

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CONTENIDO DE MICRONUTRIENTES Y CAPACIDAD  
ANTIOXIDANTE EN MIELES DE 4 REGIONES  
FITOGEOGRÁFICAS DEL URUGUAY**

**por**

**Ing. Agr. Arnaldo MORENI REAL**

TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
Magíster en Ciencias Agrarias  
opción Ciencias Animales

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2019**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por la Dra. Karina Antúnez, la Dra. Gabriela Speroni y la Dra. Mónica Cadenazzi, el 20 de diciembre de 2019.

Autor: Ing. Agr. Arnaldo Moreni Real. Directora: Dra. María Cristina Cabrera.

## **AGRADECIMIENTOS**

En este camino he recibido un apoyo constante de mi familia, amigos y compañeros. Es por ello que quiero agradecer profundamente por haberme acompañado en todo momento en esta etapa de la vida y agradecerles a todos por el apoyo y la confianza brindada en la realización de este trabajo.

- A la Dra. Cristina Cabrera, por ser parte de este proyecto y sobre todo por su disposición, por sus aportes académicos y por la confianza recibida en todo momento.

- A la Dra. Laura Astigarraga, Directora del Departamento de Producción Animal y Pasturas por el apoyo permanente a este equipo de trabajo.

- Al Ing. Agr. Pablo Cracco, amigo incondicional, compañero de todas las horas, por el esfuerzo, aportes y disposición para poder llevar adelante este trabajo.

- Al equipo docente del Laboratorio de Calidad de Alimentos, en especial a la Lic. Florencia Pirotti por su colaboración en esta investigación.

- A la Mag. Lic. Estela Santos, por su disposición y aporte en la realización del análisis palinológico de las muestras.

- A la Dra. Mónica Cadenazzi del Dpto. de Biometría, Estadística y Computación por sus valiosos aportes en los análisis estadísticos.

- Al Ing. Agr. Marcelo Ferrando y el equipo del Laboratorio de Fertilidad de Suelos.

- A los amigos y compañeros que compartimos tanto tiempo dentro de la Facultad, en especial al grupo humano de la Unidad de Posgrados y Educación Permanente y de la Fundación Dr. E. Acevedo.

## TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN .....	VI
SUMMARY .....	VII
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. ANTECEDENTES.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. <u>La apicultura y sus comienzos</u>.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.2. <u>Generalidades del sector apícola</u>.....</b>	<b>5</b>
1.1.2.1 Mercado mundial.....	5
1.1.2.2 Mercado nacional.....	6
1.1.3. <u>Miel</u> .....	7
1.1.4. <u>Elementos traza</u> .....	9
1.1.5. <u>Antioxidantes</u> .....	11
1.1.6. <u>Análisis palinológico</u> .....	12
1.2. HIPÓTESIS.....	14
1.3. OBJETIVOS.....	14
1.3.1. <u>General</u> .....	14
1.3.2. <u>Específicos</u> .....	14
<b>2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>.....</b>	<b>15</b>
2.1. SITIO DE MUESTREO.....	15
2.2. MUESTREO DE LAS MIELES.....	18
2.3. DETERMINACIONES EN LAS MIELES.....	19
2.3.1 <u>Análisis palinológico</u> .....	19
2.3.1.1 Preparación de portaobjetos sin acetólisis.....	19
2.3.1.2 Realización del examen microscópico.....	20
2.3.2 <u>Elementos traza</u> .....	20
2.3.3 <u>Polifenoles totales y capacidad antioxidante</u> .....	21
2.3.3.1 Preparación solución de DPPH.....	22

2.3.3.2 Preparación de muestra de mieles.....	23
2.3.3.3 Medida de la capacidad antioxidante mediante DPPH.....	23
2.3.3.4 Curva de calibración con Trolox.....	24
2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y QUIMIOMÉTRICO.....	26
3. <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	27
3.1. ANÁLISIS PALINOLÓGICO.....	27
3.2. ELEMENTOS TRAZA.....	31
3.3. POLIFENOLES TOTALES.....	41
3.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	43
4. <b>CONCLUSIONES</b> .....	46
4.1 PERSPECTIVAS A FUTURO.....	47
5. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	48
6. <b>ANEXOS</b> .....	55
6.1 TRACE ELEMENTS CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HONEY FROM PROTECTED PHYTOGEOGRAPHICALS REGIONS IN URUGUAY.....	55
6.2 PORCENTAJE DE POLEN Y PRESENCIA DE MIELATO EN LAS MIELES DE CADA REGIÓN Y TEMPORADA.....	55
6.2.1 <u>Región Los Cerrillos: Temporada primavera-verano</u> .....	55
6.2.2 <u>Región Los Cerrillos: Temporada verano-otoño</u> .....	56
6.2.3 <u>Región Quebrada de los Cuervos: Temporada verano-otoño</u> .....	56
6.2.4 <u>Región Quebrada de los Cuervos: Temporada primavera-verano</u> .....	57
6.2.5 <u>Región Valle del Lunarejo: Temporada primavera-verano</u> .....	57
6.2.6 <u>Región Valle del Lunarejo: Temporada verano-otoño</u> .....	58
6.2.7 <u>Región Esteros de Farrapos: Temporada primavera-verano</u> .....	59

## RESUMEN

En Uruguay, la producción anual de miel es de 12.000 toneladas en promedio y aproximadamente el 90 a 95 % se exporta. El crecimiento de la miel a nivel comercial mundial ha sido en base a mieles orgánicas y naturales o mieles con propiedades medicinales (Nueva Zelanda). Estos aspectos constituyen una oportunidad para Uruguay, se podría ubicar al país como un origen alternativo de miel orgánica y generar nuevas estrategias de valorización; así como generar una oportunidad de comercializar mieles con características biológicas y de calidad propias debidamente identificadas. Los objetivos de este trabajo son caracterizar las mieles de cuatro regiones geográficas del Uruguay, considerando el efecto estación del año de acuerdo al origen botánico (perfil palinológico) y caracterizar a través del contenido de elementos traza, polifenoles totales y la capacidad antioxidante. De las cuatro regiones estudiadas, tres se encuentran dentro del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, Quebrada de los Cuervos (Q), Valle del Lunarejo (VL) y Esteros de Farrapos (EF). La cuarta región Los Cerrillos (C) es una región asociada a actividades humanas. Para las regiones Q, VL y C se consideró dos temporadas de estudio, primavera-verano (pv) y verano-otoño (vo) mientras que para la región EF se estudió la temporada (pv). Los resultados obtenidos indican que existen diferencias significativas por región y estación para los elementos traza analizados. El contenido de polifenoles totales (CPT) y la capacidad antioxidante (DPPH), fue mayor en las mieles de la región C en la temporada pv. Podría existir una correlación positiva entre ambos parámetros asociado a los elementos traza. El análisis palinológico, mostró que las regiones Q, VL y EF se caracterizaron por ser mieles multiflorales con predominio de Myrtaceae, Asteraceae y Loranthaceae. La región C en la temporada vo se caracterizó por ser una miel monofloral de *Lotus sp.* El origen botánico de las mieles es diferente de acuerdo al sitio geográfico y a la estación del año.

**Palabras clave:** miel, elementos traza, capacidad antioxidante, palinología

## **CONTENT OF MICRONUTRIENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HONEY OF 4 URUGUAY PHYOGOGRAPHIC REGIONS**

### **SUMMARY**

In Uruguay, the annual production of honey is 12.000 tons on average and approximately 90 to 95 % is exported. The growth of honey commercially worldwide has been based on organic and natural honey, or the one with medicinal properties (New Zealand). These aspects constitute an opportunity for Uruguay, which could be seen as an alternative source of organic honey, generating new recovery strategies as well as an opportunity to commercialize honey with its own biological and quality characteristics duly identified. The objectives of this work are to characterize the honeys of four geographical regions of Uruguay, considering the effect of the seasons according to the botanical origin (palynological profile) and also through the content of trace elements, total polyphenols and antioxidant capacity. Three of the four studied regions, Quebrada de los Cuervos (Q), Valle del Lunarejo (VL) and Esteros de Farrapos (EF), are within the National System of Protected Areas. The fourth region, Los Cerrillos (C) is associated with human activities. For the regions Q, VL and C, two study seasons, spring-summer (S-S) and summer-autumn (S-A) were considered, while for the EF region the season (S-S) was studied. The obtained results indicate that there are significant differences depending on the region and season for the trace elements analyzed. The total polyphenol content (TPC) and the antioxidant capacity (DPPH) was higher in honeys in region C in the S-S season. There could be a positive correlation between both parameters associated with the trace elements. The palynological analysis showed that the Q, VL and EF regions were characterized as multifloral honeys with a predominance of Myrtaceae, Asteraceae and Loranthaceae. Region C in season S-A was characterized as a monofloral honey of Lotus sp. The botanical origin of honey is different according to the geographical location and the season of the year.

Keywords: honey, trace elements, antioxidant capacity, palynology

## **1. INTRODUCCIÓN**

En Uruguay, la actividad apícola ha tenido un crecimiento sostenido en las últimas décadas. Actualmente, existen alrededor de 3.000 apicultores que poseen 500.000 colonias. Aunque la mayor concentración de colonias se encuentra en los departamentos del litoral oeste, es una actividad que ha adquirido una importante relevancia en todo el país. Esto genera un ingreso al país de 20 millones de dólares anuales, llegando a picos de hasta 40 millones (año 2011) (Antúnez, 2014).

De acuerdo a la información relevada por el Sistema Nacional de Trazabilidad de la Miel y los Productos Apícolas (SINATPA), el Sector Apícola en Uruguay ha mantenido un nivel de producción anual de miel en el entorno de las 12.000 toneladas en los últimos 5 años (MGAP-DIGEGRA, 2018). Se trata de un sector netamente exportador, en dónde más del 90% de la producción es exportada, comprometiendo, de esta manera, a los operadores apícolas a producir miel acorde a los requerimientos de un mercado nacional e internacional cada vez más exigente (MGAP-DIGEGRA, 2016).

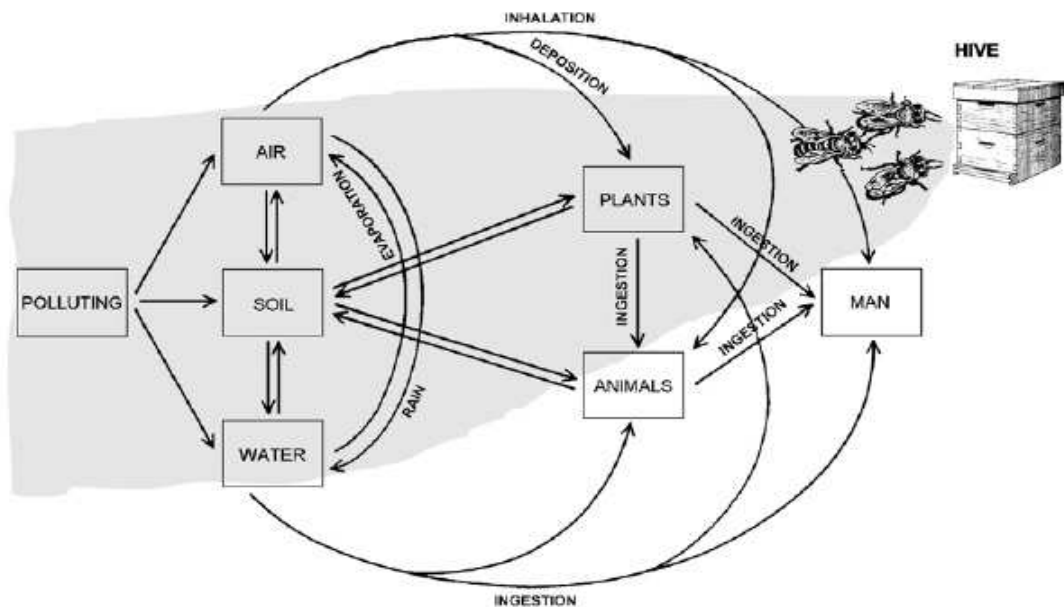
Si bien las mieles nacionales cumplen, en la gran mayoría de los casos, holgadamente con las exigencias internacionales de calidad; lamentablemente la totalidad de la producción se exporta a granel, bastando que cumpla con ciertas condiciones fisicoquímicas y que no supere mínimos de contaminación establecidos. En los últimos años las exportaciones con destino a Alemania, han sufrido algunos reveses, en 2012 se constató la presencia de polen transgénico de soja en la miel y en 2016 aparecieron trazas de glifosato (MGAP-CHDA, 2018).

La intensificación en el uso de la tierra, especialmente el aumento en el área dedicada a los monocultivos y la industrialización, trae como resultado un incremento en el uso de pesticidas, lo que implica un riesgo latente para el sector (Antúnez, 2014).



Las abejas comúnmente se alimentan a menos de 1,5 km de su colmena y excepcionalmente hasta 10 a 12 km, dependiendo de su necesidad de comida y su disponibilidad. Durante la búsqueda de alimento, toman muestras al azar de néctar, polen, mielato, resina, agua, etc. En consecuencia, son potentes muestreadores que se pueden utilizar para detectar sustancias químicas orgánicas o inorgánicas en el ambiente (Devillers, 2002).

Los productos como la miel, también puede ser utilizada como biomarcador para recoger información sobre el medio ambiente, identificar la contaminación ambiental y evaluar el nivel de contaminación del suelo, agua y aire (Machado *et al.*, 2017). La contaminación con agentes tóxicos para los consumidores impactan en la calidad de la miel, por tal motivo la presencia de metales pesados, por ejemplo, en la miel es de interés no solo para el control de calidad, sino que también se pueden usar como un indicador ambiental (Lazor *et al.*, 2012).



