

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 22: 1-7, 2019.

DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2019.0.186

## Actividad antioxidante y quelante de metales de las mieles de *Melipona beecheii* y *Frieseomelitta nigra* originarias de Tabasco, México

Xariss M. Sánchez-Chino<sup>1\*</sup>, Cristian Jiménez-Martínez<sup>2</sup>, Elia Ramírez-Arriaga<sup>3</sup>, Jorge Martínez-Herrera<sup>4</sup>, Luis Jorge Corzo-Ríos<sup>5</sup> y Luis Manuel Godínez García<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Salud, El Colegio de la Frontera Sur-Villahermosa. Carretera a Reforma Km. 15.5 s/n. Ra. Guineo 2da. Sección, Villahermosa, 86280, Tabasco, México. <sup>2</sup>Laboratorio de Moléculas Bioactivas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México. <sup>3</sup>Laboratorio de Palinología: Paleopalínología y Actuopalínología. Departamento de Paleontología. Instituto de Geología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. <sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Huimanguillo, Tabasco, México. <sup>5</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, México. <sup>6</sup>Departamento de investigación y Desarrollo Tecnológico, Universidad Politécnica Mesoamericana, Tenosique, Tabasco, México. E-mail: \*xsanchez@mail.ecosur.mx

### RESUMEN

La miel es un producto alimenticio con alto valor nutricional y potencial farmacológico. La mayoría de los estudios de este producto se han centrado en las propiedades de la miel producida por *Apis mellifera*, que se ha utilizado en medicina alternativa, destacando por sus actividades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias, entre otras. En este trabajo, se identificó el origen floral, la concentración de proteína soluble, los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante y quelante de metales de las mieles producidas por *Melipona beecheii* y *Frieseomelitta nigra*, originarias de San Marcos, comunidad de Tenosique en Tabasco, México. Los resultados muestran que la miel producida por *F. nigra* es de origen polifloral derivada principalmente de la especie *Piper* sp., aff. *Brosimum*, *Asteraceae*, *Ziziphus* sp., *Haematoxylum campechianum*, mientras que la producida por *M. beecheii* fue monofloral (*Eugenia* sp.). La miel de *F. nigra* presentó mayor concentración de compuestos fenólicos y mayor efectividad para atrapar los radicales superóxido y DPPH, además de un mejor potencial de quelación del cobre. Por su parte, la miel de *M. beecheii* presentó mayor capacidad de captación de los radicales ABTS y quelación del hierro; mientras que la capacidad de absorción del radical hidroxilo fue similar para ambas mieles. Este trabajo resalta la importancia de contar con análisis palinológicos y bioquímicos sobre las mieles de las abejas nativas sin aguijón por el potencial terapéutico que tienen y de las cuales, en el caso de algunas especies, no se tiene información.

**Palabras Clave:** miel, *Melipona beecheii*, *Frieseomelitta nigra*, compuestos fenólicos, antioxidantes, actividad quelante, origen floral.

### Antioxidant and metal chelating activities of honeys of *Melipona beecheii* and *Frieseomelitta nigra* from Tabasco, México

### ABSTRACT

Honey is a food product with high nutritional and pharmacological value. Most studies of this product have focused on studying the properties of honey produced by *Apis mellifera*, which has been used in alternative medicine, highlighting the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities, among others. In this work, we identified the floral origin, the concentration of soluble protein and phenolic compounds, and we assessed the antioxidant and chelating activity of the honey produced by *Melipona beecheii* and *Frieseomelitta nigra* from the community of San Marcos in Tenosique, Tabasco, México. The results show that the honey produced by *M. beecheii* was of monofloral origin (*Eugenia* sp.); while that of *F. nigra* is of polyfloral origin, derived mainly from the species *Piper* sp., aff. *Brosimum*, *Asteraceae*, *Ziziphus* sp., *Haematoxylum campechianum*). Honey produced by *F. nigra* show higher concentration of phenolic compounds, it is more effective in entrapping the DPPH and superoxide radicals, and exhibits better copper chelating potential. The honey of *M. beecheii* has a higher capacity for uptake of ABTS radicals and chelation of iron. The uptake capacity of the hydroxyl radical was similar for both honeys. This work highlights the importance of having palynological and biochemical analyzes on the honeys of native stingless bees, because of their therapeutic potential, where for many species there is a lack of information.

**Key Words:** honey, *Melipona beecheii*, *Frieseomelitta nigra*, phenolic compounds, antioxidants, chelating activity, floral origin.

