidades de acetato y de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la tirosina (Escamilla Jiménez, Cuevas Martínez y Guevara Fonseca, 2009).

Son metabolitos secundarios de origen vegetal, responsables en gran medida de la pigmentación de los vegetales, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas.

Son importantes en la planta para su desarrollo, defensa frente a microorganismos y además potencian la polinización al conferir coloración, ya que así guían a las abejas hacia el néctar.

Su estructura se caracteriza por estar formada por dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono. Creados mediante una síntesis biosintética mixta, ya que el anillo A proviene de la malonilcoenzima A, mientras que el anillo B y la cadena C_{3n} provienen de la ruta del ácido shikímico (Ciappini, Gatti y Di vito, 2013).

En función de las características estructurales los flavonoides se pueden clasificar en: flavanoles, flavonoles, flavonas, antocianidinas (Martínez et al., 2002). Esta

estructura se representa en la Figura 1. Las diferencias individuales dentro de cada grupo surgen de la variación en el número y disposición de los grupos hidroxilo y en su grado de glicosidación. (Pandey y Rizvi, 2009).

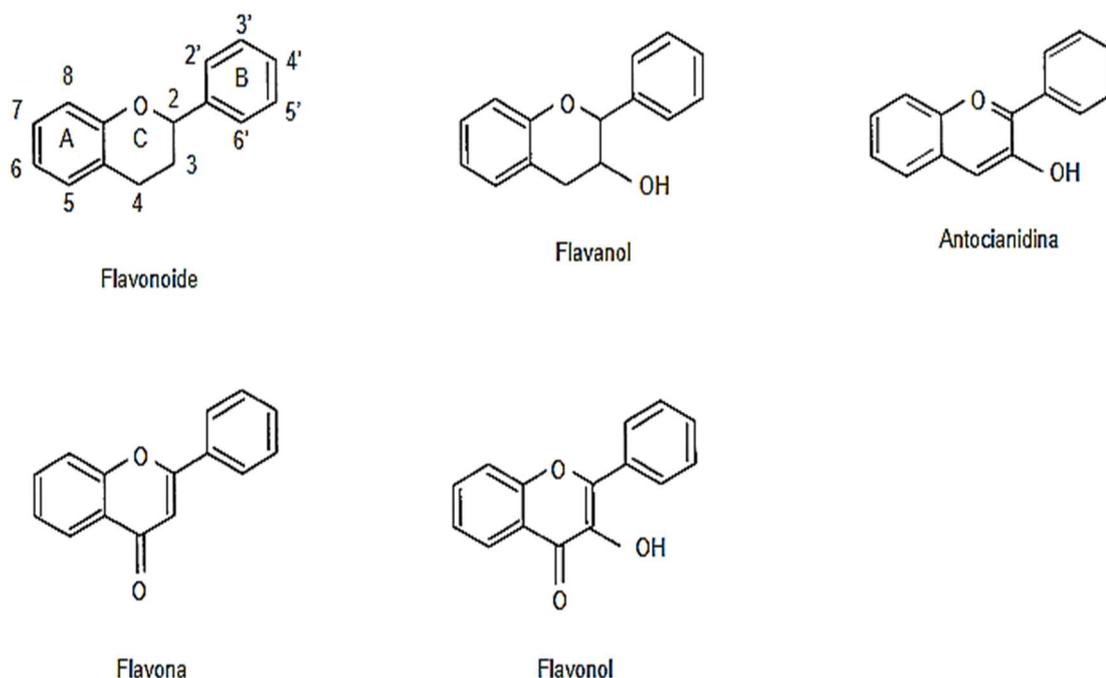


Figura 1. Estructura de los flavonoides (Martínez et al., 2002).

En los alimentos los flavonoides van a modificar diferentes propiedades como el sabor siendo más amargo o dulce, el color por la presencia de antocianos, y la astringencia por los taninos (Tomás Barberán et al., 1994). También influyen positivamente en la estabilidad de los alimentos por su acción antioxidante y su capacidad de inhibir enzimas responsables del ablandamiento (Istasse et al., 2016). Además, los ácidos fenólicos y flavonoides pueden ser usados como biomarcadores para el origen de la miel (Kenjerić et al., 2008; Boukraâ, 2013).

La miel contiene compuestos fenólicos, principalmente flavonoides que se encuentran como flavonoles, flavonones y flavanonas (Boukraâ, 2013) y ácidos fenólicos, provienen de varias fuentes como son el néctar, el polen y propóleos (Istasse et al., 2016).

2.3.2 Aportación través de la dieta.

Los flavonoides son compuestos fenólicos de la parte no energética de la dieta, están presentes en las frutas, hortalizas, granos, semillas, hojas, tallos y vino. Su presencia en la dieta depende de los hábitos del consumidor.

Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo la quercitina el predominante con un valor medio de 16 mg/día (Martínez et al., 2002).

Respecto a la función en el consumidor. Los flavonoides no pueden ser sintetizados mediante el organismo humano. Debido a sus propiedades beneficiosas, es conveniente incorporarlo al grupo de los nutrientes esenciales.

Entre las propiedades beneficiosas se encuentra la función antioxidante, el consumo de miel puede mejorar las defensas frente al estrés oxidativo, esta función se da mayoritariamente por la disminución y eliminación de especies de oxígeno reactivo, también tiene esta función por su poder quelante sobre el hierro y otros metales de transición. Además, los polifenoles poseen actividad antibacteriana. Inducen enzimas de detoxificación. Dan protección cardiovascular, la cual se asocia a la protección de las lipoproteínas de baja densidad de su oxidación. Actúan sobre el aparato circulatorio disminuyendo la fragilidad capilar y previniendo la formación de varicosidades. Algunos flavonoides también presentan actividad antialérgica, antihepatotóxica, antiinflamatoria, antitumoral, y antivírica (Jean Prost, 2007; Estrada Reyes, Ubaldo Suárez y Araujo Escalona, 2012).

Por todo ello es recomendable obtenerlos mediante la dieta, a partir de los alimentos mencionados anteriormente, por suplementos nutricionales o mediante extractos de plantas (Martínez et al., 2002).

Respecto al metabolismo de los flavonoides, su transformación se localiza principalmente en el hígado y en el colon. En el hígado los flavonoides sufren metabolismo de primer paso y sus metabolitos son excretados por la bilis, aunque se reabsorben ya no tienen funcionalidad, siendo la biodisponibilidad del 1,5%. En el colon es en donde los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos (Escamilla Jiménez, Cuevas Martínez y Guevara Fonseca, 2009).