**Figura 1.** Difusión de sustancias contaminantes en el medio ambiente. El área gris muestra los sectores ambientales visitados por las abejas melíferas (Lazor *et al.*, 2012).

En en el año 2000 se aprueba en Uruguay la ley 17.234, donde se crea el Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP) de Uruguay, que se ha transformado en una herramienta fundamental para conciliar el cuidado del ambiente, en particular de la diversidad de paisajes, ecosistemas, especies, entre otros (MVOTMA, 2000).

El Estado uruguayo ha venido trabajando en lo que refiere a "marca país", ya que actúa como marco de referencia y como indicador de calidad en los productos y servicios que ofrece, agregando valor al país en su conjunto. La marca país es una potente herramienta para impulsar el comercio exterior. En nuestro país esa marca es Uruguay Natural (Uruguay XXI, 2018).

A nivel mundial, las tendencias actuales de los mercados exigen la obtención de productos alimenticios inocuos, genuinos y cuya producción se ajuste a normas que preserven el medio ambiente. Los gustos y preferencias de los consumidores están orientados hacia productos naturales y sanos que cuenten entre sus propiedades con beneficios para la salud. La miel y otros productos derivados de las abejas melíferas, son un claro ejemplo.

Por tal motivo, es sumamente importante investigar en la caracterización de mieles de las diferentes regiones protegidas del Uruguay, ya que se podría ubicar al país como un origen alternativo de miel orgánica y generar nuevas estrategias de valorización de las mieles de Uruguay.

Para Uruguay, un país con capacidad limitada en volúmenes de exportación, sería la oportunidad futura de comercializar mieles con características biológicas y de calidad propias debidamente identificadas (Corbella *et al.*, 2005).

## 1.1. ANTECEDENTES

### 1.1.1. La apicultura y sus comienzos

Durante muchos años, los pobladores de los diferentes períodos históricos, aprovecharon los productos de las abejas nativas y de las avispas, como la miel, la cera y el propóleo. En las pinturas rupestres del mesolítico presentes en la Cueva de la Araña, (Valencia), se encuentra escenas de la recolección de miel. Existen datos históricos que señalan la existencia de prácticas apícolas en Egipto, trasladando sus colmenas en embarcaciones a lo largo del río Nilo. Hay papiros que datan del año 2400 a. C. donde se puede observar la práctica de la Apicultura. La miel era el único edulcorante que se conocía para todo uso alimenticio y más requerido para hacer las bebidas espirituosas y religiosas. Los productos de la colmena se utilizaban como Medicina Aborigen. Mezclando el agua con miel e hirviéndola, llegaban a un jarabe al que luego le ponían alguna fruta y la hacían fermentar. Esta mezcla producía alcoholes que eran muy requeridos (Cordara, 2005).



**Figura 2.** Representación apícola en la iconografía egipcia.

Las abejas y avispas que se cultivaban en América no eran la abeja melífera que hoy estamos trabajando. En Europa se cultivaban unas abejas más productoras de miel y cera. Se reproducían mucho más rápido con un manejo mucho más sencillo, dando mayor cantidad de miel y de muy buena calidad. El conocimiento de estas ventajas por parte de los nuevos líderes políticos promueve, la introducción de

colmenas rústicas a América a partir de 1700, llegando la primera de esas colonias de abejas a Cuba. En Uruguay, Bernardino Rivadavia trajo dos colmenas con abejas *Apis mellifera* en su viaje a Europa en abril de 1834, asegurando así la introducción en esta parte de América (Cordara, 2005).

### **1.1.2. Generalidades del sector apícola**

#### **1.1.2.1. Mercado mundial**

Al igual que en otros productos pecuarios, el mercado mundial de miel de *Apis mellifera* muestra una importante concentración, tanto a nivel de oferentes como de demandantes y su producción un crecimiento sostenido. De acuerdo con datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) a nivel mundial tradicionalmente cinco países han concentrado 50% del total de la producción de miel, China, Argentina, Turquía, Estados Unidos y Ucrania. El principal continente productor es Asia, seguido de Europa y América (MGAP-CHDA, 2018).

El comercio internacional de “Miel Natural” (NCM 040900) alcanzó en 2016 un volumen total de exportación de 659 mil toneladas por un valor de 2.000 millones de dólares. El principal país exportador de acuerdo al volumen exportado es China, con un 19% de las toneladas mundiales, seguido de Argentina (12%), Ucrania (8%), Vietnam (6%) e India (5%). A nivel de valor exportado los principales exportadores son China (13%), Nueva Zelanda (10%), Argentina (8%), Alemania (7%) y España (5%) (MGAP-CHDA, 2018).

Del análisis de los precios promedio de exportación cabe destacar el caso excepcional de Nueva Zelanda que alcanza un valor promedio de 21.414 dólares por tonelada exportada (producción de miel en base a flores de Manuka). Destacan también Reino Unido con un precio por encima de los 8.000 USD/t, Arabia Saudita y

Australia 7.000 USD/t, y Francia, Alemania, Austria, Portugal y Dinamarca con precios superiores a los 5.000 USD/t (MGAP-CHDA, 2018).

Por su parte, los principales países importadores de Miel en 2016 fueron E.E.U.U. con un 25% del volumen mundial importado, seguido de Alemania, Japón, Francia y Reino Unido. Por lo antes expuesto, se observa que hay países que figuran tanto en el ranking de principales exportadores como en el de importadores, siendo Alemania el caso más representativo. Es decir, son países que no sólo exportan su propia miel, sino que también importan, agregan valor y luego re exportan (otros ejemplos son: España, Bélgica, Francia) (MGAP-CHDA, 2018).

A nivel regional, sobresale Argentina con un 8% de las exportaciones mundiales en valor, seguido por Brasil con un 4%, ambos se encuentran entre los 10 principales exportadores mundiales de Miel (tanto en valor como en volumen). Uruguay y Chile en 2016 estaban dentro del Top25 en valor exportado (Top15 si se toman en cuenta las exportaciones netas e importaciones). (MGAP-CHDA, 2018).

La demanda de miel natural ha aumentado, en consecuencia, los métodos para asegurar la autenticidad de la miel pueden ser económicamente importante (Corbella y Cozzolino, 2008). Varios factores contribuyen a las propiedades de calidad de miel, como alta presión osmótica, menor actividad del agua, bajo pH y bajo contenido de proteína entre otros (Anklam 1998, Bogdanov 1999).

#### **1.1.2.2. Mercado nacional**

Las exportaciones nacionales de miel presentaron un record de exportación en 2011, año en el que se superaron los 42 millones de dólares (14 mil toneladas). En 2016 las exportaciones presentaron una drástica caída interanual del 58%, esto se explica por una caída del 35% del precio de exportación y una disminución del 36% del volumen exportado (MGAP-CHDA, 2018).

En cuanto a los destinos de las exportaciones, en 2017 Estados Unidos representó el 45% de las exportaciones uruguayas de miel, seguido por España con un 20% y Alemania con un 19%. Estados Unidos y Alemania se han alternado en los últimos años como los dos principales destinos de las exportaciones uruguayas de miel. Desde 2005 a 2010 Alemania fue el principal destino. A partir de 2010 Estados Unidos pasa a ser el principal destino, llegando a representar el 97% de las exportaciones de miel en 2012. El quiebre en 2010 se explica por un aumento en los requisitos de calidad para el ingreso al mercado alemán (MGAP-DIEA, 2017).

La mayoría del producto exportado durante el período noviembre 2017 a enero 2018, corresponde a miel de la cosecha 2016-2017. El sector apícola atraviesa una de las peores zafas productivas. Por otra parte, la miel orgánica exportada de Uruguay con destino a EEUU, en el 2017 obtuvo un precio CIF promedio para los meses de marzo, abril, mayo y junio de USD 4,6 por kilo, y un máximo en setiembre de USD 4,8 por kilo. El precio promedio para 2017 fue de USD 4,47 por kilo. En la actualidad se observa un descenso en el precio de la miel a USD 3,9 por kilo, lo que se explica por una gran oferta de miel con certificación orgánica. En particular Brasil posee hoy un muy importante stock de miel orgánica remanente del pasado año y la presente cosecha se presenta bien en la mayoría de los Estados. Por esa razón los exportadores brasileños mantienen a la baja sus precios y no se descarta una caída más pronunciada en los próximos meses por acumulación del producto y necesidades financieras de los apicultores locales (MGAP-CHDA, 2018).

### **1.1.3. Miel**

Se entiende por miel la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje (FAO, 1981).

La fuente de recursos más comúnmente aprovechada en la producción de miel, es el néctar de las flores; sin embargo existen otras fuentes de azúcares igualmente importantes y aceptadas por las abejas, como el mielato (Gamboa, 2014). Se denominan "mielatos" a la mezcla que realizan las abejas de néctar floral con secreciones de algunos insectos chupadores de savia, en diversas concentraciones (Corbella *et al.*, 2002).

La miel es variable en su composición, debido a la contribución de la planta, el clima, las condiciones del medio ambiente y el manejo del apicultor. La diversidad de las propiedades físicas y químicas de la miel (color, sabor, humedad y contenido de proteínas y azúcares) depende del néctar y el polen de la planta original (Corbella *et al.*, 2002).

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente fructosa y glucosa además de otras sustancias como ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas de la recolección (Corbella *et al.*, 2002). Los carbohidratos constituyen el principal componente de la miel. Dentro de los carbohidratos, los principales azúcares son los monosacáridos fructosa y glucosa. Estos azúcares simples representan el 85% de sus sólidos (Del Campo *et al.*, 2015) y son los principales componentes del sabor. Generalmente la miel con un alto contenido de fructosa es más dulce que una miel con una alta concentración de glucosa (Afik *et al.*, 2014).

La miel contiene aproximadamente 0,5% de proteínas, principalmente como enzimas y aminoácidos. Los niveles de aminoácidos en la miel son el reflejo del contenido de nitrógeno, el cual es variable y no supera el 0,04%. En la miel se han encontrado entre 11 y 21 aminoácidos libres (Chua *et al.*, 2015).

La gran dulzura de la miel enmascara en gran parte el sabor de los ácidos orgánicos presentes, los cuales representan aproximadamente el 0,5% de los sólidos de este alimento. Los ácidos orgánicos son los responsables del bajo pH de la miel

(3,5 a 5,5) y de la excelente estabilidad de la misma. Son varios los ácidos orgánicos que están presentes en la miel, aunque el que predomina es el ácido glucónico (Ardawati *et al.*, 2014).

El contenido mineral de la miel es altamente variable, de 0,02 a 1,0%, siendo el potasio cerca de la tercera parte de dicho contenido; la cantidad de potasio excede 10 veces a la de sodio, calcio y magnesio (Chua *et al.*, 2015).

La autenticidad de la miel se valora teniendo en cuenta dos aspectos, uno relacionado a la producción de miel y el otro a la descripción, como origen geográfico y botánico. Para ello, se han utilizado diferentes técnicas para determinar autenticidad de la miel y origen botánico, tales como la determinación de compuestos aromáticos y flavonoides, aminoácidos y azúcares y contenido mineral (Anklam, citado por Corbella y Cozzolino, 2008).

#### **1.1.4. Elementos traza**

Son aquellos minerales que se requieren en mínimas cantidades y son esenciales en el organismo humano y juegan un papel fundamental, pues realizan funciones biológicas de vital importancia para mantener una buena salud y mejorar la calidad de vida de los seres humanos (FAO, 1981). Desde el punto de vista nutricional y dado sus efectos beneficiosos en la salud, conocer los aportes de microminerales provenientes de la miel sería importante. La miel contiene cantidades variables de sustancias minerales que van desde 0,02 a 1,03 g / 100 g (White, 1975).

Los elementos traza son componentes menores de la miel, presentando gran variabilidad en la frecuencia y concentración en cada tipo de miel (Gamboa, 2014). Por ello pueden ser considerados como parámetros complementarios en la denominación de origen (Bogdanov *et al.*, 2007).



La concentración de elementos minerales en la miel deriva principalmente del suelo; estos son transportados a las plantas a través de la raíz, pasan al néctar y por último a la miel mediante el pecoreo realizado por las abejas. Por consiguiente, la composición y el contenido de los macrominerales en miel como sodio, potasio, calcio, magnesio, y de los elementos traza como el hierro, cobre y zinc, entre otros elementos químicos, se ven afectados por la composición del suelo (origen geográfico), la fuente de néctar, la densidad floral y composición del néctar y polen (origen botánico). La evaluación de la concentración de minerales en la miel entonces es útil para la clasificación de la miel según sus orígenes botánico y geográfico (Gamboa, 2014).

Usualmente se encuentra que las mieles oscuras y en particular las mieles de mielato, son más ricas en minerales. El contenido típico en mielatos suele ser mayor al 1%, diferente a las mieles florales con 0,1–0,3% (Lachman *et al.*, 2007).

Algunos valores de microminerales son citados por Persano *et al.* (1995) y Fernández *et al.* (1994) donde mencionan valores de Mn, 0,429-13,8 mg/kg, de Fe, 0,386-13,7 mg/kg, de Cu, 0,228–3,317 mg/kg, y de Zn, 0,669-39,7 mg/kg.