## INTRODUCCIÓN

**L**a miel es un alimento constituido principalmente de azúcares y en menores cantidades de compuestos como: enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, carotenoides, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos, entre ellos flavonoides. Es producida por diferentes tipos de abejas, a partir de exudados de plantas que se recogen, modifican y almacenan (da Silva, Gauche, Gonzaga, Oliveira & Fett, 2016). En la mayoría de las antiguas civilizaciones, la miel se utilizaba con fines nutricionales, medicinales y religiosos. En la actualidad, este producto de importancia económica, nutricional y farmacológica se incorpora en recetas caseras (dulces típicos, endulzante de bebidas o en infusiones) con propósito terapéutico (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010). A nivel industrial se utiliza para endulzar fórmulas lácteas, como vehículo para la preparación de jarabes, cosméticos y productos de higiene personal (Jones, 2001). Una de sus principales propiedades tecno-funcionales es su poder edulcorante debido a la alta concentración de carbohidratos (más del 95%), destacando la fructosa y glucosa, aunque también se han identificado otros oligosacáridos en menor concentración (Bogdanov, Jurendic, Sieber & Gallmann, 2008). Entre sus compuestos con actividad biológica se reportan los fenólicos, los ácidos orgánicos, los aminoácidos y las proteínas (Baltrušaitytė, Venskutonis & Čeksterytė, 2007). La composición de la miel está estrechamente relacionada con la especie de abeja que la produce y el origen geográfico y floral, lo que genera variedad de olores, sabores, colores, así como propiedades funcionales y terapéuticas, entre las que se encuentran las antimicrobianas, antifúngicas y antivirales (Kujumgiev *et al.*, 1999; Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López & Pérez-Álvarez, 2008; Silici, Sagdic & Ekici, 2010; Alzahrani *et al.*, 2012; Anthimidou & Mossialos, 2013).

Además de la miel producida por *A. mellifera*, existen otro tipo de mieles que son producidas por abejas sin aguijón pertenecientes a la tribu Meliponini (Amin *et al.*, 2018). A nivel mundial, se conocen aproximadamente 400 especies de abejas, ubicadas en 50 géneros, su distribución se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. En México, se reporta la presencia de 46 especies principalmente en los estados de Yucatán, Chiapas, Tabasco, Puebla, Colima, Guerrero y Veracruz, sin embargo, son pocos los estudios reportados sobre sus mieles. En Tabasco, actualmente se está realizando un esfuerzo por retomar la meliponicultura (Aldasoro, Arnold & Burguete, 2015). En 2018 se registraron 101 meliponicultores en 15 de los 17 municipios del estado, destacando Tenosique con el 37% del total registrado. El mayor número de colmenas corresponde a *Melipona beecheii*, de hecho, entre los meliponinos es la más reconocida y estudiada (Chan, Aldasoro, Sotelo & Vera, 2018). Otras especies reportadas son: *Nannotrigona*

*perilampoides*, *Frieseomelitta nigra*, *Trigona fulviventris*, *Scaptotrigona mexicana* y algunas especies del género *Plebeia* sp. (Ayala, Gonzalez & Engel, 2013; Cauch, Ruiz-Ruiz, Ortiz & Segura, 2015).

En estas mieles también destaca la presencia de compuestos fenólicos, que confieren propiedades sensoriales, como olor, sabor y color característicos, además de actividades biológicas, entre otras, antioxidante que les permite actuar como agentes reductores, donar iones de hidrógeno o quelar metales (Islam, Pervin, Hossain, Saha & Hossain, 2017). También se ha propuesto que tienen actividades biológicas contra diversas patologías actuando como agentes antibacterianos, anticancerígenos, antiinflamatorios, antivirales, antialérgicos, estrogénicos e inmunoestimulantes (Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López & Pérez-Álvarez, 2008; Amensour, Sendra, Abrini, Pérez-Álvarez & Fernández-López, 2010). En México, la meliponicultura ha sufrido un proceso de abandono como resultado de cambios en los factores culturales, económicos y ecológicos, sin embargo, ahora se pretende recuperar esta práctica (Quezada-Euán, de Jesús May-Itzá & González-Acereto, 2001), lo que beneficiaría en primera instancia al ecosistema debido a la actividad polinizadora de las abejas, impactaría positivamente en la economía de los productores, ya que esta miel es bien cotizada en el mercado y fomentaría la conservación del patrimonio biocultural del país. El objetivo de este trabajo fue determinar el origen floral, la concentración de proteína soluble y de compuestos fenólicos, así como la actividad antioxidante y quelante de las mieles de *M. beecheii* y *F. nigra*, producidas en Tenosique, Tabasco, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron mieles de *M. beecheii* (MB) y de *F. nigra* (FN) cosechadas en el mes de febrero del 2017 en la comunidad San Marcos, Tenosique, Tabasco, México (18°20'38"N, 91°20'56" W). Para la extracción de la miel, se destaparon las colmenas y se eligieron potes completamente cerrados, a los que se les introdujo una jeringa equipada con aguja de acero inoxidable, para succionar la miel. Después de la extracción, la miel se colocó en recipientes de vidrio color ámbar, herméticamente cerrados para proceder a su análisis.