De los flavonoides ingeridos hay que tener en cuenta que una parte importante se excretan por la orina.

2.4 Propiedades sensoriales de la miel y su evaluación

No existen dos mieles que sean iguales. De una colmena a otra o de un cuadro a otro, la cosecha varía. Además, en las características organolépticas influye el origen, las flores de las que procede y la región.

Mediante el aspecto visual se percibe el color de la miel, que puede ser de un tono casi incoloro a un tono pardo oscuro, y también se determina su homogeneidad o heterogeneidad. La textura puede ser fluida, espesa o cristalizada, se determina con las papilas táctiles, mientras que las papilas gustativas detectan los distintos sabores (Jean Prost, 2007). El aroma puede variar pero todos derivan de un origen vegetal.

Todos estos factores van a influir en la decisión de compra. Los consumidores de miel artesanal prefieren miel oscura, de olor fuerte, que cristalice y sea originaria de zonas rurales. Al contrario los consumidores de miel industrial tienen como preferencia el formato en el que se presenta, la información de la composición y propiedades, y el sabor dulce (Río Lanza, Sancho Pérez y Vázquez Casielles, 2003).

2.4.1 Color.

El color de la miel va de blanco agua a ámbar oscuro. Depende del origen botánico, de la época del año, de su composición química, que engloba los compuestos fenólicos, en los que se encuentran el ácido benzoico y derivados, ácido cinámico y derivados, flavonoides entre los que están las flavonas, flavonoles y flavanonas, carotenos, minerales y agua, también depende del tipo de néctar, del proceso de extracción, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, ya que con el paso del tiempo la miel se va oscureciendo por el proceso de cristalización (Gil y Ruiz, 2010; Ulloa et al., 2010).

El color es una propiedad que va a observar el consumidor inmediatamente, por lo que va a influir de manera determinante en la aceptación de la miel, por ello este atributo es un sistema de clasificación del cual dependerá su precio.

Según un estudio de la Organización Interprofesional de la Miel y los Productos apícolas (INTERMIEL) de 2011, un 28% de la población Española determina que en lo que se fija para la compra de la miel es en el color.

La medida del color puede ser de forma sensorial o instrumental, de forma sensorial hay que disponer de un panel de evaluadores entrenados y es más subjetivo que el instrumental, para el instrumental se utilizan espectrofotómetros o colorímetros triestímulo (Artigas, Capilla Perea y Pujol, 2002; Valero Muñoz, 2013).

De forma instrumental podemos clasificar las mieles, y así determinar su precio y cuál es el mercado al que van a ser destinadas. Ya que las mieles más oscuras tienen diferencias en la composición y sabor. La miel oscura suele tener un sabor fuerte, al contrario la miel clara tiene un sabor más suave. El color oscuro no significa que la miel sea de menor calidad, esta miel es más rica en fosfato de calcio, en hierro, en vitaminas B y C, en coloides, en azúcares superiores y en maltosa, pero es más pobre en sacarosa, glucosa, levulosa, y vitamina A (Mendizabal, 2005).

Además del color también hay otras características visuales de las cuales dependerá la calidad de la miel, como es la ausencia de sustancias extrañas y que la muestra sea nítida, es decir tiene que estar líquida o cristalizada pero no puede haber estados intermedios. La fluidez debe ser menor de 19% v/v. Respecto a la cristalización, los cristales que se aprecien deben de ser uniformes y conforme más pequeños mejor, la cristalización aumenta cuanto más elevada es la relación glucosa/agua (Jean Prost, 2007).

Como defectos del aspecto visual están la presencia de burbujas, cuerpos extraños y la marmolización. Los cuerpos extraños se suelen acumular en el fondo o en la superficie, algunos son cera del panal, restos vegetales o fragmentos de insectos. La marmolización son unas ramificaciones blanquinosas que aparecen en la parte superior y/o en los laterales del recipiente, si están en la parte superior se deben a aire atrapado, y si se localizan en el lateral se debe a haber conservado la miel en un lugar frío (Sancho Valls, Bota Prieto y Castro Martín, 1999).

Desde el punto de vista del consumidor es importante determinar tanto el color como el aporte de flavonoides ya que en un estudio destinado a la población Española se determinó que un 39% consumía miel por las características organolépticas y un 36% por las propiedades beneficiosas para la salud que les aporta (INTERMIEL, 2011).

2.4.2 Sabor.

El dulzor depende de los azúcares, ya que son los principales componentes, por ello todas las mieles van a tener el gusto dulce como básico. La miel con un elevado contenido de fructosa es más dulce que la miel con una elevada concentración de glucosa.

La acidez solo se dará en mieles en las cuales haya habido fermentación.

El sabor salado se puede percibir en mieles altamente mineralizadas y en mieles oscuras, es más intenso conforme más oscuras sean (Sancho Valls, Bota Prieto y Castro Martín, 1999).

En general el sabor de las mieles de color oscuro es más intenso que el de las mieles de color claro (Lesser Preuss, 1987).

2.4.3 Aroma.

Se han aislado más de 500 compuestos aromáticos, constituidos principalmente por ésteres de ácidos alifáticos y aromáticos, aldehídos, cetonas y alcoholes. Su concentración media es muy variable desde 0,020 mg/kg hasta más de 2 mg/kg. Estos compuestos son originarios del néctar, abeja, y reacciones químicas y enzimáticas durante el procesado de la miel (Gil y Ruiz, 2010). Son especialmente importantes la β -damascenona, el fenilacetaldehído y el anisaldehído, porque contribuyen en mayor medida al aroma ya que tienen un umbral de detección muy bajo.

Hay que diferenciar entre mieles monoflorales, que se caracterizan por un olor dominante y las multiflorales que tienen muchos olores, tanto principales como secundarios pero no son dominantes. Se evalúa mejor la miel más olorosa pero en la que no se perciban olores extraños por manipulación o procesado.

Los defectos del aroma son el olor a humo por los procesos de extracción, aromas ácidos por procesos de fermentación y aroma a caramelo por un calentamiento excesivo.

2.4.4 Textura.

Las características que más destacan es la pegajosidad, que es la facilidad que tiene la miel para disolverse, y la presencia de cristales, cuando no hay cristales es una miel crema, si hay su calidad dependerá de cómo son estos cristales, es decir será mejor si son pequeños, redondeados y solubles.

La cristalización depende de la viscosidad, la temperatura y la relación glucosa/agua y fructosa/glucosa. Tanto (Gómez Pajuelo, 2004) como (Jean Prost, 2007) explican este proceso.