Para mieles multiflorales de Europa, Grujić y Komić (2012) citan valores promedio para Mn de 0,152-0,364 mg/100g, para Fe de 0,426-0,594 mg/100g, para Cu de 0,149-0,586 mg/100g y para Zn de 1,266-1,280 mg/100g. En un mismo año, Insuasty *et al.* (2016) encontraron valores de Mn de 0,05-0,20 mg/100 g, de Fe de 0,05-0,30 mg/100 g, de Cu de 0,02-0,05 mg/100 g, y de Zn de 0,12-0,30 mg/100 g, en diferentes momentos de cosecha. Liberato *et al.* (2013) encontraron valores para Cu de 0,43 mg/kg, para Mn de 0,80 mg/kg, para Zn de 0,56 mg/kg, para Se de 4,31 µg/kg y para Fe de 1,58 mg/kg.

Elementos traza como Se normalmente no son detectables, sin embargo, para mieles de mielato estos elementos pueden llegar a ser cuantificables (Pisani *et al.*, 2008).

### **1.1.5. Antioxidantes**

Numerosos estudios han informado que la mayoría de las enfermedades crónicas tales como el cáncer, la degeneración coronaria y neurológica son una consecuencia del daño oxidativo. También hay evidencias de que el potencial terapéutico de la miel estaría siempre asociado con la capacidad antioxidante contra especies reactivas de oxígeno (Chua *et al.*, 2013).

La miel es bien conocida como un antioxidante dietético natural. Los componentes responsables de las propiedades redox de la miel probablemente sean ácidos fenólicos, flavonoides, vitaminas y enzimas, así como una pequeña cantidad de contenido mineral, particularmente cobre y hierro (Chua *et al.*, 2013).

Muchos autores han demostrado que la miel sirve como fuente natural de antioxidantes y que al ser consumida puede mejorar las defensas contra el estrés oxidativo. Los compuestos fenólicos, como los ácidos aromáticos y los flavonoides presentes en las plantas, son considerados como los causantes del efecto antioxidante y la capacidad antiradicalaria de la miel (Montenegro *et al.*, 2013).

Dentro del grupo de los polifenoles, es probable que los ácidos fenólicos sean el grupo principal en la miel (Chua *et al.*, 2013) ya que junto con los flavonoides son los principales antioxidantes en este producto del apiario (Pontis *et al.*, 2014). También se ha informado que afectan el sabor y la apariencia física de la miel, particularmente el color. El contenido fenólico, el color y la actividad antioxidante han demostrado correlaciones positivas (Chua *et al.*, 2013).

Ferreira *et al.* (2009) y Kaškonienė *et al.* (2009) mostraron que las mieles más oscuras eran más ricas en compuestos fenólicos y tuvieron una mayor actividad antioxidante. A su vez Corbella *et al.* (2005), confirma que las mieles oscuras se destacan ante las mieles claras por su capacidad antibacteriana atribuida al peróxido de hidrógeno y al poder antioxidante de los ácidos fenólicos. Su contenido en

antioxidantes es incrementado por poseer mayor cantidad de pigmentos vegetales, como carotenoides y, fundamentalmente, flavonoides. Esto hace aumentar la atención sobre las mieles oscuras, no sólo en lo relacionado con la salud, sino además como conservante natural no contaminante de alimentos.

En muestras de miel de la región noreste de Brasil, Liberato *et al.* (2011) encontraron contenidos de fenol entre 102,1 a 1085 mg de ácido gálico kg<sup>-1</sup> de miel.

#### **1.1.6. Análisis palinológico**

En la miel, la diversidad floral de las áreas inspeccionadas por las abejas se revela por sus espectros de polen. Las abejas cubren una gran área alrededor de la colmena durante sus actividades y sus productos reflejan estrictamente los rasgos distintivos de estos ambientes. El análisis microscópico proporciona información sobre el origen geográfico y sobre el origen botánico de la miel (Di Marco *et al.*, 2017).

Ocasionalmente, el origen geográfico puede establecerse por la presencia de pólenes característicos que están limitados a una determinada región. Más a menudo, la región en que la miel se produjo puede determinarse a partir de la presencia de ciertas combinaciones de polen (tipos de miel). El espectro de polen de una miel depende de las condiciones florales agrícolas y forestales donde es producida. Las fronteras políticas o administrativas rara vez se asocian con repentinos cambios de estas condiciones, y los datos microscópicos indican la situación geográfica de la procedencia de la miel referida a un área de su país de origen (Di Marco *et al.*, 2017).

El grado en que una muestra de miel determinada se deriva de diferentes fuentes vegetales se deduce de las frecuencias de los pólenes de la miel. En general, se considera que la miel se ha producido principalmente de una especie vegetal (miel unifloral) si el polen de esa especie es predominante (Louveaux *et al.*, 1978). Se define entonces, como miel monofloral a la que tiene al menos 45% del tipo polínico

correspondiente a una especie, con excepción de la miel de citrus que se considera un 18% y la miel de eucalipto que se considera un 75%. Los siguientes términos se usan para las clases de frecuencia, "polen predominante" (más del 45% de los granos de polen contados); "polen secundario" (16-45%); "polen menor importante" (3-15%); "polen menor" (menos del 3%), (Louveaux *et al.*, 1978).

A partir de estos antecedentes y de la importancia de llegar a determinar parámetros que permitan calificar y diferenciar algunas mieles producidas en Uruguay, en esta tesis nos planteamos estudiar la composición en elementos traza y la capacidad antioxidante de mieles producidas en diferentes regiones geográficas y en diferentes momentos del año nos podría permitir calificar las mieles por su origen.

## **1.2. HIPÓTESIS**

El contenido de elementos traza, polifenoles totales, actividad antioxidante y el origen botánico de las mieles, serían diferentes según el sitio fitogeográfico y la estación del año.

## **1.3. OBJETIVOS**

### **1.3.1. General**

Caracterizar por contenido de micronutrientes, capacidad antioxidante y origen botánico las mieles producidas en diferentes regiones fitogeográficas del Uruguay y su variación en dos momentos de cosecha estacional.

### **1.3.2. Específicos**

- Determinar el contenido de micronutrientes, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo, I, en las mieles de cuatro regiones geográficas del Uruguay, de acuerdo al momento de cosecha en dos momentos estacionales.

-Determinar los polifenoles totales y la capacidad antioxidante, en las mieles de cuatro regiones geográficas del Uruguay, de acuerdo al momento de cosecha en dos momentos estacionales.

-Determinar el origen botánico de las mieles, a través del análisis palinológico, de cuatro regiones fitogeográficas del Uruguay, y su variación con el momento estacional de cosecha.

-Determinar el efecto región y momento de cosecha para todas las variables estudiadas.

-Determinar la relación existente entre las variables estudiadas y el origen botánico, para cada región y momento de cosecha.

-Determinar una posible relación entre el origen geográfico y alguna de las variables estudiadas.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. SITIOS DE MUESTREO

La elección del sitio de muestreo se realizó tomando en cuenta que las regiones cubrieran los 4 puntos cardinales del Uruguay y que a su vez 3 de ellas integraran las áreas protegidas del Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Uruguay (SNAP). Las 4 regiones quedaron determinadas de la siguiente manera, Quebrada de los Cuervos (Q), Valle del Lunarejo (VL), Esteros de Farrapos (EF) y Los Cerrillos (C). Esta última asociada a actividades humanas como hortifruticultura y agricultura y más cercana a centros poblados.

Dentro de cada región se ubicaron apicultores que se comprometieron a permitir la extracción de muestras de miel durante las diferentes mieladas a lo largo de 2 temporadas, primavera-verano (pv) y verano-otoño (vo). Cada región fue geo referenciada, y las coordenadas resultantes, se muestran en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Ubicación de las regiones estudiadas

Regiones	Coordenadas
Quebrada de los Cuervos (Q)	S 32 57 943 - W 54 27 273
Valle del Lunarejo (VL)	S 31 08 229 - W 55 58 876
Esteros de Farrapos (EF)	S 32 50 576 - W 58 05 135
Los Cerrillos (C)	S 34 35 911 - W 56 24 712

Para tener una caracterización climática del período analizado, se ubicaron las estaciones meteorológicas más cercanas (Rivera, Treinta y Tres, Fray Bentos y San José) y se solicitó a la Dirección Nacional de Meteorología los datos registrados desde diciembre 2012 hasta diciembre 2013 para temperatura (máxima y mínima), precipitaciones mensuales y días con precipitaciones mayores a 0,1 mm.

Para cada región y cada temporada se tomaron en cuenta los datos meteorológicos de 2 meses anteriores hasta el día de cosecha inclusive. A continuación se presenta los Cuadros 2, 3, 4 y 5 con los datos registrados.

**Cuadro 2.** Caracterización climática de la región Los Cerrillos

	Temporada pv			Temporada vo		
	Oct 2012	Nov 2012	23 de Dic	Ene 2013	Feb 2013	13 Mar
<b>T<sub>máx</sub> °C</b>	22,8	27,7	31,1	30,5	34,7	34,4
<b>T<sub>min</sub> °C</b>	12,5	14,3	16,9	16,5	9,1	8,1
<b>PP mm</b>	276,2	48,8	213,3	47,8	100,2	13
<b>Días pp (*)</b>	18	5	7	4	6	1

(\*) pp=Días con precipitación o Días con lluvias > a 0,1 mm

**Cuadro 3.** Caracterización climática de la región Quebrada de los Cuervos

	Temporada pv			Temporada vo		
	Dic 2012	Ene 2013	18 Feb	Mar 2013	Abr 2013	15 May
<b>T<sub>máx</sub> °C</b>	36,6	36,1	33,2	31,4	28	26,8
<b>T<sub>min</sub> °C</b>	14,4	10,1	11,2	5,4	6	2,1
<b>PP mm</b>	232,5	84,1	139,6	77,1	51	74,3
<b>Días pp (*)</b>	9	6	7	5	6	8

(\*) pp= Días con precipitación o Días con lluvias > a 0,1 mm

**Cuadro 4.** Caracterización climática de la región Valle del Lunarejo

	Temporada pv			Temporada vo		
	Dic 2012	Ene 2013	19 Feb	Oct 2013	Nov 2013	15 Dic
<b>T<sub>máx</sub> °C</b>	30	28,6	32,9	30,8	31,2	35
<b>T<sub>min</sub> °C</b>	18,5	17,4	8,8	5,2	10,6	11,2
<b>PP mm</b>	215,2	104,2	86,1	253,8	135,4	6
<b>Días pp (*)</b>	15	8	8	9	7	2

(\*) pp= Días con precipitación o Días con lluvias > a 0,1 mm

**Cuadro 5.** Caracterización climática de la región Esteros de Farrapos

	Temporada pv		
	Oct 2013	Nov 2013	22 Dic
<b>T<sub>máx</sub> °C</b>	31,9	31,8	36,5
<b>T<sub>min</sub> °C</b>	5,1	10,1	15,2
<b>PP mm</b>	149,7	79,3	59,4
<b>Días pp (*)</b>	15	9	2

(\*) pp=Días con precipitación o Días con lluvias > a 0,1 mm

Se identificó las Unidades de Suelo y Grupos Coneat donde se encuentran las regiones, y se realizó una descripción visual de la vegetación existente. La información obtenida se presenta en el siguiente cuadro.

**Cuadro 6.** Unidades de Suelos y Grupos Coneat de las regiones

Regiones	Unidades de Suelos	Grupos Coneat
Quebrada de los Cuervos (Q)	Sierra Aigua Sieras de Polanco	2.12, 2.11a, 2.11b
Valle del Lunarejo (VL)	Masoller Tacuarembó	1.24, 1.10
Esteros de Farrapos (EF)	Bañados de Farrapos Tres Bocas Isla del Uruguay Fray Bentos	03.10, 03.11, 03.52, 07.1
Los Cerrillos (C)	Tala Rodriguez Ecilda Paullier - Libertad	10.8b, 10.11, 11.9, 10.6b

La región Q se caracteriza por la presencia de praderas de uso pastoril con predominancia de gramíneas y malezas asociadas, en la zonas más bajas y montes serranos de alta densidad observándose también forestación con eucaliptus.

En la región VL la vegetación que predomina es praderas invernales dado fundamentalmente por la poca profundidad de los suelos, con predominancia de gramíneas y compuestas. En las zonas más bajas asociadas a los valles, se pueden encontrar árboles y arbustos nativos.



Sobre la región EF, se encuentra vegetación de bañados, con presencia de especies halófitas, comunidades hidrófilas en zonas inundables. Se destaca la presencia de montes nativos asociados a cursos de aguas y también forestación con eucaliptus. En zonas más bajas no inundables se encuentra campo natural y praderas artificiales para ganadería de carne y agricultura (soja).

La región C se caracteriza por presentar praderas artificiales para actividades ganaderas (carne y leche), y actividades hortícolas y frutícolas. También se puede observar campo natural muy enmalezado en los bajos. Se destaca la presencia de montes de Eucaliptus de abrigo y sobre el principal curso de agua (Río Santa Lucía), se encuentran montes ribereños con presencia de especies introducidas.

## **2.2. MUESTREO DE LAS MIELES**

Dos meses antes a la realización del muestreo, se realizó una visita a cada región donde se colocaron en cada colmena, cuadros de cera nuevos, sin estirar, con el fin de asegurar que la obtención de las muestras de miel fueran exactamente de la temporada en estudio.