### Análisis mesopalinológico

Se realizó el análisis mesopalinológico (origen floral) por el método modificado de Erdtman (1969). Los granos de polen recuperados fueron descritos e identificados utilizando la colección de referencia del Laboratorio de Palinología: Paleopalinología y Actuopalinología depositada en el Instituto de Geología, de la Universidad Nacional Autónoma de México y mediante catálogos de polen (Ramírez-Arriaga & Martínez-Hernández, 2007). Se contaron 500 granos de polen para calcular los porcentajes para cada taxón.

### Cuantificación de proteínas solubles

La cuantificación de proteínas solubles se realizó de acuerdo con el método de Bradford (1976) adaptado a microplacas (Zor & Selinger, 1996). 1 g de miel se diluyó en 10 mL de agua destilada (100 mg/mL), de esta solución se tomaron 50  $\mu$ L y se mezclaron con 150  $\mu$ L del reactivo de Bradford (Sigma, No.cat B6916). La solución se incubó a 37 °C/10 min y se leyó la absorbancia a 595 nm. Se realizó una curva estándar (0-100  $\mu$ g/mL) usando albúmina sérica bovina como proteína de referencia.

### Determinación de compuestos fenólicos totales

La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) adaptado a microplacas (Oomah, Cardador-Martínez & Loarca-Piña, 2005). Para la cuantificación de estos compuestos se preparó una solución de 100 mg/mL de miel en metanol acidificado al 1% con HCl; se tomaron 20  $\mu$ L de esta solución y se mezclaron con 100  $\mu$ L del reactivo Folin-Ciocalteu (diluido 1:2 con agua destilada) y se combinaron con 80  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10%). La mezcla se incubó, protegida de la luz a temperatura ambiente durante 30 min, se leyó la absorbancia a 760 nm y el cálculo se realizó por comparación con una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar de referencia. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico/100g.

### Actividad quelante de Fe<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup>

La actividad quelante del Fe<sup>2+</sup> se determinó mediante la formación del complejo Fe<sup>2+</sup>-ferrocina que genera un color cuyo pico máximo de absorción es a 562 nm (Carter, 1971). La miel fue diluida con agua destilada (100 mg/mL) y se tomaron 20  $\mu$ L de esta dilución, misma que fue mezclada con 200  $\mu$ L de una solución compuesta por 100 mM de acetato de sodio (pH 4.9) y 30  $\mu$ L de FeCl<sub>2</sub> (p/v), y se incubó a 23 °C durante 30 min, al término de los cuales se adicionaron 12.5  $\mu$ L de ferrocina 40 mM.

Para determinar la actividad quelante de Cu<sup>2+</sup>, 20  $\mu$ L de miel diluida con agua destilada (100 mg/mL) fue mezclada con 290  $\mu$ L de un buffer de acetatos (50 mM, pH 6.0), 6  $\mu$ L de pirocatecol violeta 4 mM y 10  $\mu$ g de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (Saiga, Soichi & Nishimura, 2003). El cambio de color fue medido a 632 nm. Los resultados de ambas técnicas fueron comparados con ácido etilen diamino tetra acético (EDTA) como estándar, con una concentración de 100  $\mu$ g/mL y fueron calculados utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de actividad quelante} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{muestra}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

### Actividad antioxidante

#### Método DPPH y ABTS

El efecto de las muestras de miel analizadas sobre la neutralización de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

(DPPH). Se determinó de acuerdo con Udenigwe, Lu, Han, Hou & Aluko, (2009), de la siguiente manera: 40  $\mu$ L de la solución acuosa de miel (1 g/mL) fueron colocados en placas de 96 pozos y se añadieron 160  $\mu$ L de DPPH (100  $\mu$ M). Las microplacas se incubaron a temperatura ambiente protegidas de la luz por 30 min. La decoloración fue medida a 515 nm en un lector de microplacas. La actividad antioxidante se percibe con la pérdida de la coloración y se reporta como el porcentaje de inhibición del radical.