Tiene dos fases. Primero la formación de los núcleos de cristalización, y luego una segunda fase en la cual los cristales crecen hasta hacerse visibles, es cuando se atorrón. Una cristalización homogénea es síntoma de que la humedad es la correcta y la miel es homogénea.

Al extraerse la miel es casi líquida, pero a lo largo del tiempo su consistencia aumenta por la cristalización de la glucosa con una molécula de agua, mientras que la fructosa se mantiene líquida, es lo que explica la separación en dos fases cuando la miel se conserva durante periodos prolongados (Lesser Preuss, 1987).

La temperatura óptima de cristalización es en torno a 14°C, por encima de 30°C se impide la formación de la estructura cristalina y por debajo de 14°C por la alta viscosidad se impide la cristalización.

La densidad de la miel está en torno a 1,41, varía según el contenido en agua. Si la miel se ha recolectado demasiado pronto o se ha dejado mucho tiempo en el madurador va a contener demasiada agua (Jean Prost, 2007).

La viscosidad permite determinar la humedad (Gómez Pajuelo, 2004). Disminuye cuando la temperatura aumenta hasta 30°C, y varía un poco por encima de 35°C. Depende de la temperatura, y otros factores como el contenido en agua y los constituyentes de la miel, particularmente el azúcar (Jean Prost, 2007).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los flavonoides protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, compuestos químicos tóxicos del tabaco, etc. El organismo humano no puede

producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse a través de la dieta. Debido a las propiedades que se les atribuyen y al avance científico que desde los años 90 se está produciendo en este campo, el mercado de los complementos alimenticios (la miel es ingrediente en muchos de ellos) dispone de una amplia oferta de estas sustancias que están a la venta por sus efectos beneficiosos en la protección frente a enfermedades degenerativas, osteoporosis, enfermedad cardiovascular y en el alivio de los síntomas de la menopausia entre otros. Es importante destacar que la miel es un alimento que posee estos compuestos, de ahí sus efectos beneficiosos.

Intervienen en el color los pigmentos naturales presentes en la miel como xantofilas y carotenos y también los flavonoides pertenecientes a los compuestos fenólicos. Los compuestos flavonoides, además de aportar color a este alimento, le otorgan capacidad antioxidante. Por otra parte el color es una propiedad física que es observada inmediatamente por el consumidor y su determinación es un criterio de clasificación útil bajo el punto de vista comercial.

Los objetivos de este trabajo han sido:

- Realizar una revisión bibliográfica sobre la presencia de flavonoides y color en la miel.
- Determinar los compuestos flavonoides totales en muestras de mieles aragonesas y medir su color.
- Evaluar la correlación entre el color de las muestras y su contenido en flavonoides.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestras analizadas

Se analizaron 19 muestras de mieles crudas aragonesas de distinto origen botánico y geográfico. La provincia más representada fue Zaragoza (16 muestras), seguido de Teruel (2 muestras) y Huesca (1 muestra).

La cosecha se realizó en primavera-verano. La miel se extrajo mediante centrifugación y las muestras se acondicionaron en recipientes de cristal con tape metálico.

4.2 Determinación del contenido total de flavonoides

La determinación de flavonoides se realizó mediante el método del tricloruro de aluminio (Meda et al., 2005). Este método consiste en la reacción de los flavonoides con el tricloruro de aluminio, dando un color amarillo cuya intensidad dependerá del contenido de flavonoides totales. La cuantificación se realiza mediante la medida espectrofotométrica de las muestras y de las soluciones patrón, utilizando como sustancia de referencia quercetina.

Inicialmente se elaboró una curva de calibración utilizando como referencia una solución madre de quercetina con una concentración de 200 µg/ml, a partir de la cual se realizaron en matraces volumétricos de 25 ml cuatro patrones con concentraciones de 1, 4, 8 y 12 µg/ml de quercetina.

Para la reacción colorimétrica se tomó 1ml de cada patrón y se trasvasó al tubo de ensaño correspondiente, a cada tubo de ensayo se le adicionaron 1 ml de solución de tricloruro de aluminio y 8 ml de metanol. Posteriormente el contenido de cada tubo de ensayo se trasvasó a cubetas de 1 cm de espesor óptico y se midió la absorbancia con un espectrofotómetro a 415 nm.

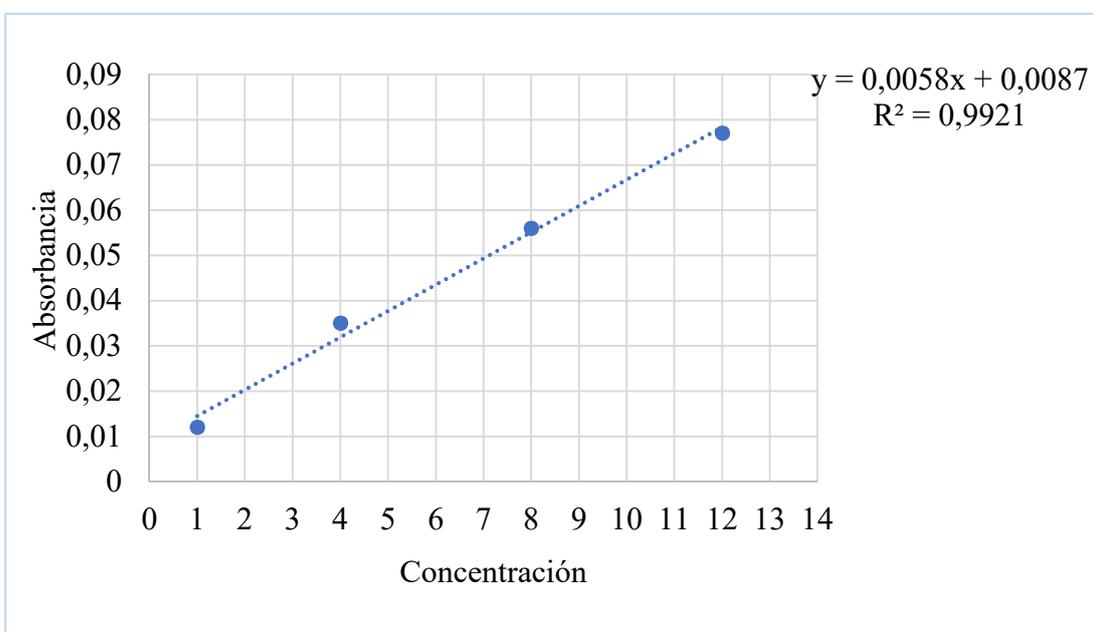


Figura 2. Curva de calibrado quercetina.