Las muestras se obtuvieron cortando dos trozos de panal de aproximadamente 3 cm de ancho por 5 cm de largo que estuvieran 100 % operculados de ambos lados para cada colmena. El objetivo del muestreo fue recoger muestras representativas de 10 colmenas por región (Q, VL, EF, C) y por temporada (pv y vo). Las muestras se introdujeron en frascos estériles y se colocaron en una conservadora para ser transportadas hasta el laboratorio y guardadas en freezer hasta su procesamiento. Dada la baja producción en la región Q, no se alcanzaron las 10 muestras, obteniéndose 7 y 9 muestras por temporada. El total de muestras obtenidas fueron un total de 66 (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Número de muestras y fechas de muestreo por región y temporadas

<b>Regiones</b>	<b>temporada</b>	<b>No. colmenas</b>	<b>temporada</b>	<b>No. colmenas</b>
Q	18/02/2013 pv	9	16/05/2013 vo	7
VL	19/02/2013 vo	10	15/12/2013 pv	10
EF	(*)	(*)	22/12/2013 pv	10
C	23/12/2012 pv	10	13/03/2013 vo	10
<b>No. total de muestras</b>		<b>29</b>	<b>37</b>	<b>66</b>

(\*) Se realizó solamente una cosecha debido a que el año anterior no hubo miel por razones climáticas.

## **2.3. DETERMINACIONES EN LAS MIELES**

### **2.3.1 Análisis Palinológico**

De cada una de las muestras se realizó un análisis cuantitativo de granos de polen en miel, con microscopio de 400 aumentos, después del proceso de melisopalinología sin acetólisis, comparando con colección de referencia (Louveaux *et al.*, 1978).

#### **2.3.1.1 Preparación de portaobjetos sin acetólisis**

Se pesaron 10,0 g de miel y se disolvieron en 20 ml de agua caliente no superior a 40 °C. Luego se centrifugó la solución durante 10 minutos (aproximadamente 2500 rpm) y se eliminó el sobrenadante. Se procedió a realizar un lavado posterior con agua destilada, resuspendiendo el material y centrifugando por 10 min (a 2500 rpm). Luego se volvió a eliminar el sobrenadante dejando una gota suspendida en el fondo y se tomó el material asentado con ayuda de micropipeta (luego de resuspender con la misma). Una gota del material colectado se colocó en un portaobjetos sobre un área de unos 20 mm x 20 mm, se cubrió con cubreobjetos y se observó al microscopio.

### **2.3.1.2 Realización del examen microscópico**

La determinación del origen botánico se basó en la identificación ocular a 400 aumentos y se hizo recuento de granos de polen por cada tipo polínico y otras partículas en la miel, comparando con colección de referencia (Palinoteca de Facultad de Ciencias, Universidad de la República). Para establecer los porcentajes se contabilizaron 600 granos de polen en muestras monoflorales y 1200 para muestras con diversidad de especies presente. Los resultados se expresan en porcentaje.

### **2.3.2. Elementos traza**

La preparación de las muestras de miel se realizó según Cabrera *et al.* (2010). Un gramo de miel se llevó a disolución ácida, con HNO<sub>3</sub> ultrapuro (1M, 65% Merck, p.p.a, destilado por sub ebullición) y HCl (6M, Merck, ACS p.p.a.) en Erlen con dispositivo de trampa de vapor, en plancha caliente durante una hora, y luego es llevado a volumen (10 ml) con H<sub>2</sub>O destilada, menor a 18 MΩ-cm de resistividad, en matraz aforado. Se cuantificó el contenido de Hierro (Fe), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Manganeso (Mn), y Molibdeno (Mo) en la miel, con Espectrómetro de Absorción Atómica (Perkin Elmer, AAnalyst 300, USA) equipado con lámpara de deuterium como corrector de background, con llama (aire-acetileno; 8,0 l/min y 1,4 l/min) para Fe, Zn, Cu, Mn y horno de grafito (HG-800, Perkin Elmer, USA) y autosampler (AS 800, Perkin Elmer, USA) para Mo. Se usaron estándares adecuados a cada analito. Soluciones estándares de mono elemento de Fe, Zn, Cu, Mn, y Mo conteniendo 1000 mg/l (Perkin Elmer o Fluka) y diluidas con H<sub>2</sub>O desionizada conteniendo 2,5% HNO<sub>3</sub> ultrapuro, de acuerdo a los valores esperados de cada analito en la muestra de miel, fueron usadas. Para Fe se usó Cl<sub>2</sub>Ca, p.p.a. para eliminar interferencias y para Se, se usó un modificador químico de matriz a base de Paladio (500 µg/ml) y NO<sub>3</sub>Mg para evitar interferencias con la matriz. Las mediciones se realizaron en el Laboratorio de Fisiología y Nutrición de la Facultad de Ciencias y en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

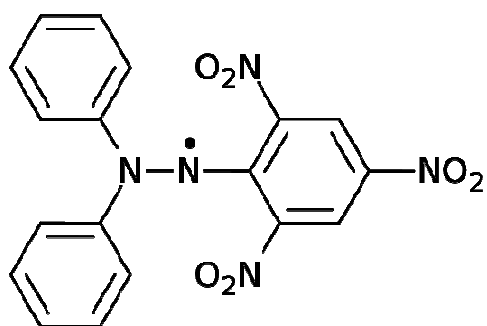
El contenido de Yodo (I) se determinó como Yoduro con Cromatografía Iónica y estándar adecuado.

### **2.3.3. Polifenoles totales y capacidad antioxidante**

Se determinó el contenido fenólico total (TPC) de miel mediante el uso de reactivo Folin-Ciocalteu, basado en la transferencia de electrones (ET) y proporciona una capacidad de reducción, que normalmente se ha expresado como contenido fenólico, de acuerdo al método descrito por Singleton *et al.* (1998).

No existe un método oficial para la determinación de la actividad antioxidante en miel (Chua *et al.*, 2013). Los ensayos antioxidantes comúnmente utilizados incluyen DPPH (actividad de eliminación de radicales libres), FRAP (potencia antioxidante / reductora de férricos), blanqueo de  $\beta$ -caroteno, ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno), contenido de antioxidantes de ácido ascórbico (AEAC) y actividad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC).

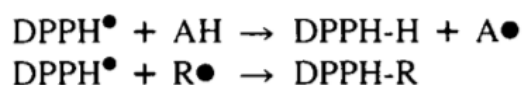
La actividad antioxidante se determinó por actividad de eliminación de radicales libres (DPPH).



**2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)**

DPPH es la abreviación para el compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. En solución, forma radicales libres estables, estos se pueden obtener disolviendo el

reactivo en un medio orgánico (como por ejemplo metanol) y posee un color violeta intenso. En su forma de radical libre el DPPH• absorbe entre 515 - 525 nm. La determinación de la capacidad antioxidante de una muestra puede ser determinada mediante el reactivo DPPH monitoreando su reducción espectrofotométricamente. La adición de grupos antioxidantes (AH), presentes en la muestra a analizar, pueden enmascarar este radical, reduciéndolo.



A continuación se detalla el protocolo utilizado para analizar muestras de mieles en tubos (volumen final 2 mL).

### **2.3.3.1 Preparación solución de DPPH:**

Se preparó una solución de DPPH de 60 µM, para ello se siguieron los pasos siguientes:

1. Pesar 0,0024 g de reactivo DPPH.
2. Agregar 100 mL de metanol.
3. Dejar estabilizar unos minutos y verificar la absorbancia a 520 nm\*, esta debe estar entre 0,7-0,8 para poder ser utilizada. Corregir con agregado de metanol o reactivo DPPH (siempre dejando estabilizar la solución luego de cada agregado).
4. La solución DPPH puede ser almacenada en freezer (-20°C) por aproximadamente 1 semana, siempre antes de ser utilizada se debe verificar la absorbancia de la misma.

\*La longitud de onda ( $\lambda$ ) de trabajo puede ser 515, 517, 520, 525 nm, dependiendo del espectro en cual se trabaje.

### 2.3.3.2 Preparación de muestra de mieles:

Se preparó una solución de miel entre 20-40 mg/ml (la concentración dependió de cada muestra), para ello se siguió el siguiente protocolo:

1. Pesar más de 0,04 g de muestra.
2. Agregar 1 ml de metanol, resuspender y homogeneizar la muestra por completo cuidadosamente.
3. Calcular la concentración en mg/ml de solución obtenida (dividir los gramos pesados sobre el volumen agregado).
4. Realizar una dilución con metanol hasta obtener la concentración deseada, entre 20-40 mg/ml (dependiendo de la muestra) en un volumen final de 1mL\*.

\*Si la muestra no se va a medir en el día, almacenar en freezer (-20°C) hasta su uso. Antes de ser utilizada debe ser resuspendida y homogenizada nuevamente.

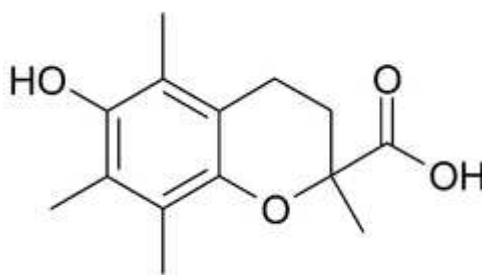
### 2.3.3.3 Medida de la capacidad antioxidante mediante DPPH:

1. Antes de comenzar las medidas, la absorbancia de la solución de DPPH debe poseer una absorbancia a 520 nm entre 0,7-0,8.
2. Registrar la absorbancia inicial de la solución DPPH.
3. Colocar 1,5 mL de solución DPPH en un tubo.
4. Agregar 0,75 mL de muestra de miel (20-40 mg/mL).
5. Homogenizar por inversión, tapar de la luz e incubar 15 minutos.
6. Pasado el tiempo de incubación, registrar la absorbancia de la muestra.
7. Calcular el % de inhibición (**ecuación 1**), este debe ser entre 20-80%, si no se obtiene un % de inhibición en este rango, la dilución de la muestra de miel debe ser ajustada.
- 8.

$$\text{Ecuación (1) - \% Inhibición} = \frac{(\text{Abs inicial DPPH} - \text{Abs muestra})}{\text{Abs inicial DPPH}} \times 100$$

### 2.3.3.4 Curva de calibración con Trolox:

La capacidad de reducir el radical DPPH por parte de la muestra puede ser expresada de diversas formas, una de ellas es a través de equivalente de Trolox (TE). Para ello, se realiza una curva de calibración estándar utilizando el reactivo Trolox en un rango de concentraciones conocidas.



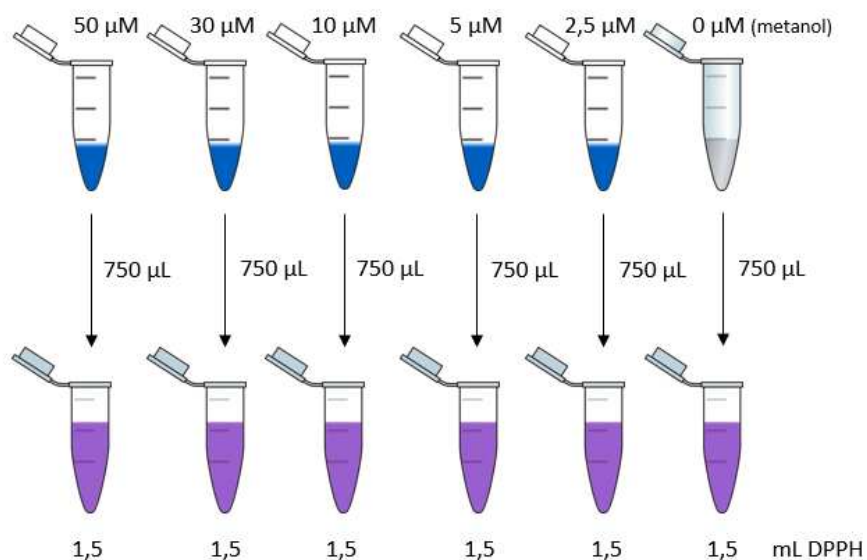
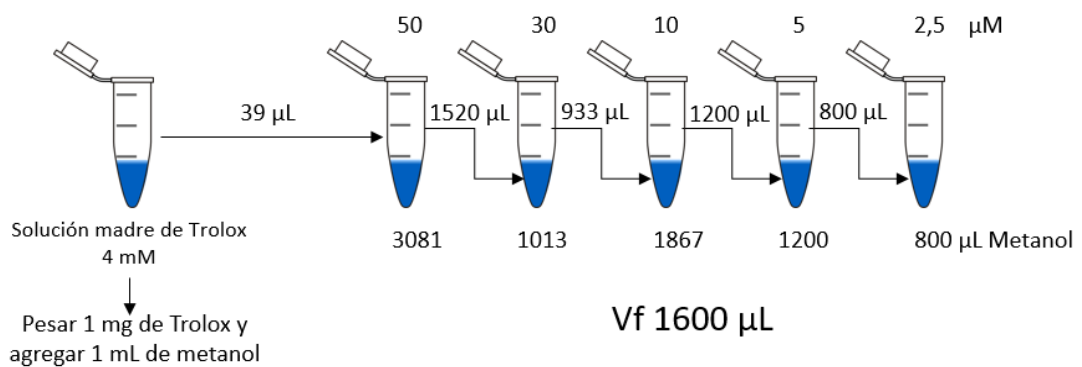
Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) es un análogo de la vitamina E. Este antioxidante es utilizado en aplicaciones biológicas o bioquímicas para determinar la capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC). Ésta es una medida del poder antioxidante basado en Trolox, la determinación de la capacidad antioxidante de una muestra puede ser expresado por ejemplo en  $\mu\text{moles TE}/100 \text{ g}$ .

Para determinar la TEAC de una muestra se realizó una curva de calibración (0-6  $\mu\text{M}$ ), con el siguiente protocolo:

1. Determinar cuáles concentraciones se desean incluir en la curva, al menos deben ser 5 concentraciones de Trolox conocidas.
2. Realizar diluciones seriadas de las concentraciones de Trolox deseadas. El volumen final de cada una debe ser el suficiente para realizar la curva al menos por duplicado.
3. Realizar el mismo procedimiento de lectura de absorbancia que para las muestras. Incubar  $750 \mu\text{L}$  de cada concentración de la curva con  $1,5 \text{ mL}$  de solución DPPH tapado de la luz por 15 min. Pasado el tiempo de incubación registrar la absorbancia a  $520 \text{ nm}$ .
4. Calcular los  $\mu\text{moles}$  de Trolox de cada concentración y el porcentaje de inhibición obtenido para cada una de ellas (utilizando la ecuación 1).