La decoloración del radical ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) provocado por la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones, fue determinada de acuerdo con el método reportado por Re, Pellegrini, Proteggente, Pannala, Yang & Rice-Evans (1999). El radical se generó por medio de la reacción del ABTS (7 mM) con K<sub>2</sub>S<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (2.45 mM) en 10 mL de agua destilada, e incubado por 17 h en oscuridad, a temperatura ambiente. Posteriormente se ajustó la concentración para que a 734 nm, la absorbancia fuera de 0.7, finalmente se adicionaron 180  $\mu$ L de la solución de ABTS<sup>+</sup> y 20  $\mu$ L de las muestras de miel (1 g/mL). La absorbancia fue medida al tiempo cero y seis minutos después, los resultados se reportaron como el porcentaje de inhibición del radical de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{muestra}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

### Atrapamiento del radical hidroxilo (ARH)

Para determinar la actividad de atrapamiento del radical hidroxilo de las muestras de la miel se utilizó el método descrito por Li, Jiang, Zhang, Mu & Liu, (2008), adaptado a microplacas. Para ello 40  $\mu$ L de la muestra de miel diluida (1g/mL) se mezclaron con 50  $\mu$ L de 1,10-fenantrolina (2 mM), 50  $\mu$ L de sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>, 2 mM), 30  $\mu$ L de buffer de fosfatos (0.2 M, pH 7.4), y 50  $\mu$ L de peróxido de hidrógeno (0.01%). La mezcla fue incubada a 37 °C/60 min y las absorbancias fueron medidas a 536 nm. Los resultados fueron determinados de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{ARH} (\%) = \frac{(A_s - A_1)}{A_0 - A_1}$$

Donde: A<sub>s</sub> = absorbancia de la muestra, A<sub>1</sub> = Absorbancia del control de la solución de 1,10-fenantrolina, FeSO<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; A<sub>0</sub> = Absorbancia del blanco que contiene 1,10 fenantrolina y FeSO<sub>4</sub>.

### Radical superóxido

La actividad de inhibición del radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) se determinó mediante la inhibición de la autooxidación del pirogalol, descrita por Marklund & Marklund (1974) cuyo fundamento se basa en la polimerización de O<sub>2</sub><sup>-</sup> inducida por pirogalol, desarrolla un compuesto colorido que se lee a 320 nm y es estable durante 4 min a 23 °C. Para ello, se mezclaron 80  $\mu$ L de Tris-HCl, 50 mM (pH 8.3), 40  $\mu$ L de EDTA 1 mM

y 1.5 mM pirogalol disuelto en HCl, 10 mM y las muestras de prueba. Los resultados se expresan como el porcentaje de inhibición de la oxidación del pirogalol mediante la diferencia entre la presencia y ausencia de pirogalol en las muestras.

### Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado y se reportó el promedio de estas determinaciones  $\pm$  error estándar. Para determinar si hubo diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) significativas entre los diferentes tratamientos se realizó un ANOVA y una comparación de medias de Tukey utilizando el software estadístico *Statgraphics centurion*<sup>®</sup>.

## RESULTADOS

### Origen floral

La miel proveniente de *M. beecheii* se clasificó como monofloral de *Eugenia* sp. (72.8%). Otras especies encontradas en esta miel fueron *Lonchocarpus* sp. (5.9%), *Mimosa púdica* 4.3%) y *Zizipus* sp. (2.3%), mientras que la miel de *F. nigra* se clasificó como multifloral o polifloral destacando la presencia de *Piper* sp. (31.9%), aff. *Brosimum* sp. (19.0%), y de la familia *Asteraceae* (12.9%), otras especies encontradas fueron *Zizipus* sp. (7.2%) y *Haematoxylum campechianum* L. (6.9%).

### Concentración de proteínas y compuestos fenólicos

El análisis de proteína permitió determinar que las mieles de *M. beecheii* y *F. nigra* presentaron concentraciones de  $214 \pm 26$  y  $592 \pm 15$  mg de proteína soluble/100 g, respectivamente. Otros compuestos importantes en las mieles, que también dependen del origen floral, son los compuestos fenólicos cuyo contenido en mieles de *M. beecheii* y *F. nigra* estudiadas fue de  $48.53 \pm 3.92$  y  $170 \pm 8.7$  mg equivalentes de ácido gálico/100 g de miel, respectivamente.

### Actividad quelante de $\text{Cu}^{2+}$ y $\text{Fe}^{2+}$

Los valores obtenidos al determinar la actividad quelante de metales en las mieles se observa en la Figura 1. La miel de *M. beecheii* presentó una mayor capacidad para quelar  $\text{Fe}^{2+}$  (93.76%), apenas por debajo del EDTA (98.26%), que de  $\text{Cu}^{2+}$  (32.64%), mientras que la miel de *F. nigra* tuvo mayor capacidad para quelar el  $\text{Cu}^{2+}$  (85.37%), que  $\text{Fe}^{2+}$  (47.34%), el porcentaje de quelación del EDTA para el  $\text{Cu}^{2+}$  fue de 93.68%.