Las mediciones de las muestras se realizaron tras calibrar a cero con el blanco y preparar la solución de miel de cada muestra. Para preparar el blanco en un tubo de ensayo se adicionó 1 ml de tricloruro de aluminio y 9 ml de metanol. Para preparar la solución de miel al 10% p/v en un vaso de precipitados se pesaron 5 g de miel se añadieron unos mililitros de agua destilada, se removieron y se llevaron a un Erlenmeyer de 50 ml en donde se enrasó con agua destilada.

Se tomó 1 ml de la solución de miel preparada y se llevó a un tubo de ensayo al que se le añadieron 1 ml de tricloruro de aluminio y 8 ml de metanol, esta muestra de miel se trasvasó a una cubeta y se midió su absorbancia a 415 nm después de haber calibrado a cero con el blanco.

Cuando ya se obtuvieron las absorbancias de las diferentes muestras de miel entonces se interpoló su valor en la recta de calibrado.

Los resultados del contenido de flavonoides totales se expresaron en mg de quercetina equivalente (QE) en 100 g de miel.

4.3 Medida del color

4.3.1 Fotometría (escala Pfund).

La medida del color se determinó mediante medida fotométrica utilizando el colorímetro Pfund, equipo práctico, barato y versátil, por ello su alta aplicación a nivel internacional.

Se basa en comparaciones ópticas y nos permite clasificar las mieles en blanco agua, extra blanco, blanco, ámbar extra claro, ámbar claro, ámbar y ámbar oscuro, según los mm Pfund, que van en una escala de menos de 8 mm Pfund a más de 114 mm Pfund, tal como puede observarse en la Tabla 2.

Denominación	Rango en mm Pfund
Blanco agua	Menos de 8
Blanco extra	9 - 17
Blanco	18 - 34

Ámbar extra claro	35 - 48
Ámbar claro	49 - 83
Ámbar	83 - 114
Ámbar oscuro	Más de 114

Tabla 2. Color de la miel según los mm Pfund.

Para realizar las medidas inicialmente se calibró el equipo con glicerina y posteriormente se hicieron las medidas de las muestras. Es necesario que las muestras estén líquidas y no haya burbujas, como podemos ver en la imagen (Figura 3).

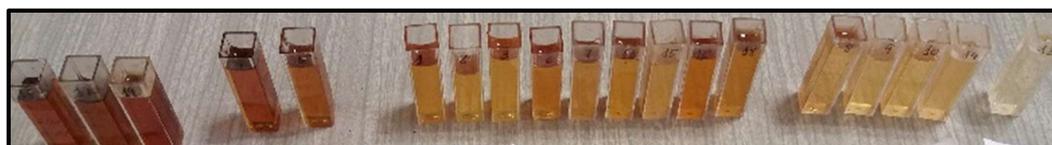


Figura 3. Muestras de mieles crudas aragonesas.

4.3.2 Sistema espectrofotométrico CIELAB.

Este método de medida del color es el método oficial CIE (Commission Internationale de l'Eclairage), solo para los colores dependientes, es decir, los objetos que no emiten luz, como en el caso de la miel. No es el método oficial para la medida del color de la miel pero nos aporta la información necesaria para evaluar este parámetro.

Permite representar el color en tres dimensiones, relacionadas con la respuesta visual: claridad L^* , croma C^*_{ab} y tono h_{ab} . Este método también utiliza las coordenadas a^* y b^* (Hunt, 2011).

Según la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) de 1987. La coordenada a^* está relacionada con la respuesta visual que representa la oposición rojo-verde, cuando los valores son positivos indican rojo y si son negativos verde. La coordenada b^* está relacionada con la oposición amarillo-azul, cuando es positiva indica amarillo y cuando es negativa azul. La coordenada L^* es la claridad, es decir, la luminosidad de una superficie juzgada en relación a la de una superficie que parece blanca o que posee una transmitancia elevada y está iluminada de

idéntico modo. Va de 0 a 100, siendo el 0 negro y el 100 blanco. El croma C^*_{ab} es el colorido de una superficie, evaluado en relación a la luminosidad de una superficie iluminada del mismo modo, que parece blanca o que tiene una transmitancia elevada. Tiene un valor 0 para estímulos acromáticos y generalmente no pasa de 150 en estímulos cromáticos, salvo en algunos estímulos monocromáticos. Está relacionada con el croma o intensidad del color. La coordenada h_{ab} representa el tono del color, que es el atributo de una sensación visual según el cual una superficie parece ser semejante a uno de los colores percibidos, rojo, amarillo, verde o azul, o a una combinación de dos de ellos

Para determinar el color de la miel se puede utilizar la medida por transmisión del espectro visible de la luz blanca (Iluminante D_{65}) de modo análogo a la medida de los mm Pfund.

La medida de los espectros se realizó con un espectrofotómetro Avaspec, en el intervalo de 380 a 780 nm, que corresponde a la respuesta visual, a intervalos de 5 nm, de acuerdo con las recomendaciones de CIE. El equipo se controló mediante el programa Avasoft.

Para llevar a cabo la medición las muestras se colocaron en cubetas de 1 cm de espesor óptico, iguales a las empleadas en el colorímetro Pfund para medir los mm Pfund. Primero se midieron el blanco y el negro. Como blanco se utilizó la glicerina porque tiene el mismo índice de refracción que la miel y esto permite medir solo la transmitancia correspondiente a la materia colorante de la miel. Por otro lado, el negro corresponde al ruido electrónico del sistema detector, y fluctúa ligeramente a lo largo de las mediciones, aspecto que se debe tener en cuenta.

Para realizar la medida de la transmitancia en cada longitud de onda, el valor que se obtiene es la medida de la muestra menos el ruido, dividida entre el valor del blanco menos el ruido, con ello conseguimos tener el valor de la muestra menos el blanco.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Contenido de flavonoides totales

En las muestras analizadas el contenido de flavonoides totales se encuentra entre 3,55 y 19,95 mg (EQ)/ 100g de miel.

En la Tabla 3 se muestran los resultados del contenido de flavonoides de las diferentes muestras.

Muestras	Flavonoides totales mg/100 g miel
M1	7,14
M2	7,92
M3	5,11
M4	10,73
M5	8,86
M6	6,52
M7	9,95
M8	9,80
M9	7,45
M10	6,83
M11	19,95
M12	7,45
M13	3,55
M14	6,67
M15	9,33
M16	9,17
M17	12,77
M18	8,23
M19	12,14

Tabla 3. Contenido total de flavonoides por muestra.