5. Graficar los  $\mu$ moles de Trolox en función del porcentaje de inhibición y obtener la ecuación de la recta del gráfico.
6. Tomar los porcentajes de inhibición obtenido para las muestras de mieles y sustituirlos en la ecuación obtenida anteriormente, de esta manera se obtendrán los  $\mu$ moles de Trolox Equivalente de cada muestra.
7. Para comparar los datos, calcular los mg de muestra de miel utilizados en la lectura y dividir los  $\mu$ moles de Trolox Equivalente de cada muestra sobre estos mg.

Ejemplo:



\*Es importante que la absorbancia de las muestras de miel medidas se encuentren dentro del rango de absorbancias determinadas en la curva de calibración. Si la



absorbancia de las muestras no se encuentra en el rango de absorbancias de la curva, ésta no podrá ser utilizada para intrapolar los resultados de las mismas en la recta de la curva y por lo tanto, determinar la TEAC. Los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Calidad de Alimento y Calidad de Producto, de la Facultad de Agronomía.

## **2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y QUIMIOMÉTRICO**

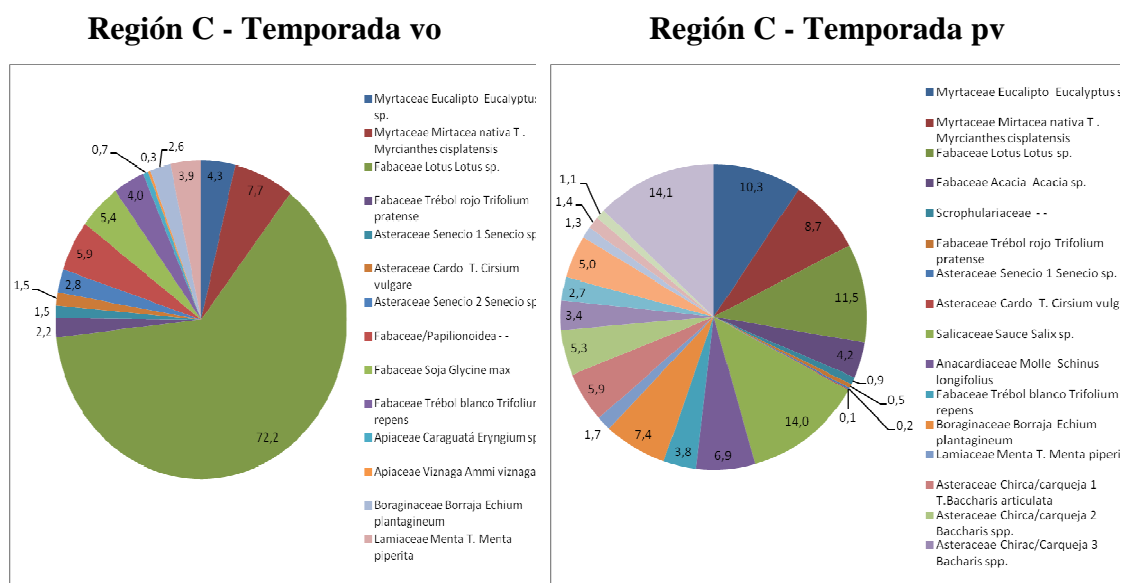
De cada región y cada temporada se obtuvo un dato por colmena, para todos los parámetros evaluados. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través del programa NCSS (2012). Para cada parámetro establecido los resultados se expresan como media  $\pm$  error estándar de la media (EEM). Se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM, y se compararon los resultados mediante el test de Tukey con un valor  $p < 0.05$ .

Una vez obtenidos todos los resultados, se aplicó un método quimiométrico, como análisis exploratorio de datos, para agrupar minerales en las diferentes mieles, por HPA y PCA. Estos dos tipos de técnicas quimiométricas, análisis jerárquico de cluster (HCA) y análisis de componentes principales (PCA) se realizó para explorar las relaciones que puedan haber entre variables y muestras. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ANÁLISIS PALINOLÓGICO

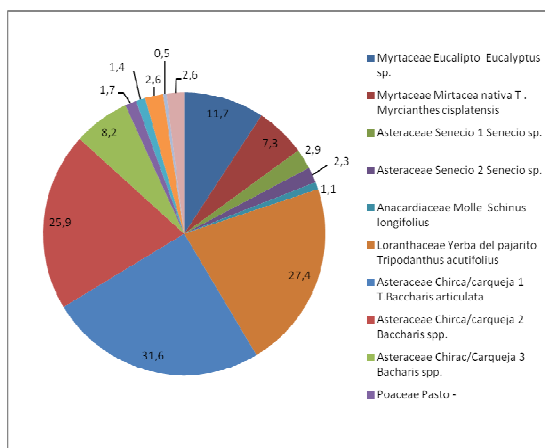
Los resultados obtenidos a partir del análisis palinológico se muestran en las siguientes figuras donde se compara cada región por temporada. Los valores se expresan en porcentaje de acuerdo al contenido polínico en las muestras de miel.



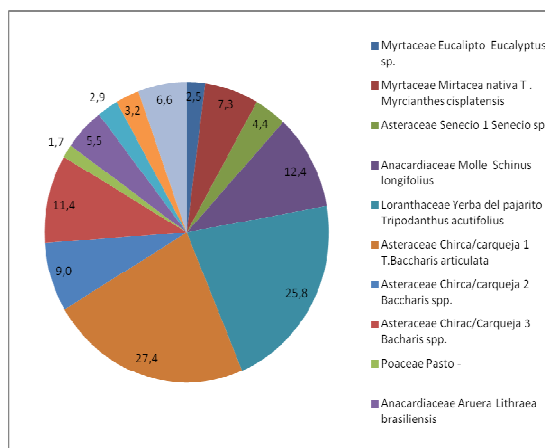
**Figura 3.** Análisis palinológico para la región C (Los Cerrillos) en 2 temporadas (vo y pv). Los valores representan el porcentaje de contenido polínico. (n=10-10)

Los resultados obtenidos indican que la región C en la temporada vo se caracterizó por mieles monoflorales de *Lotus sp.* (72%), observándose un total de 14 tipos polínicos. En la temporada pv las mieles fueron multiflorales, presentando 24 tipos de pólenes. Se destaca la presencia de polen de *Xylosma tweedianum* (14,1%), *Salix sp.* (14%), *Lotus sp.* (11,5%) y *Eucalyptus sp.* (10,3%) como valores máximos.

### Región Q - Temporada vo



### Región Q - Temporada pv



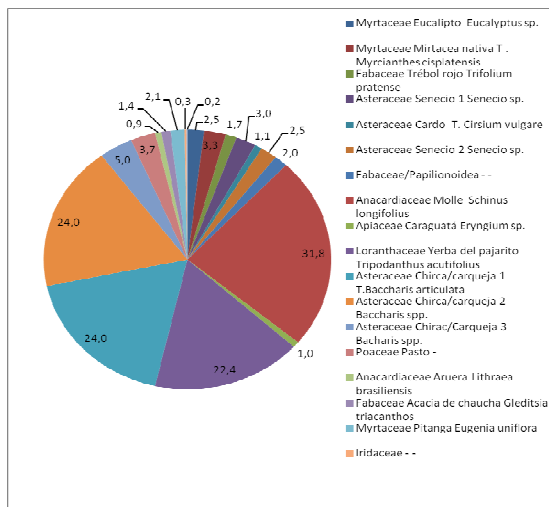
**Figura 4.** Análisis palinológico para la región Q (Quebrada de los Cuervos) en 2 temporadas (pv y vo). Los valores representan el porcentaje de contenido polínico. (n=7-9)

En mieles de la región Q en la temporada vo se encontraron 14 tipos de pólenes y en la temporada pv 13 tipos de pólenes. Ambas temporadas se caracterizaron por mieles multiflorales considerando el criterio de clasificación descrito anteriormente (mieles monoflorales al menos el 45% de un tipo polínico). Sin embargo se puede considerar que en ambas temporadas se obtuvo mieles monoflorales para especies nativas como *Baccharis articulata* (27,4%-31,6%), *Baccharis spp.* (25,9%), *Tripodanthus acutifolius* (25,8%-27,4%) debido a que no hay reportes en esta clasificación para este tipo de especies. En ambas temporadas, el origen botánico fue similar pero se destaca la presencia de *Senecio sp.* en la temporada vo. Así mismo en la temporada pv se observó un mayor porcentaje de *Schinus longifolius* (12,4%) respecto a la temporada vo (1,1%).

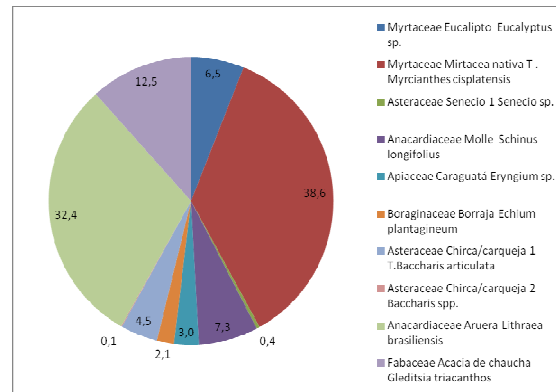
En mieles de la región Q en la temporada vo se encontró polen de *T. Baccharis articulata* (31,6%), *Tripodanthus acutifolius* (27,4%), *Baccharis spp.* (25,9%) y *Eucalyptus sp.* (11,7%).

En la temporada pv también se encontró polen de *T. Baccharis articulata* (27,4%), seguido de *Tripodanthus acutifolius* (25,8%) y *Schinus longifolius* (12,4%) y *Baccharis spp.* (11,4%).

### Región VL - Temporada vo



### Región VL - Temporada pv

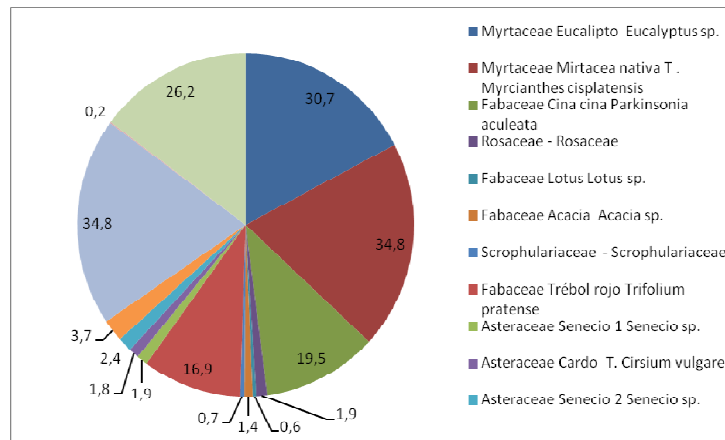


**Figura 5.** Análisis palinológico para la región VL (Valle del Lunarejo) en 2 temporadas (pv y vo). Los valores representan el porcentaje de contenido polínico. (n=10-10).

Las mieles de la región VL se caracterizaron por ser mieles multiflorales en ambas temporadas pero al igual que en la región Q se puede considerar que en ambas temporadas se obtuvo mieles monoflorales debido a que no hay reportes en esta clasificación para este tipo de especies. Se encontraron diferencias entre ambas de acuerdo al contenido polínico de las mieles. En la temporada vo se detectaron 19 tipos de pólenes mientras que en la temporada pv se detectaron 10.

En la temporada vo las especies encontradas en mayor porcentaje fueron *Schinus longifolius* (31,8%), *Baccharis articulata* (24%), *Baccharis spp.* (24%), *Tripodanthus acutifolius* (22,4%). Mientras que en la temporada pv las mieles estaban constituidas por pólenes de *Myrcianthes cisplatensis* (38,6%), *Lithraea brasiliensis* (32,4%), *Gleditsia triacanthos* (12,5%).

### Región EF - Temporada pv



**Figura 6.** Análisis palinológico para la región EF (Esteros de Farrapos) en la temporada primavera-verano (pv). Los valores representan el porcentaje de contenido polínico. (n=10).

Las mieles de la región EF también se caracterizaron por ser mieles multiflorales pero al igual que en la región Q y VL se puede considerar que mieles de origen monoflorales debido a que no hay reportes en esta clasificación para este tipo de especies, encontrándose pólenes de *Myrcianthes cisplatensis* (34,8%), *Salix sp.* (34,8%), *Eucalyptus sp.* (30,7%), *Schinus longifolius* (26,2%), *Parkinsonia aculeata* (19,5%), *Trifolium pratense* (16,9%). Se observó un total de 15 tipos de pólenes.

A través del análisis palinológico de las mieles, se pudo observar que hay regiones (Q) que presentan similitudes en el origen botánico en ambas temporadas, mientras que para la región C, existe una diferencia en el origen botánico dado fundamentalmente por la presencia de cultivos y praderas mejoradas con presencia de especies introducidas donde el período de floración es más corto.