### Capacidad antioxidante

El porcentaje de inhibición para el atrapamiento de los radicales estudiados se puede observar en la Figura 2, la cual muestra que la miel de *F. nigra* tuvo mayor capacidad para neutralizar los radicales DPPH y  $\text{O}_2^-$ , que la miel de *M. beecheii*, en cuanto a la inactivación de los radicales  $\text{ABTS}^+$  e hidroxilo no se encontró diferencia significativa entre las mieles analizadas, pero ambas tuvieron mayor capacidad para neutralizar el radical  $\text{OH}^\cdot$ .

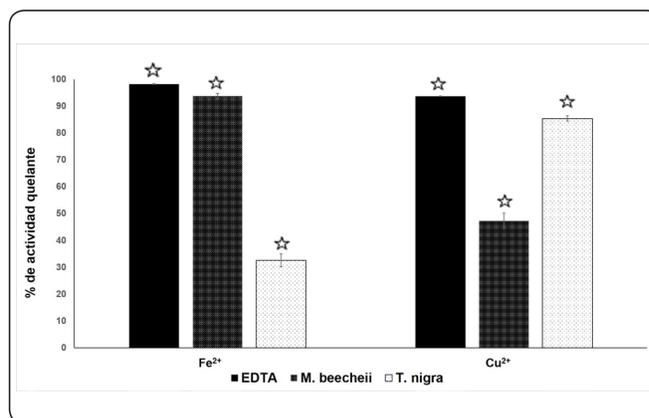


Figura 1. % de actividad quelante de  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  de mieles de *M. beecheii* y *F. nigra*, colectadas en San Marcos, Tenosique, Tabasco, México, 2017. Los resultados representan la media de tres repeticiones  $\pm$  EE., representa diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), ANOVA y una comparación de medias de Tukey.

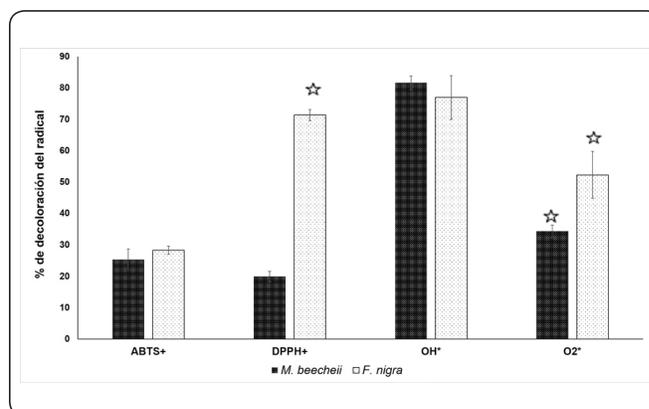


Figura 2. Actividad antioxidante (% de inhibición) de mieles de *M. beecheii* y *F. nigra*, colectadas en San Marcos, Tenosique, Tabasco, México, 2017. Los resultados representan la media de tres repeticiones  $\pm$  EE., representa diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), ANOVA y una comparación de medias de Tukey.

## DISCUSIÓN

Aunque ambas colmenas se ubican en el mismo lugar geográfico, cada especie mostró predilección por diferentes especies florales. La miel proveniente de *M. beecheii* se clasificó como monofloral, ya que presenta más del 45% de polen de una misma especie, mientras que la miel de *F. nigra* se caracterizó como multifloral o polifloral debido a que tres taxas se presentan con porcentajes  $\geq 10\%$  (Ramírez-Arriaga, Navarro-Calvo & Díaz-Carbajal, 2011). El origen floral de la miel determina, además del sabor y color, otras propiedades como la concentración de proteínas, aminoácidos libres y compuestos fenólicos, lo que a su vez confiere actividad biológica, antimicrobiana y antioxidante (Cimpoi, Hosu, Miclaus & Puscas, 2013).

El contenido de proteínas en la miel es normalmente menor al 0.5%, en su mayoría son enzimas y aminoácidos libres (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010). La concentración de proteínas encontradas en las mieles analizadas fue similar a las encontradas para mieles comerciales de *A. mellifera* que varía de 217-631  $\mu\text{g}$  proteína/g en mieles poliflorales y de 173-692  $\mu\text{g}$  proteína/g para mieles monoflorales (Cimpoi, Hosu, Miclaus & Puscas, 2013). Esta variación entre ambas mieles se debe al origen floral (Pirini, Conte, Francioso & Lercker, 1992). En general las mieles de origen multifloral presentan mayor contenido de proteína; otros factores que pueden influir sobre las propiedades de la miel son el área geográfica en que fue cultivada y el tipo de abeja productora (González, Gómez, Córdón, García-Villanova & Sánchez, 2006).