Según un estudio realizado en 26 mieles Chilenas, provenientes de zonas de clima tipo Mediterráneo, el contenido de flavonoides se encontró entre un intervalo de 0,014 mg/100g a 13,8 mg/100g, hallándose 6 de las muestras por debajo de 5 mg/100g miel (Muñoz et al., 2007).

En otro estudio se analizaron 81 muestras, de las cuales 46 eran monoflorales de tréboles y 17 monoflorales de eucalipto de la Región Pampeana (Argentina). El contenido en flavonoides para las mieles de trébol se encontró en torno a 3,60 mg (QE)/100g, mientras que las de eucalipto tenían mayor contenido, en torno a 5,65 mg (QE)/100g de miel (Ciappini, Gatti y Di vito, 2013). Estos valores son similares a los obtenidos en nuestro estudio.

Colucci et al. (2016) analizaron tres variedades de miel unifloral: acacia, castaño y sulla de Italia. El contenido total de flavonoides variaba entre 0,17 y 8,35 mg (QE)/ 100 g, siendo el de acacia el menor y el mayor el de castaño. En general las mieles aragonesas tienen un contenido de flavonoides totales mayor a los obtenidos en el estudio de mieles italianas, no llegando a valores tan bajos como 0,17 mg (QE)/ 100g.

5.2 Resultados del color de la miel

5.2.1 Resultados del color en mm Pfund.

Los resultados de las 19 muestras fueron los que se muestran en la Figura 4.

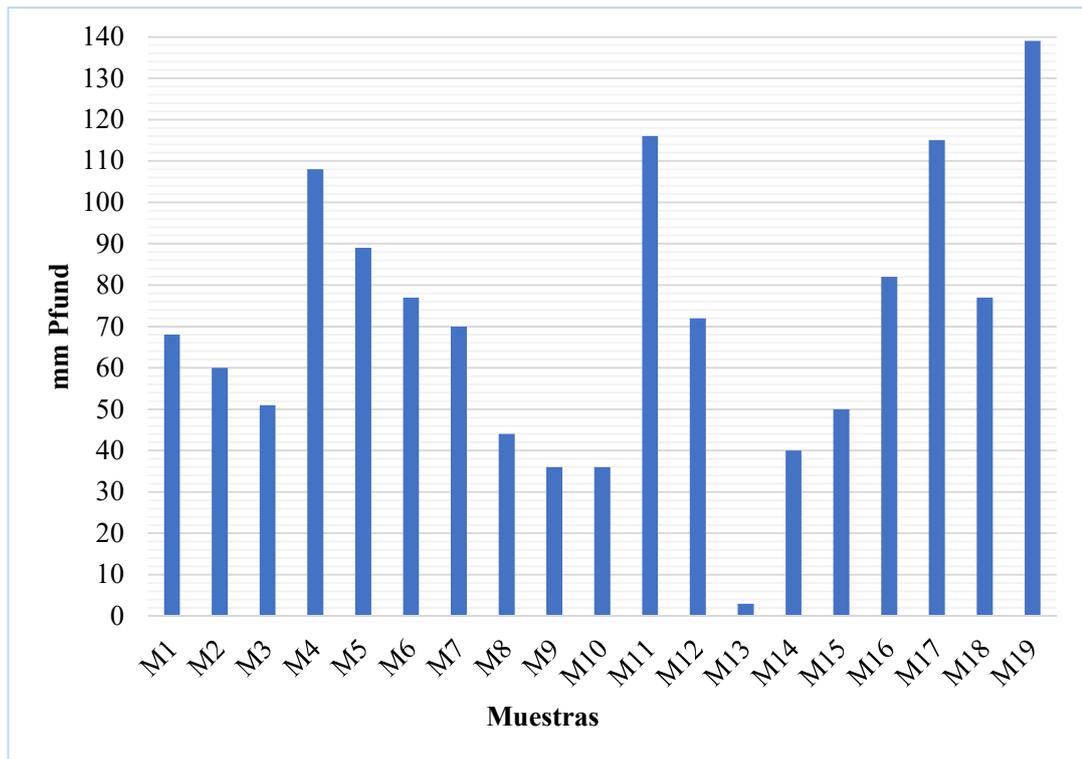


Figura 4. mm Pfund de las 19 muestras de mieles crudas aragonesas.

Podemos ver en la Figura 4 que los resultados obtenidos muestran valores muy variables entre las diferentes muestras.

Comparando los valores obtenidos con un estudio de muestras de tréboles, estas tienen un valor de $29,7 \pm 17,3$ mm Pfund englobando las mieles de color blanco extra hasta las mieles de color ámbar extra claro (Ciappini, Gatti y Di vito, 2013). Con ello vemos que mieles del mismo origen pueden tener un intervalo de valores amplio. Se observa que las mieles de este tipo no llegan a valores tan elevados como algunas mieles aragonesas analizadas que llegan a 139 mm Pfund.

En un estudio de mieles españolas realizado por Escriche et al., 2014 obtuvieron para mieles de cítricos 15,50 mm Pfund (Blanco), de romero de 42,33 mm Pfund (ámbar extra claro), poliflorales 77,83 mm Pfund (ámbar claro) y mielada 116,16 mm Pfund (ámbar oscuro). Se puede observar como varía el color según el origen botánico encontrándose las muestras distribuidas en casi todo el rango de mm Pfund, pero ninguna de las mieles resultó blanco agua, que sí figura en una de las muestras de mieles aragonesas.

5.2.2 Resultados del color en el sistema CIELAB.

En la Tabla 4 se expresan las coordenadas CIELAB con su denominación correspondiente.

Muestra	a*	b*	L*	C*_{ab}	h_{ab}
M1	7,82	40,8	39,4	41,55	79,15
M2	6,32	42,46	52,3	42,93	81,53
M3	6,89	50,45	65,3	50,92	82,23
M4	26,55	69,95	45,8	74,82	69,22
M5	17,86	61,03	43,1	63,59	73,69
M6	14,47	69,89	66,4	71,37	78,3
M7	10,39	52,75	59,1	53,76	78,86
M8	3,85	43,6	73,7	43,77	84,96
M9	1,92	40,09	70,9	40,13	87,26
M10	2,08	42,54	78,7	42,6	87,2
M11	26,46	61,69	36,9	67,12	66,79
M12	12,77	64,43	57,2	65,68	78,78
M13	-0,56	16,11	88,2	16,11	91,99
M14	3,13	31,77	48,7	31,92	84,36
M15	6,45	43,3	55,3	43,78	81,53
M16	19,17	79,79	54,4	82,06	76,49
M17	23,89	59,18	35,6	63,82	68,01
M18	12,91	66,77	57,9	68,00	79,06
M19	32,18	54,22	31,7	63,05	59,31

Tabla 4. Coordenadas de color CIELAB de las mieles.