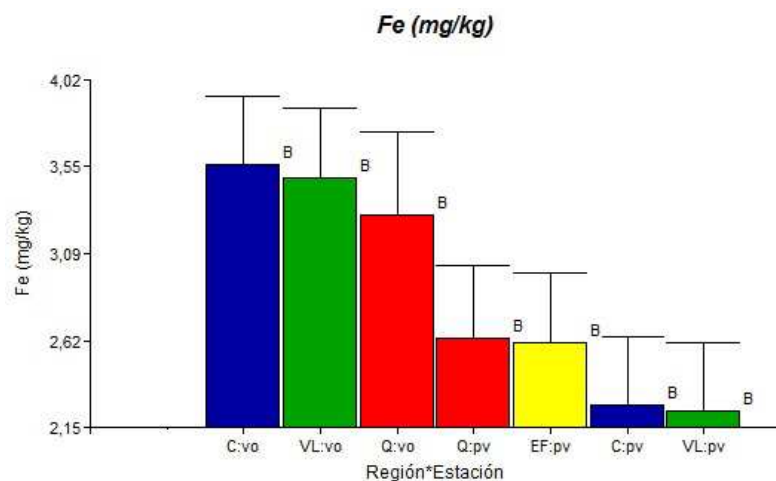
Así mismo se destaca que algunas especies, género o familia botánica solamente se encontraron en alguna región particular. En mieles de la región C se encontró *Glycine max*, *Scutia buxifolia*, *Ammi viznaga*, *Trifolium repens*, *Xylosoma twedianum*, *Oxalis sp.*, *Discaria americana* y *Raphanus sativus*. En mieles de la región Q se destaca la presencia de *Lonicera japonica*. Las mieles de la región VL

presentaron *Manihot grahammi* y especies de Iridaceae en su contenido polínico. En mieles de la región EF se destaca la presencia de *Parkinsonia aculeata* y Rosaceae.

Las regiones Q y VL compartieron especies polínicas como *Tripodanthus acutifolius*, *Lithraea brasiliensis* y *Eugenia uniflora*.

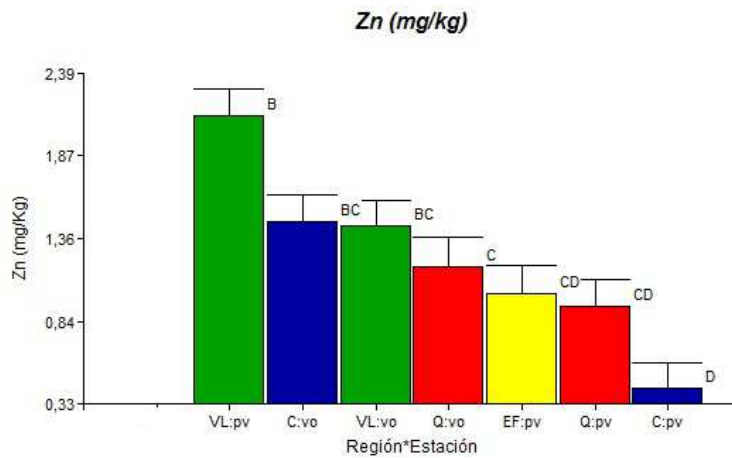
### 3.2. ELEMENTOS TRAZA

A continuación se presentan los resultados obtenidos en las diferentes mieles de acuerdo a cada región y temporada para los diferentes elementos traza estudiados. Para Fe, no se encontraron diferencias significativas entre regiones por temporada. Los valores encontrados varían entre 2,24 y 3,56 mg/kg (Figura 7).



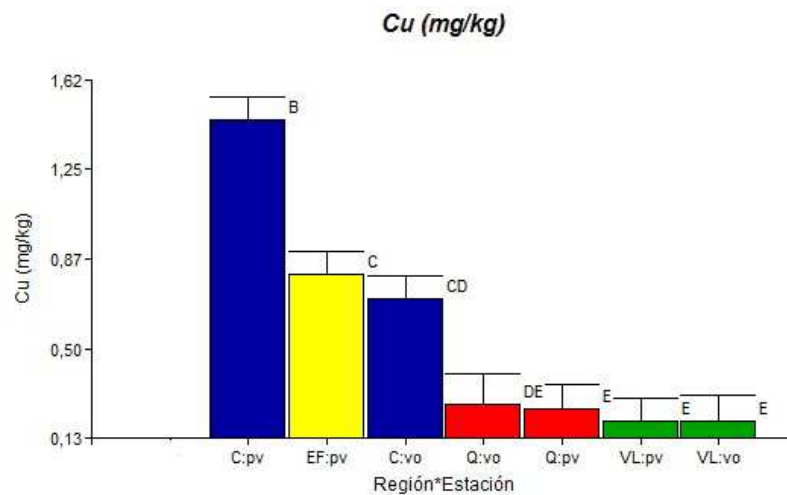
**Figura 7.** Contenido de Fe (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

El contenido de Zinc en las mieles (Figura 8) de VL para la temporada pv fueron mayores (2,12 mg/kg) respecto a Q en la temporada vo (1,19 mg/kg) y pv (0,94 mg/kg), respecto a EF (1,02 mg/kg) y C para la temporada pv (0,42 mg/kg).



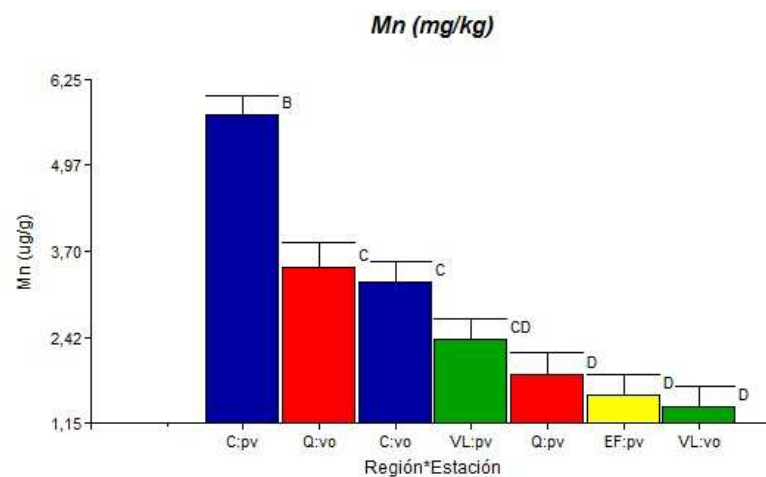
**Figura 8.** Contenido de Zn (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

Los valores más altos de Cu se obtuvieron en las mieles de la región C en la temporada pv (1,45 mg/kg). Se encontraron diferencias significativas entre las mieles de esta región y las demás en ambas temporadas (Figura 9;  $p < 0,05$ ).



**Figura 9.** Contenido de Cu (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

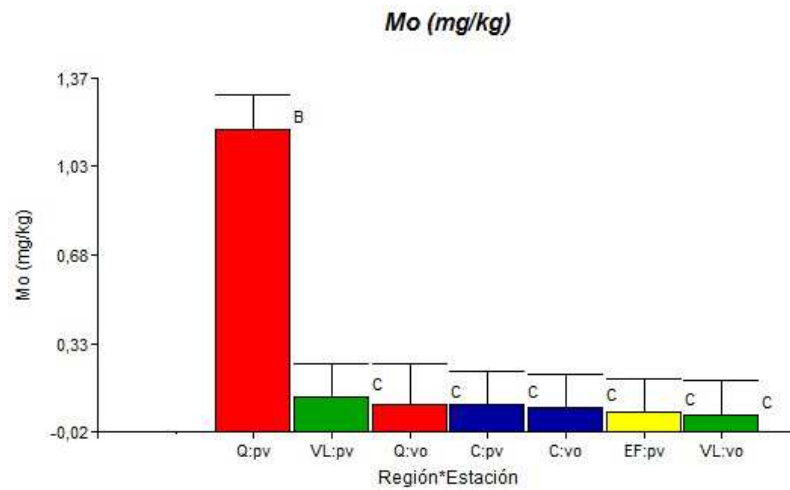
Las mieles de las regiones Q y VL no mostraron diferencias significativas en ningunas de las temporadas estudiadas y los valores de Cu fueron los más bajos comparando con EF y C.



**Figura 10.** Contenido de Mn (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

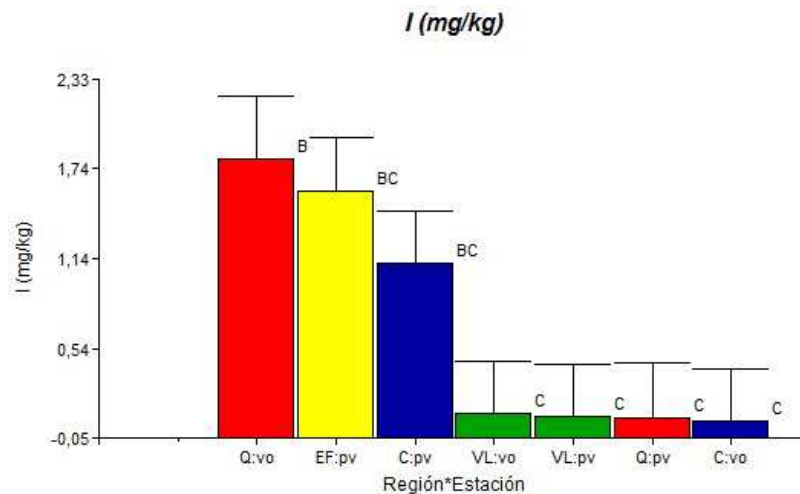
Al igual que Cu, el contenido de Mn (Figura 10) de las mieles de la región C en pv fue mayor (5,71 mg/kg) respecto a las demás regiones por temporada. Los valores más bajos se observaron en las regiones VL en la temporada vo (1,38 mg/kg), en la región EF temporada pv (1,57 mg/kg) y la región Q en la temporada pv (1,87 mg/kg).





**Figura 11.** Contenido de Mo (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

Para Mo, los valores más altos fueron encontrados en la región Q para la temporada pv (1,17 mg/kg). siendo diferente significativamente respecto a las demás regiones y temporadas (Figura 11;  $p < 0.05$ ).



**Figura 12.** Contenido de I (mg/kg) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

Los valores de I (Figura 12) encontrados en las mieles de la región Q en la temporada vo fueron más altos (1,81 mg/kg) y diferentes significativamente comparados con las regiones VL en ambas temporadas (0,09-0,11 mg/kg), Q en la temporada pv (0,08 mg/kg) y la región C en la temporada vo (0,06 mg/kg).

Para analizar las diferentes regiones y las temporadas estudiadas, a continuación se presenta un cuadro resumen (Cuadro 8) con los valores obtenidos para los diferentes elementos traza analizados.

Se observaron diferencias significativas para Cu, I, Mo, Mn, y Zn ( $p < 0,05$ ). Mientras que para Fe no se observó diferencias significativas entre regiones, pero si se observó diferencias significativas entre temporadas.

**Cuadro 8.** Promedios del contenido de Cu, Fe, I, Mo, Mn y Zn en las mieles de cada región (C, Q, EF, VL) y temporada de cosecha (pv, vo).

Región	Elementos traza					
	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	I (mg/kg)	Mo (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)
C	1,08 ± 0,49 a	2,92 ± 1,45	0,58 ± 0,77 ab	0,09 ± 0,01 b	4,48 ± 1,63 a	0,95 ± 0,59 b
Q	0,25 ± 0,18 b	2,92 ± 1,13	0,84 ± 2,15 ab	0,70 ± 0,98 a	2,57 ± 1,63 b	1,05 ± 0,60 b
EF	0,81 ± 0,56 a	2,61 ± 0,75	1,59 ± 0,95 a	0,06 ± 0,01 b	1,57 ± 0,15 b	1,02 ± 0,85 b
VL	0,20 ± 0,09 b	2,87 ± 1,36	0,10 ± 0,11 b	0,09 ± 0,04 b	1,91 ± 0,65 b	1,76 ± 0,45 a
<b>Temporada</b>						
PV	0,69 ± 0,62	2,43 ± 0,84 b	0,74 ± 0,90	0,34 ± 0,69	2,91 ± 1,75	1,10 ± 0,79
VO	0,43 ± 0,32	3,47 ± 1,47 a	0,53 ± 1,68	0,07 ± 0,02	2,66 ± 1,64	1,38 ± 0,44

C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo; pv: primavera-verano; vo: verano-otoño. Los valores representan la media ± EEM (n=10-20) para cada región y para cada temporada (pv-vo). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

Como se puede observar en el Cuadro 8, las mieles de las regiones C y EF presentaron mayores contenidos de Cu respecto a las mieles de las regiones Q y VL. Esto podría explicarse debido a que la región C, así como en las proximidades de la región EF se encuentran áreas asociadas a la actividad hortí-frutícola y agrícola, con aplicaciones de productos inorgánicos cúpricos para el control de enfermedades vegetales. Sin embargo los valores encontrados por temporada no tuvieron diferencias significativas.

Los valores de Cu obtenidos en las cuatro regiones, se encontraron dentro del rango citado por Persano *et al.* (1995) y Fernández *et al.* (1994) donde mencionan

valores entre 0,228–3.317 mg/kg. Así mismo, Conti *et al.* (2014) reportan para mieles multiflorales en Argentina, valores promedio de 0,29 mg/kg con un rango desde 0,09 a 1,19 mg/kg.

El contenido de Fe fue similar en las cuatro regiones estudiadas. Al analizar por temporada, se encontró diferencias significativas entre vo y vp. Los valores de Fe (mg/kg), se encontraron dentro del rango citado en referencia bibliográfica.

Para I, se encontraron diferencias significativas entre mieles de la región EF respecto a VL ( $p < 0,05$ ). El menor contenido de I correspondió a las mieles de la región VL. Los valores de I encontrados en la temporada vo no tuvieron diferencias significativas respecto a la temporada vp.