Además del valor nutricional, las proteínas pueden contribuir a la actividad antioxidante debido a la estructura de sus grupos funcionales (Elías, Kellerby & Decker, 2008). Por otro lado, las proteínas juegan un papel importante, principalmente las de origen catalítico como las enzimas (glucosidasa y catalasa), a las que se les atribuye actividad antimicrobiana relacionada con la producción sostenida de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La miel contiene aminoácidos libres, en especial prolina y bajas concentraciones de ácido glutámico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina (Chua, Lee & Chan, 2015).

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos totales, la miel de *M. beecheii* se mostró por debajo del valor reportado para esta misma especie, proveniente de Yucatán, México, con 63.22 mg de equivalentes de ácido gálico/100 g de miel, de los cuales 3.61 mg son atribuidos al contenido de flavonoides y 3.16 mg/100 g a flavonoles (Ruiz-Ruiz, Matus-Basto, Acereto-Escoffié & Segura-Campos, 2017). Ambas mieles mostraron un contenido de flavonoides de entre 45.42 y 327 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de miel, encontrándose dentro de los intervalos reportados para mieles de *A. mellifera* de origen monofloral (Gül & Pehlivan, 2018) por lo que se infiere que las mieles estudiadas podrían tener efectos biológicos similares. Los principales compuestos fenólicos reportados en la miel son los ácidos vanílico, cafeico, siringico, *p*-cumárico, ferúlico, elágico, 3-hidroxibenzoico, 4-hidroxibenzoico, clorogénico, gálico, benzoico, además de quercetina, kaempferol, miricetina, pinobansquina, pinocembrina, crisina, galangina, ácido rosmárico y hesperetina, entre otros (Trautvetter, Koelling-Speer & Speer, 2009; Álvarez-Suárez *et al.*, 2012). Aunque existen pocos reportes sobre la caracterización de miel de meliponinos, se ha informado sobre la presencia de quercetina, kaempferol, naringenina y luteolina en la miel *M. beecheii*; compuestos que son de importancia biológica, ya que son inductores del sistema antioxidante endógeno (Cauich, Ruiz-Ruiz, Ortiz & Segura, 2015). Con respecto

a la actividad antioxidante, ambas mieles tuvieron mejor capacidad de atrapamiento del radical  $\text{OH}\cdot$  implicado en el estrés oxidativo y relacionado con enfermedades crónico-degenerativas no transmisibles: enfermedades cardíacas, pulmonares, cáncer, Alzheimer y las enfermedades neurodegenerativas en los seres humanos (Varadharaj *et al.*, 2017). Por ello es importante identificar aquellos alimentos que puedan neutralizar estos radicales. Ambas mieles tienen también capacidad de neutralizar al radical  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , identificado en diferentes procesos patológicos y en la muerte celular asociada a la oxidación de DNA, proteínas, lípidos (Patlevič, Janka, Pavol, Ladislav & Pavol, 2016). La quelación de metales por la miel ha sido poco reportada y en este trabajo se evidenció que ambas mieles estudiadas quelan el hierro y el cobre. Que, Linchun & Xiaojie (2007) reportaron que los compuestos fenólicos provenientes de flores tenían capacidad de quelar  $\text{Fe}^{2+}$ , con concentraciones entre 40-160  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de extracto etanólico. Por otro lado, se ha propuesto que los péptidos (fragmentos de proteína de bajo peso molecular) son capaces de quelar cobre (90.6%) y el hierro (51.8%), efecto correlacionado con el contenido de aminoácidos antioxidantes His, Arg, Tyr y Phe (Gallegos-Tintoré, Chel, Corzo-Ríos & Martínez, 2013).

Como se mencionó anteriormente, la miel contiene tanto compuestos fenólicos como proteínas, que podrían conferirle la capacidad de quelar los metales y con ello la función biológica.

## CONCLUSIONES

Cada especie de abeja es atraída por diferentes especies florales, el contenido de compuestos fenólicos y proteínas de la miel se relaciona con la especie de abeja que la produjo y su origen floral. La miel polifloral tiene mayor concentración de compuestos fenólicos y proteínas solubles lo que podría deberse a mayor cantidad y diversidad de polen. La miel de *M. beecheii*, presentó menor concentración de compuestos fenólicos y proteínas solubles; pero mostró actividad antioxidante contra los radicales estudiados, en especial contra el hidroxilo, así como la quelación del ion  $\text{Cu}^{2+}$ .