En el estudio de mieles españolas (Escriche et al., 2014) los resultados obtenidos son: para la coordenada L* la miel de cítrico tiene un valor de 47,99, la de romero de 39,20, la polifloral de 34,32 y la de mielada de 26,02. La coordenada a* para la miel de cítrico tiene un valor de 0,41, la miel de romero de 5,15, la miel polifloral de 10,53 y la de mielada de 6,73. La coordenada b* para la miel de cítrico tiene un valor de 22,46, la de romero tiene un valor de 20,85, la polifloral de 17,27 y la de mielada de 6,12. Comparando con nuestros resultados, hemos

obtenido valores más extremos para las coordenadas cromáticas: L* (de 31,7 a 88,2), a* (de -0,56 a 32,18) y b* (de 16,11 a 88,2).

Con estos resultados se pueden comparar entre muestras la claridad, los colores que predominan, el croma y el tono, y así poder diferenciar y categorizar las muestras.

5.2.3 Estudio comparativo de las medidas obtenidas por sistema CIELAB y Pfund.

Con este estudio pretendemos encontrar posibles relaciones matemáticas entre las coordenadas CIELAB y los valores Pfund (en mm) de las mieles consideradas, por si estas relaciones pudieran presentar alguna ventaja en el estudio del color de la miel.

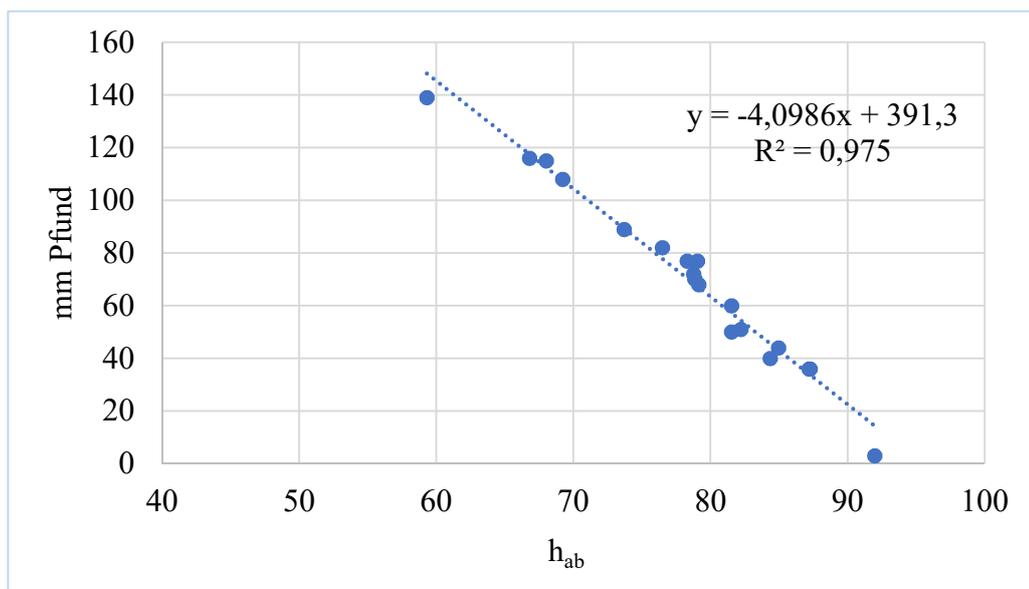


Figura 5. Representación de h_{ab} frente a los mm Pfund.

En la Figura 5 se presenta la relación existente entre los mm Pfund y el tono h_{ab} de las muestras, que es lineal y con pendiente negativa. Los valores Pfund más altos (ámbar oscuro) corresponden a los valores h_{ab} más bajos (naranjas, rojizos), mientras que los valores Pfund más bajos (blanco agua, ámbar extra claro) corresponden a tonos más amarillos. Se ve que hay alta correlación entre ambas medidas, teniendo una R^2 de 0,975.

Si comparamos el Pfund con la coordenada L* la relación no es tan buena como con el valor h_{ab} , pero es alta con un R^2 de 0,7043. Si la comparamos con la coordenada a^* pasa como con la coordenada h_{ab} pero la relación es algo inferior, teniendo una R^2 de 0,9417.

Viendo la estrecha relación entre ambas medidas, a partir de los mm Pfund se pueden obtener las coordenadas a^* y el h_{ab} , y al obtener estas coordenadas se podría obtener b^* a partir de la siguiente fórmula: $h_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$.

5.3 Relación entre el contenido de flavonoides y el color de las mieles en mm Pfund

El objetivo de esta comparación es determinar si conociendo el color de la miel mediante la medida del colorímetro Pfund, podemos saber el contenido de flavonoides totales, lo que nos permitiría una medida más rápida.

Esta determinación sería importante porque al tener mayor o menor cantidad de flavonoides dependerá su capacidad antioxidante.