El contenido de Mo fue mayor en las mieles de la región Q, siendo diferente significativamente respecto a las mieles de las demás regiones (C, VL y EF). Esto podría explicarse por los tipos de suelo asociado a la formación geológica de la región, donde predominan suelos calcáreos. La disponibilidad de Mo para la planta, a diferencia de otros micronutrientes, aumenta con la disminución de la acidez del suelo (Tisdale *et al.*, 1985). No se registró diferencias significativas por temporada.

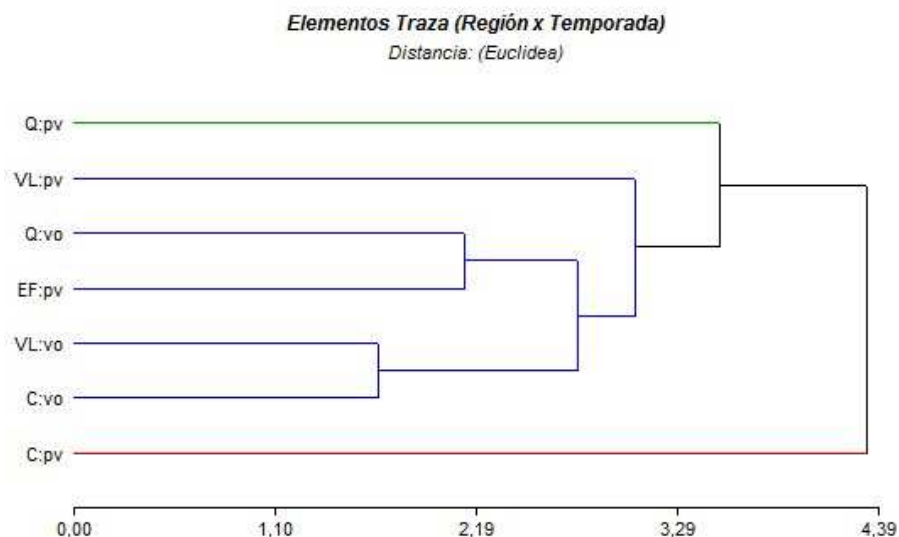
Las mieles de la región C mostraron mayor contenido de Mn respecto a las demás regiones. Al igual que para Cu, esto podría explicarse por la gran influencia de la actividad humana relacionada a las prácticas hortícolas y frutícolas desarrolladas en la región, entre ellas la aplicación de fertilizantes con contenidos de Mn como estimulante del crecimiento de las plantas.

No se encontraron diferencias significativas entre temporadas. El contenido de Mn se encuentra dentro de los rangos citados por Conti *et al.* (2014) donde citan valores entre 0,14 y 3,13 mg/kg.

El contenido de Zinc en las mieles de VL fueron mayores respecto a Q, EF y C, esto coincide con los valores más bajos de Cu encontrados en esta región. Las elevadas concentraciones de Zn en la solución del suelo deprimen la absorción de Cu por parte de las raíces y pueden agudizar la deficiencia de Cu (Tisdale *et al.*,1985). Así mismo, los bajos valores de Zn encontrados (0,95 mg/kg) en las mieles de la región C, se puede atribuir a la presencia de Cu, Fe y Mn que inhiben la extracción de Zn por la planta (Tisdale *et al.*,1985).

Los valores de Zn hallados, se encontraron dentro del rango citado en la bibliografía de referencia. No se encontraron diferencias significativas entre temporadas.

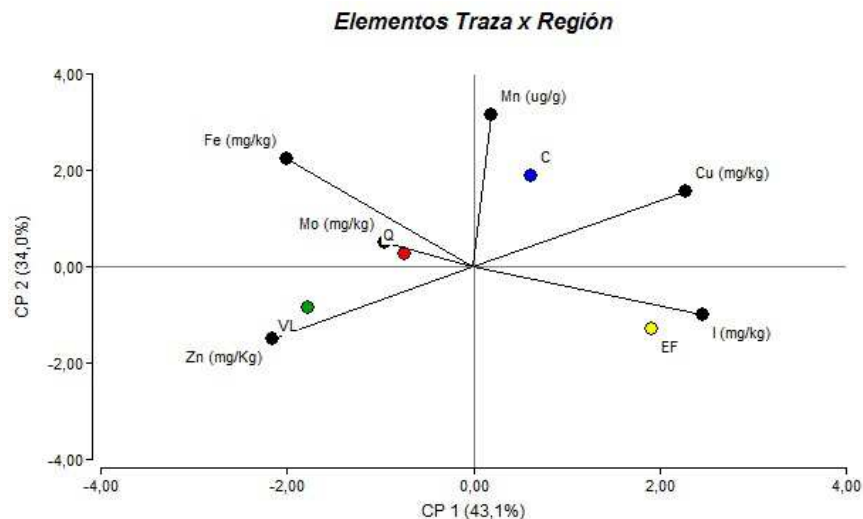
A continuación (Figura 13) se presenta un dendograma como síntesis de análisis en base a los diferentes elementos traza estudiados, asociados a cada región y temporada. Este análisis permite agrupar regiones con similares características tomando en cuenta los datos de microminerales obtenidos por región y temporada.



**Figura 13.** Dendograma de clasificación de los tipos de mieles estudiadas de acuerdo al contenido de elementos traza por región y temporada. Se utilizó la distancia Euclidea y el método de agregación de ward. C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo; pv: primavera-verano; vo: verano-otoño.

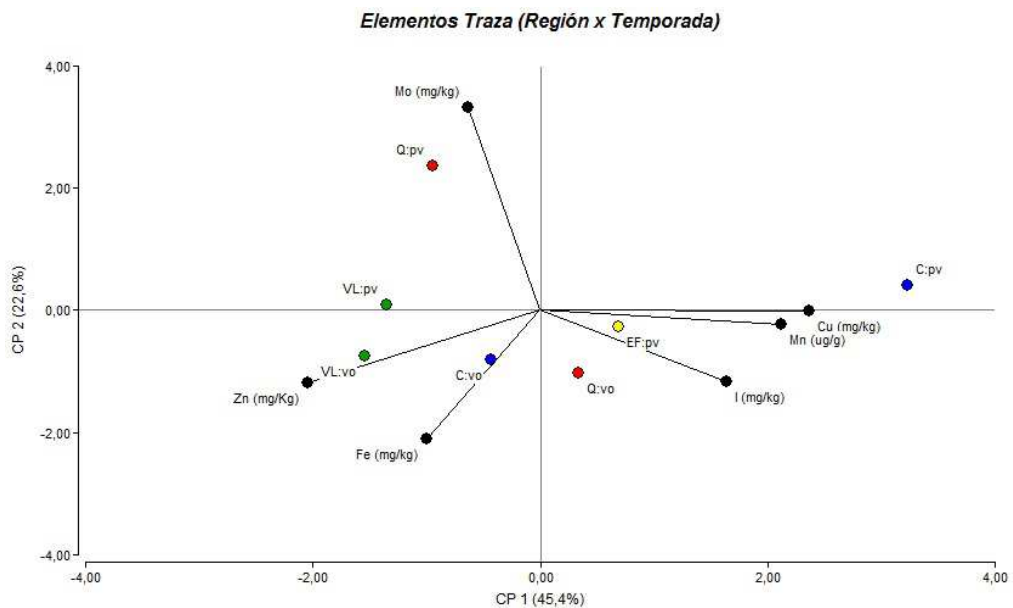
En el diagrama de la Figura 13, se relacionan los elementos traza y las diferentes regiones por temporada y se obtuvieron tres grandes grupos muy diferentes. Por un lado la región C en la temporada pv, por otro lado la región Q en la temporada pv, y un tercer grupo integrado por las regiones VL en ambas temporadas, la región EF en la temporada pv, la región Q en la temporada vo y la región C en la temporada vo.

Se realizó también un análisis de componentes principales ACP para observar qué peso tiene cada elemento traza analizado respecto a las regiones y temporadas estudiadas (Figura 14).



**Figura 14.** Análisis de componentes principales (PCA) de los tipos de mieles estudiadas de acuerdo al contenido de elementos traza por región. C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo.

Como se observa en la Figura 14, los componentes principales 1 y 2 (CP1 y CP2) explicaron el 77 % de la variación total. Se puede asociar una región particular de acuerdo a un elemento traza. El contenido de I se explica en un 42,9% debido a la región EF, así mismo el Zn se asocia a la región VL. La región Q, está caracterizada por valores más elevado de Mo y a pesar de no existir diferencias significativas entre regiones para Fe, se puede observar que en esta región, los valores obtenidos de Fe se asocia a esta misma región.



**Figura 15.** Análisis de componentes principales (PCA) de los tipos de mieles estudiadas de acuerdo al contenido de elementos traza por región y temporada. C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo; pv: primavera-verano; vo: verano-otoño.

Los resultados muestran que entre los componentes principales 1 y 2 (CP1 y CP2) explicaron el 68 % de la variación encontrada. Al analizar los elementos traza respecto a las regiones y las temporadas (Figura 15) se puede observar que sigue existiendo una asociación similar a la analizada únicamente por regiones. Sin embargo la mayor presencia de Mo está asociado a la región Q en la temporada pv. El Zn está asociado a la región VL en la temporada vo y el I a la región EF.

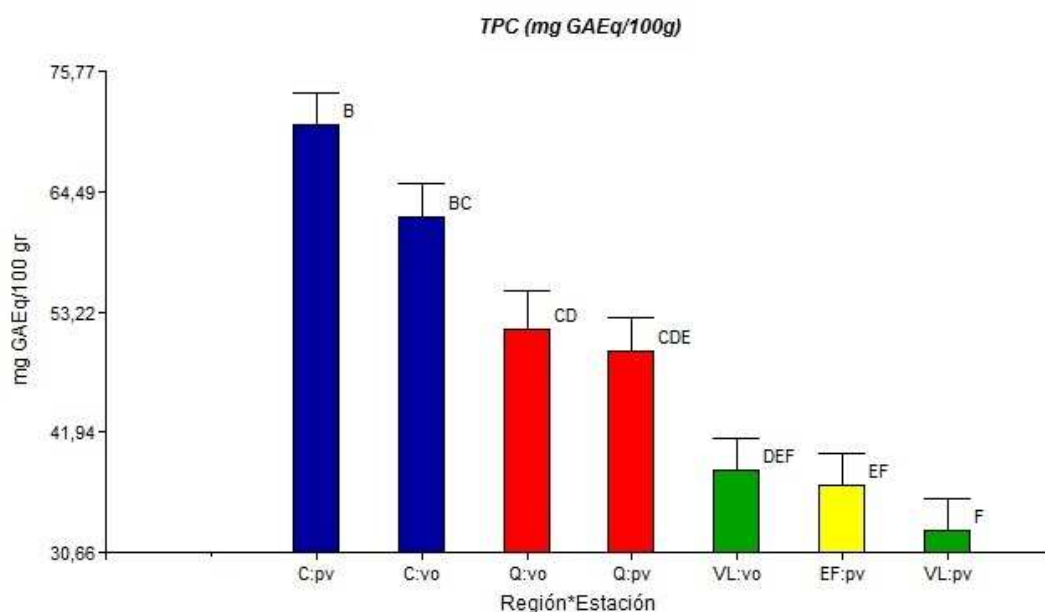
El contenido de I en la región EF y C podría explicarse por la cercanía del apiario a las márgenes del Río Uruguay y Río de la Plata con buena influencia marítima. Así mismo la presencia de I en estas regiones podría estar dada por climáticos asociados al viento y lluvias. Shetaya (2012) indica que este mineral es encontrado frecuentemente en ríos y océanos. Por otra parte las tasas de pérdida de yodo son mayores a temperaturas más altas y el pH del suelo actúa principalmente en la adsorción inicial.

La presencia de los elementos traza en las mieles, se encuentra asociada a la dinámica de estos minerales en el suelo y a la interacción suelo-planta (Tisdale *et al.*,1985). Así mismo se puede afirmar que las prácticas de manejo como fertilización y aplicación de productos fitosanitarios realizado en la agricultura, horticultura y fruticultura incrementa la presencia de algunos microminerales (Cu, Mn).

### 3.3 POLIFENOLES TOTALES

En la Figura 16 se muestra los resultados obtenidos de Polifenoles Totales (TPC) al analizar las mieles de cada región por temporada. Los resultados muestran que la región C en la temporada pv, tuvo mayor contenido de TPC respecto a las demás regiones (70,72 mg/100g) mientras que las mieles de la región VL en la temporada pv tuvieron menores cantidades de TPC.

Al comparar una misma región de acuerdo a las diferentes temporadas, no se encontró diferencias significativas.



**Figura 16.** Contenido de polifenoles totales (TPC; mg GAEq/100 gr.) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas (p<0.05).



A continuación se muestra en el Cuadro 9, la concentración fenólica (TPC) de las mieles de este estudio agrupadas por región y por temporada. Los resultados muestran una variación entre 35 a 66 mg GAEq/100 g. La región con el valor más alto de TPC fue C (66,44 mg GAEq/100g) siendo diferente significativamente respecto a los valores obtenidos para las regiones Q (50,417 mg GAEq/100g), EF (36,876 mg GAEq/100g) y VL (35,526 mg GAEq/100g). Al comparar mieles de la temporada vo respecto vp, no se encontraron diferencias significativas.

**Cuadro 9.** Promedios del contenido de polifenoles totales (TPC; mg GAEq/100g) en las mieles de cada región (C, Q, EF, VL) y temporada de cosecha (pv, vo).