Este trabajo constituye además un acercamiento a la determinación del potencial funcional de la miel de dos especies de abejas sin aguijón en el estado de Tabasco. Con base en los resultados obtenidos y la prometedora capacidad antioxidante, se sugiere continuar la investigación de las propiedades de estas mieles y de otras especies de abejas sin aguijón, su composición, su perfil de origen floral, sus compuestos fenólicos e identificar otras moléculas que podrían conferir esta actividad, además de hacer pruebas en líneas celulares y/o modelos animales, buscando con esto determinar su potencial como agente quimiopreventivo contra enfermedades crónico degenerativas.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el apoyo a través del Proyecto Cátedras CONACYT 530, al Instituto Politécnico Nacional el financiamiento por medio del Proyecto SIP 20196662 y a los meliponicultores del Municipio de Tenosique, Tabasco, por la donación de las muestras de miel.

## REFERENCIAS

- Aldasoro, M., Arnold, N. & Burguete, C. (2015). Los Meliponinos de Comalcalco, Tabasco una primera aproximación desde el enfoque biocultural. Presentada en: IX Congreso Mesoamericano sobre Abejas Nativas. IX Congreso Mesoamericano sobre Abejas Nativas
- Álvarez-Suárez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Med. J. Nutr. Metab.*, **3**, 15-23. <https://doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6>
- Álvarez-Suárez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Esteves, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. & Battino, M. (2010b). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.*, **48**, 2490-2499. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.021>
- Álvarez-Suárez, J. M., Giampieri, F., González-Paramás, A. M., Damiani, E., Astolfi, P., Martínez-Sánchez, G., Bompadre, S., Quiles, J.L., Santos-Buelga, C. & Battino, M. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food Chem. Toxicol.*, **50**, 1508-1516. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.042>
- Alzahrani, H. A., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, Y. & Bakhotmah, B. A. (2012). Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules.*, (Basel, Switzerland), **17**(9), 10540-10549. <https://doi.org/10.3390/molecules170910540>
- Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Pérez-Álvarez, J. A. & Fernández-López, J. (2010). Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. *CyTA-J. Food.*, **8**, 95-101. <https://doi.org/10.1080/1947633.0903161335>
- Amin, Z., Aina, F., Sabri, S., Mohammad, S. M., Ismail, M., Chan, K. W., Ismail, N., Norhaizn, M. E. & Zawawi, N. (2018). Therapeutic properties of stingless bee honey in comparison with European bee honey. *Adv. Pharmacol. Sci.*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2018/6179596>
- Anthimidou, E. & Mossialos, D. (2013). Antibacterial activity of greek and cypriot honeys against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in comparison to manuka honey. *J. Med. Food.*, **16**, 42-47. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0042>
- Ayala, R., González, V. H., & Engel, M. S. (2013). Mexican stingless bees (*Hymenoptera: Apidae*): diversity, distribution, and indigenous knowledge. In Pot-Honey. New York, NY: Springer New York. 135-152. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4960-79>
- Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P. R. & Čeksterytė, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chem.*, **101**, 502-514. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.02.007>
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *J. Am. Coll. Nutr.*, **27**(6), 677-689. <http://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003697\(76\)905273](https://doi.org/10.1016/0003697(76)905273)
- Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Anal. Biochem.*, **40**, 450-458. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90405-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90405-2)
- Cauich, K. R., Ruiz-Ruiz, J. C., Ortiz, V. E & Segura, M. R. (2015). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. *Nutr. Hosp.*, **2** <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9312>
- Chan, G., Aldasoro, M., Sotelo, L & Vera, G. (2018). Retomando saberes contemporáneos. Un análisis del panorama actual de la meliponicultura en Tabasco. *Estudios de Cultura Maya*, **53**, 289-325.
- Chua, L. S., Lee, J. Y. & Chan, G. F. (2015). Characterization of the proteins in honey. *Let.*, **48**, 697-709. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.952374>
- Cimpoi, C., Hosu, A., Miclaus, V. & Puscas, A. (2013). Determination of the floral origin of some romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochim. Acta, Part A*, **100**, 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.04.008>
- da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira, A.C.O & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.*, **196**, 309-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Elías, R. J., Kellerby, S.S. & Decker, E. A., (2008). Antioxidant activity of proteins and Peptides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **48**, 430-441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>
- Erdtman, G. (1969). Handbook of Palynology - An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores. Munksgaard, Copenhagen. <https://doi.org/10.1002/fedr.19710810815>
- Gallegos-Tintoré, S., Chel, G. L., Corzo-Ríos, L.J. & Martínez A. A.L. (2013). Péptidos con actividad antioxidante de proteínas vegetales. En M. Segura-Campos, L. Chel-Guerrero & D. Betancur Ancona (Eds.), Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias (111-122). Barcelona: Omnia Science. <http://dx.doi.org/10.3926/oms.94>
- González, A. M., Gómez, J. A., Córdón, C., García-Villanova, R. J. & Sánchez, J. (2006). HPLC-fluorometric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey