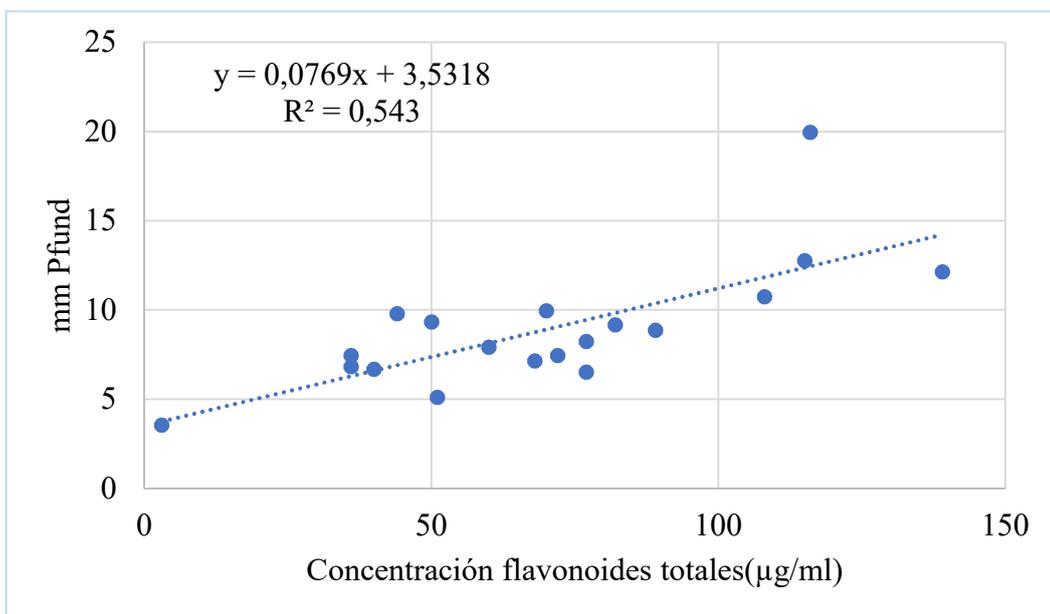


Figura 6. Representación de la concentración flavonoides totales ($\mu\text{g/ml}$) frente a los mm Pfund.

Se observa que no hay buena relación entre el Pfund y la concentración de flavonoides totales, esta relación no es muy elevada ya que la r^2 es de 0,543. Además, también se puede ver que hay una muestra que se encuentra más desplazada que las demás, que es la muestra 11, la cual dio un contenido de flavonoides más elevado que las demás muestras.

Comparando con otros estudios (Islam et al., 2012; Ciappini, Gatti y Di vito, 2013), estos sí que muestran una correlación positiva entre flavonoides e intensidad de color, y afirman que el color sería un posible indicador del potencial antioxidante de la miel, llegando a encontrar en uno de estos estudios (Ciappini, Gatti y Di vito, 2013) una relación entre el color y el contenido de flavonoides de una r^2 de 0,93, que le permite determinar que las mieles oscuras tienen mayor capacidad antioxidante que las mieles más claras.

Esta idea se recalca en otro estudio de 10 muestras de miel monoflorales de Bangladesh, que da una correlación de 0,926 entre los flavonoides y la intensidad de color (Moniruzzaman et al., 2014).

No todos los investigadores encuentran correlación entre el contenido en flavonoides y color. Así Bogdanov (2004) determinó que las mieles oscuras contenían más derivados de ácidos fenólicos y menos flavonoides que las mieles claras, en coincidencia con lo indicado por Tomás-Barberán et al., (1994). Estos investigadores atribuyen este fenómeno a la acción de los enzimas polifenoloxidasas presentes en la miel, los cuales oxidan los flavonoides para dar estructuras quinonídicas que se polimerizan, dando compuestos resultantes de color pardo responsables del oscurecimiento de las mieles.

Además de lo reseñado anteriormente, no solo los flavonoides afectan al color, sino que también intervendrían otros compuestos como son las xantofilas, los carotenos, los minerales, el contenido en agua, el polen y los componentes que se forman en las reacciones de pardeamiento no enzimático.

6. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

1. El contenido total de flavonoides en las mieles analizadas, de diferentes orígenes botánicos y geográficos, han tenido una variación de 3,55 a 19,95 mg (EQ)/ 100 g de miel, valores similares a los obtenidos en otros estudios.
2. Las muestras presentaron una gran variación de colores, desde un blanco agua a un ámbar oscuro.
3. Las muestras mostraron alta claridad con valores L^* elevados (12 de las 19 muestras tenían un valor superior a 50).
4. El tono de las muestras se situó desde amarillo hasta naranja oscuro.
5. Hay una correlación lineal negativa entre los mm Pfund y el tono h_{ab} de las muestras.
6. Se ha obtenido buena correlación entre el valor Pfund (mm) con las coordenadas a^* y L^* .
7. A partir de los mm Pfund medidos, se podrían obtener las coordenadas a^* , b^* y h_{ab} .
8. No hemos encontrado correlación entre el contenido de flavonoides y el color de la miel.

6.2 Conclusions

1. The total content of flavonoids in the honey analysed, from different botanical and geographical origins, had a variation of 3.55 to 19.95 mg (EQ) / 100 g of honey, values similar to those obtained in other studies.
2. The samples showed a great variation of colours, from “white water “ to dark amber colour.
3. The samples showed a high clarity with high L^* values (12 of the 19 samples had a value higher than 50).
4. The tone of the samples was from yellow to dark orange.

5. There is a negative linear correlation between the mm Pfund and the tone h_{ab} of the samples.
6. A good correlation between the Pfund value (mm) and the a^* and L^* coordinates has been obtained.
7. From the mm Pfund, we could obtain the coordinates a^* , b^* and h_{ab} .
8. We have not found a correlation between the content of flavonoids and the colour of honey.

7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA

El Trabajo de Fin de Grado sobre el contenido total de flavonoides y el color en la miel, me ha permitido informarme sobre un sector del cual no tenía mucho conocimiento y ver las particularidades de este y su importancia.

Mediante la revisión bibliográfica además de conseguir una visión general de la elaboración de la miel, sus propiedades y los aspectos legales. Al concretar en el estudio de los flavonoides y el color, también he podido centrarme en aspectos concretos, que me han permitido conocer en mayor profundidad la composición de este producto y ver cómo afecta a las características sensoriales y nutritivas.

Tanto los análisis realizados para el contenido de flavonoides como las medidas del color con diferentes métodos, me han permitido profundizar en estas técnicas de análisis y tomar mayor soltura en el momento de realizarlas e interpretar los resultados.

Por todo lo dicho este trabajo ha sido gratificante, ya que además de poner en práctica conocimientos adquiridos durante la carrera he podido ampliar conocimientos en el ámbito de bromatología, legislación, física, nutrición y química analítica.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Artigas, J. M., Capilla Perea, P., Pujol Ramo, J. (2002). *Tecnología del color*. Universidad Valencia.