- and bee pollen). *Food Chem.*, **95**, 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.008>
- Gül, A. & Pehlivan, T. (2018). Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. *Saudi J. Biol. Sci.*, **25**, 1056–1065. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.011>.
- Islam, M. R., Pervin, T., Hossain, H., Saha, B. & Hossain, S. J. (2017). Physicochemical and antioxidant properties of honeys from the Sundarbans Mangrove Forest of Bangladesh. *Prev. Nutr. Food Sci.*, **22**, 335–344. <https://doi.org/10.3746/pnf.2017.22.4.335>
- Jones, R. (2001). Honey and healing through the ages. In: Munn P, Jones R (eds) Honey and healing. International Bee Research Association IBRA, Cardiff, GB. 1-4
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J. Ethnopharmacol.*, **64**, 235–240. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10363838>
- Li, Y., Jiang, B., Zhang, T., Mu, W. & Liu, J. (2008). Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). *Food Chem.*, **106**, 444–450. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.04.067>
- Marklund, S. & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Europ. J. Biochem.*, **47**, 469-474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A. & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.*, **85**, 935–942. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2019>
- Patlevič, P., Janka, V., Pavol, Š., Ladislav, V. & Pavol, Š. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integr. Med. Res.*, **5**, 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.07.004>.
- Pirini, A., Conte, L. S., Francioso, O. & Lercker, G. (1992). Capillary Gas chromatographic determination of free amino acids in honey as a means of discrimination between different botanical sources. *J. High. Resolut. Chromatogr.*, **15**, 165-170. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240150306>
- Que, F., Linchun, M. & Xiaojie, Z. (2007). *In vitro* and *vivo* antioxidant activities of daylily flowers and the involvement of phenolic compounds. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **16**, 196–203. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17392104>.
- Quezada-Euán, J. J. G., de Jesús May-Itzá, W. & González-Acereto, J. A. (2001). Meliponiculture in Mexico: problems and perspective for development. *Bee World*, **82**, 160–167. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2001.11099523>
- Ramírez-Arriaga, E. & Martínez-Hernández, E. (2007). Melitopalynological characterization of *Scaptotrigona mexicana Guérin* (Apidae: Meliponini) and *Apis mellifera* L. (Apidae: Apini) honey samples in northern Puebla State, Mexico. *Journal of the Kansas Entomological Society*, **80**, 377–391. DOI: 10.2317/0022-8567(2007)80[377:MCOSMG]2.0.CO;2
- Ramírez-Arriaga, E., Navarro-Calvo, L. A. & Díaz-Carbajal, E. (2011). Botanical characterization of Mexican honeys from a subtropical region (Oaxaca) based on pollen analysis. *Grana*, **50**, 40–54. <https://doi.org/10.1080/00173134.2010.537767>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231–1237. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10381194>
- Ruiz-Ruiz, J. C., Matus-Basto, A. J., Acereto-Escoffí, P. & Segura-Campos, M. R. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. *Food Agric. Immunol.*, **28(6)**, 1424-1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>.
- Saiga, A., Soichi, T. & Nishimura, T. (2003). Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3661–3667. <https://doi.org/10.1021/JF021156G>
- Silici, S., Sagdic, O. & Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chem.*, **121**, 238–243. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.11.078>
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, **6**, 144-158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Trautvetter, S., Koelling-Speer, I. & Speer, K. (2009). Confirmation of phenolic acids and flavonoids in honeys by UPLC-MS. *Apidologie*, **40**, 140-150. <https://doi.org/10.1051/apido/2008072>
- Udenigwe, C. C., Lu, Y. L., Han, C. H., Hou, W. C. & Aluko, R. E. (2009). Flaxseed protein-derived peptide fractions: Antioxidant properties and inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in murine macrophages. *Food Chem.*, **116**, 277–284. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.02.046>
- Varadharaj, S. Kelly, O. J., Khayat, R. N., Kumar, P. S., Ahmed, N. & Zweier, J.L. (2017). Role of dietary antioxidants in the preservation of vascular function and the modulation of health and disease. *Front. Cardiovasc. Med.*, **4**, 64 <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00064>.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *J. Food Saf.*, **28**, 567–576. <https://doi.org/10.1111/j.17454565.2008.00131.x>
- Zor, T. & Selinger, Z. (1996). Linearization of the Bradford protein assay increases its sensitivity: theoretical and experimental studies. *Anal. Biochem.*, **236**, 302-308. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0171>