2. Bogdanov, S., Ruoffa, K., Persano Oddo, L. (2004). "Physico-chemical methods for de characterization of unifloral honeys". *Apidology*, 35, pp. 4-17. DOI: 10.1051/apido:2004047 .
3. Boukraâ, L (Ed.) (2013). *Honey in traditional and modern medicine*. CRC Press.
4. Chirife, J., Zamora, M.C., Motto, A. (2006). "The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys". *Journal of Food Engineering*. 73(3), pp. 287-292. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/roble.unizar.es:9443/science/article/pii/S0260877405000129?_rdoc=1&_fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb [Consultado 14-03-2018].
5. Ciappini, M. C., Gatti, M. B., Di vito, M.V. (2013). "El Color como indicador del contenido de flavonoides en miel". *Ciencia y Tecnología*. 19, pp. 59–63. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872013000100009 [Consultado 09-02-2018].
6. Colucci, G., De Vito V., Varricchio, E., De Cunzo, F., Coccia, E., Paolucci, M., Di Stasio, M., Boscaino, .1, Viola, C., Volpe, M.G. (2016)." Identification of Traceability Markers in Italian Unifloral Honeys of different Botanical Origin". *Journal of Nutrition & Food Sciences*.6. DOI: 10.4172/2155-9600.1000462
7. Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). (1987). *International Lighting Vocabulary*. Genève.
8. Corrección de errores del Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. 25 de junio de 2004. 226.
9. Cortés, M E., Vigil, Pilar., Montenegro, G. (2011). "The medicinal value of honey: a review on its benefits to human health, with a special focus on its effects on glycemc regulation". *Ciencia e investigación agraria*, 38(2), pp. 303-317. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202011000200015>.
10. Delmoro, J., Muñoz, D., Nadal, V., Clementz, A., Pranzetti, V. (2010). "El color en los alimentos: determinación de color en mieles". *Invenio*, 13(25), pp. 145-152. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=87715116010> . [Consultado 09-03-2018].

11. Diaz Moreno, A. C. (2009). *Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad físico-química y biológica de la miel*. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
12. Escamilla Jiménez, C. I., Cuevas Martínez, E.Y., Guevara Fonseca, J. (2009) “Flavonoides y sus acciones antioxidantes”. *Facultad Medicina UNAM*. 52 (2). Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf> [Consultado 10-03-2018].
13. Escriche, I., Kadar, M., Juan Borrás, M., Domenech, E. (2014). “Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment”. *Food Chemistry*, 142, pp. 135-143. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com.roble.unizar.es:9443/science/article/pii/S0308814613009618> [Consultado 20-03-2018].
14. Estrada Reyes, R., Ubaldo Suárez, D., Araujo Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud Mental*, 35, pp. 375-384. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2012/sam125d.pdf> [Consultado 10-03-2018].
15. Gil, A., y Ruiz, M. D (coord.) (2010). *Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. (2ª ed). Madrid: Médica Panamericana.
16. Gómez Pajuelo, A. (2004). *Mieles de España y Portugal: conocimiento y cata*. Barcelona: Montagud editores.
17. Hunt, R., Pointer, M. (2011). *Measuring colour*. United Kingdom: Wiley.
18. Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 177. <http://doi.org/10.1186/1472-6882-12-177>
19. Istasse, T., Jacquet, N., Berchem, T., Haubruge, E., Nguyen, B. k. (2016). “Extraction of Honey Polyphenols: Method Development and Evidence of *Cis* Isomerization”. *Analytical Chemistry Insights*. 11, pp. 49-57. DOI: 10.4137/ACI.S39739.

20. Jean Prost, P. (2007). *Apicultura: conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena*. (4ª ed). Madrid: Mundi-Prensa.
21. Kenjerić, D., Mandić, M. L., Primorac, L., Čačić, F. (2008). “Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey”. *Food Chemistry*, 110(1), pp. 187-192. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/roble.unizar.es:9443/science/article/pii/S0308814608001039?_rdoc=1&_fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb#bib11 [Consultado 22-03-2018].
22. Lesser Preuss, R. (1987). *Manejo y crianza práctica de la abejas*. Editorial Andrés bello.
23. Limón, D., Díaz, A., Mendieta, L., Luna, F., Zenteno, E., Guevara, J. (2010). “los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos”. *Mensaje Bioquímico*, 34, pp. 143-154. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259344548_LOS_FLAVONOIDES_MECANISMO_DE_ACCION_NEUROPROTECCION_Y_EFECTOS_FARMACOLOGICOS [Consultado 10-03-2018].
24. Martínez Flórez, S., González Gallego, J., Culebras J. M., Tuñón M^a J. (2002). “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes” *Nutrición hospitalaria*. 17 (6), pp. 271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf> [Consultado 09-02-2018].
25. Meda, A., Euloge Lamien., R., Millogo, J., Germaine Nacoulma., O. (2005). “Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity”. *Food Chemistry*, 91, pp. 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
26. Mendizabal, F. (2005). *Abejas, manuales esenciales*. Buenos Aires: Albatros Saci.
27. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. (2016). *Programa nacional de medidas de ayuda a la apicultura*. Madrid: MAPAMA. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/plannacionalapicola2017-2019_tcm30-105340.pdf [Consultado 01-04-2018].

28. Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2014). "Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of Antioxidant Capacity". *BioMed Research International*. DOI: 10.1155/2014/737490.
29. 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(4), pp. 848-851. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n4/a17v30n4.pdf> [Consultado en 20-03-2018].
30. Organismo Interprofesional de la miel y los productos apícolas. (2011). *Estudio de mercado, conocimiento de la miel española, el nivel de aceptación y preferencias del consumidor*. Disponible en: <https://ruralcat.gencat.cat/documents/20181/336940/DLFE-24734.pdf/ba7d9e6f-1811-417c-9f27-d7dd22efd019> [Consultado 10-03-2018].
31. Pandey, K. B., Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), pp. 270–278. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835915/> [Consultado 16-02-2018].
32. Real Decreto 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel. BOE. 5 de agosto de 2003 (186).
33. Río Lanza, A. B., Sancho Pérez, M. J., Vázquez Casielles, R. (2003). *El consumidor de productos agroalimentarios artesanales: estrategias para la comercialización de la miel*. Oviedo: Universidad de Oviedo.
34. Sancho Valls, J., Bota Prieto, E., Castro Martín J. J. (1999). *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Barcelona: Universidad de Barcelona.
35. Tomás Barberán F. A., Ferreres F., Valbuena A.O., Fernández Maeso, M.C (1994). *Estudio sobre el contenido en flavonoides de las mieles de La Alcarría. Su aplicación a la caracterización geográfico-botánica*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

36. Ulloa, J. A., Mondragón Cortez, P. M., Rodríguez Rodríguez, R., Rosas Ulloa, P. (2010). “La miel de abeja y su importancia”. *Fuente*. 4. Disponible en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf> [Consultado 09-03-2018].
37. Valero Muñoz, A. (2013). *Principios de color y holopintura*. Alicante: Editorial Club Universitario.

Quiero expresar mis agradecimientos al profesor Ignacio Negueruela por su valiosa y desinteresada ayuda en la medida del color de las muestras.