<b>Región</b>	<b>Media <math>\pm</math> EEM (mg GAEq/100 g)</b>
<b>C</b>	66,44 $\pm$ 7,68 <b>a</b>
<b>Q</b>	50,42 $\pm$ 10,78 <b>b</b>
<b>EF</b>	36,88 $\pm$ 10,55 <b>c</b>
<b>VL</b>	35,53 $\pm$ 10,23 <b>c</b>
<b>Temporada</b>	
<b>PV</b>	47,41 + 17,35
<b>VO</b>	50,59 + 14,50

C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo; pv: primavera-verano; vo: verano-otoño. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=10-20) para cada región y para cada temporada (pv-vo). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas (p<0.05).

En otros estudios realizados por Ferreira *et al.* (2009) informaron que los contenidos de fenol en mieles varían de 22,62 a 72,78 mg GAEq/100 g de miel. Así mismo Beretta *et al.* (2005) reportaron contenidos que van de 5,22 a 78,96 mg GAEq/100g de miel para mieles uniflorales y multiflorales de África. En un estudio

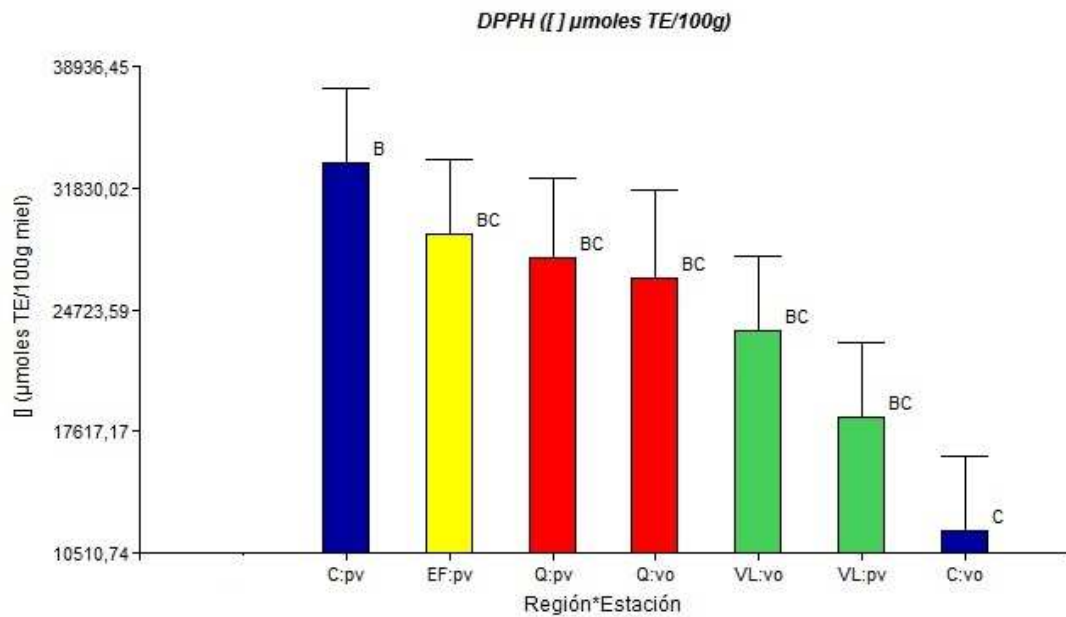
sobre la miel de Eslovenia, Bertoncej *et al.* (2007) obtuvieron resultados que oscilaron entre 4,48 y 23,39 mgGAEq/100 g.

De acuerdo a lo reportado por Liberato *et al.* (2011) para muestras de miel de la región oriental en Brasil los contenidos de fenol oscilaron entre 10,21 a 108,5 mg GAEq/100g de miel en tanto que Pontis *et al.* (2014) evaluando mieles multiflorales de Brasil encontraron valores entre 25,0 y 54,8 mgGAEq/ 100g de miel.

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron una menor variación que la encontrada por esos autores y los valores se encuentran dentro de los rangos citados. La presencia de leguminosas de la familia de las Fabaceas como el Lotus en la región C (Cerrillos) puede ser la razón del alto nivel de polifenoles totales encontrados en la miel. Existen compuestos con bioactividad fenólica en *Lotus corniculatus*, del tipo quercetina y kaempferol con actividad antioxidante en el humano, lo cual indica que mas estudios deberán encaminarse para cuantificar e identificar estos compuestos en la miel por su importancia en la salud. Probablemente no sean los mismos compuestos con actividad fenólica en todas las regiones en las cuales se midieron los PTC, ya que otros compuestos fenólicos podrían estar presentes en la flora que predomina en esas regiones y que aún siendo de la familia de los flavonoides tengan otra estructura química (Rijke *et al.*, 2004; Reynaud y Lussignol, 2005).

### **3.4 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

En el siguiente gráfico (Figura 17) se muestra la capacidad antioxidante de las mieles estudiadas por región y por temporada. Los resultados se expresan en ( $\mu$ moles TE/100g). Las mieles de la región C en pv registraron mayor capacidad antioxidante (33274  $\mu$ moles TE/100g), respecto a la misma región en vo (11802  $\mu$ moles TE/100g). No se observaron diferencias significativas para las demás regiones y entre temporadas.



**Figura 17.** Capacidad Antioxidante ([]  $\mu$ moles TE/100g miel) por región y temporada. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=7-10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas ( $p < 0.05$ ).

En el Cuadro 10 se muestra la capacidad antioxidante de las mieles, tomando en cuenta las cuatro regiones. El valor mínimo encontrado fue en la región EF con 318  $\mu$ moles TE/100g y el máximo valor fue de 62869  $\mu$ moles TE/100g en mieles de la región VL. Así mismo, se puede observar que no se registraron diferencias significativas entre regiones y tampoco al comparar las temporadas pv respecto a vo.

**Cuadro 10.** Promedios de la Capacidad Antioxidante ( $\mu$ moles TE/100g de miel) en las mieles de cada región (C, Q, EF, VL) y temporada de cosecha (pv, vo).

<b>Región</b>	<b>Media <math>\pm</math> DE(<math>\mu</math>moles TE/100g)</b>
<b>C</b>	22538 $\pm$ 14484
<b>Q</b>	27225 $\pm$ 4438
<b>EF</b>	29132 $\pm$ 24430
<b>VL</b>	20944 $\pm$ 14600
<b>Temporada</b>	
<b>pv</b>	27140 $\pm$ 14260
<b>vo</b>	19930 $\pm$ 14940

C: Los Cerrillos; Q: Quebrada de los Cuervos; EF: Esteros de Farrapos; VL: Valle del Lunarejo; pv: primavera-verano; vo: verano-otoño. Los valores representan la media  $\pm$  EEM (n=10-20) para cada región y para cada temporada (pv-vo). Letras diferentes indican diferencias significativas entre regiones y temporadas (p<0.05).

El estudio realizado por Pontis *et al.* (2014) para mieles multiflorales de Brasil indica valores que oscilaron entre 3,17 y 8,79 mg/ml. Otras investigaciones realizadas por Bertoneclj *et al.* (2007) reportan variaciones entre 7,2 a 53,8 mg/ml. Así mismo, Ferreira *et al.* (2009), revelan valores de capacidad antioxidante entre 106,67 y 168,94 mg/ml. Beretta *et al.* (2005), informaron valores desde 1,63 a 47,62 mg/ml.

#### **4. CONCLUSIONES**

A través del análisis palinológico se pudieron observar diferencias en el contenido polínico en las cuatro regiones estudiadas así como para cada temporada. El origen botánico de las mieles resultó ser diferente de acuerdo al sitio geográfico y a la estación del año. La región C en la temporada vo se caracterizó por mieles monoflorales de *Lotus sp.* (72%), mientras que en la temporada pv se caracterizó por mieles multiflorales con presencia de *Xylosma tweedianum* (14,1%), *Salix sp.* (14%), *Lotus sp.* (11,5%) y *Eucalyptus sp.* (10,3%).

Algunas especies, género o familia botánica solamente se encontraron en alguna región particular. En mieles de la región C se encontró *Glycine max*, *Scutia buxifolia*, *Ammi viznaga*, *Trifolium repens*, *Xylosoma twedianum*, *Oxalis sp.*, *Discaria americana* y *Raphanus sativus*. En mieles de la región Q se destaca la presencia de *Lonicera japonica*. Las mieles de la región VL presentaron *Manihot grahammi* y especies de *Iridaceae* y en mieles de la región EF se destaca la presencia de *Parkinsonia aculeata* y *Rosaceae*.

El contenido de elementos traza de las mieles del Uruguay varían de acuerdo a cada sitio geográfico y a cada estación del año, permitiendo clasificar las mieles por su origen geográfico. La región C produciría mieles con mayor contenido de Cu, Mn, I en la temporada pv. La región VL en la temporada pv, produciría mieles con mayor contenido de Zn y la región Q en la temporada pv produciría mieles con mayor contenido de Mo.

Las mieles de la región de Cerrillos en la temporada pv, presentaron mayores valores de Polifenoles Totales, respecto a las mieles de VL y EF, probablemente debido a un mayor contenido de leguminosas y/o de elementos traza.

Igualmente, la capacidad antioxidante fue mayor en las mieles de la región Cerrillos, lo cual podría estar asociado positivamente a la mayor presencia de elementos traza como Cu, Mn, I y un mayor contenido de Polifenoles Totales.

Este trabajo permite afirmar que las mieles pueden diferenciarse por su contenido en micronutrientes asociado al contenido de polifenoles totales y a una mayor actividad antioxidante para determinadas regiones, dada por las especies florales presente en la región y el tipo de suelo.

#### **4.1 PERSPECTIVAS A FUTURO**

Esta tesis es un estudio preliminar que muestra asociaciones de mieles con regiones en las cuales, varios compuestos podrían definir un tipo de miel. Se debe continuar y ampliar la investigación a mieles de otras regiones fitogeográficas del Uruguay a través de la composición química y propiedades antioxidantes para llegar a definir una denominación por origen logrando generar nuevas estrategias de mercado y competitividad productiva.

Esta línea de investigación se continuará en el doctorado profundizando en compuestos propios de familias de plantas y las mieles que de ahí resulten como una herramienta de diferenciación y de valorización.

## **5. BIBLIOGRAFÍA**

- Afik O, Delaplane K, Shafir S. 2014. Nectar minerals as regulators of flower visitation in stingless bees and nectar hoarding wasps. *Journal Chemistry Ecology*, 40: 213-245
- Anklam E. 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*. 63: 549-562
- Antúnez K. 2014. Apicultura en Uruguay: Producción y Desafíos. V Congreso Uruguayo de Producción Animal, Asociación Latinoamericana de Producción Animal, 23 (5): 33-34
- Ardawati N, Suan L, Roji M. 2014. Thermal treatment effect on free amino acids in honey samples. *Journal Teknologi*. 69 (4): 29-33.
- Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Maffei Facino R. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 185-191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.010>
- Bertoncelj J, Doberšek U, Jamnik M, Golob T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105, 822-828. <http://dx.doi.org/10.1016/j.2007.01.060>
- Bogdanov S, Haldimann M, Luginbühl W, Gallmann P. 2007. Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal Of Apicultural Research and Bee World*, 46 (4): 269-275.
- Bogdanov S. 1999. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee World* 90: 61-69

- Cabrera MC, Ramos A, Saadoun A, Brito G. 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford stress fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84: 518-528.
- Chua L, Lee J, Chan G. 2015 Characterization of the proteins in honey. *Analytical letters*, 48 (4): 697-709
- Chua L, Rahaman N, Adnan N, Tan T. 2013. Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 1-8
- Conti, M.E., Finoia,M.G., Fontana,L., Mele,G., Botrè,F., Iavicoli,I. 2014. Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 44. <http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-8-44>.
- Corbella E, Cozzolino D. 2008. Combining Multivariate Analysis And Pollen Count To Classify Honey Samples Accordingly To Different Botanical Origins. *Chilean Journal Of Agricultural Research* 68 (1): 102-107
- Corbella E, Tejera L, Cernuschi F. 2005. Calidad y origen botánico de mieles del noreste de Uruguay. En: *Revista INIA. Producción Animal*. Montevideo. INIA. 6-7
- Corbella E, Cozzolino D, Ramallo G, Maidana, M. 2002. Conjugar criterios y esfuerzos para fomentar prácticas agropecuarias que tengan en cuenta la biodiversidad, de la cual tanto depende la apicultura: Calidad de mieles de Uruguay. En: *El País Agropecuario*. Montevideo. *El País Agropecuario*. 25-28
- Cordara JJ. 2005. La historia de la apicultura en Uruguay. Montevideo, Uruguay. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de la Empresa.



- Del Campo G, Zuriarrain J, Zuriarrain A, Berregi I. 2015. Quantitative determination of carboxylic acids, amino acids, carbohydrates, ethanol and hydroxymethylfurfural in honey by <sup>1</sup>H NMR. *Food Chemistry*. 196: 1-28
- Devillers J. 2002. The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. *Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals*. 352
- Di Marco G, Manfredini A, Leonardi D, Canuti L, Impei S, Gismondi A, Canini A. 2017. Geographical, botanical and chemical profile of monofloral Italian honeys as food quality guarantee and territory brand. *Official Journal of the Societa Botanica Italiana*. 151: 450-463.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- FAO. 1981. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Codex Norma para la miel. CODEX STAN 12. Comisión del Codex Alimentarius. Rev. 2001
- Fernández M, Subrá E, Ortiz A. 1994. La miel, indicador ambiental. I Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Toledo. 37-46
- Ferreira I, Aires E, Barreira, J, Estevinho L. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. 114. 1438-1443
- Gamboa M. 2014. Estudio e identificación de características de composición y bioactividad propias de miel de mielato de *Apis mellifera*. Colombia.

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Programa Interfacultades. 17-187

Grujić S, Komić J. 2012. Classification Of Honeys From Three Geographical Regions Based On Their Quality Control Data. *Quality Of Life* 3(1-2): 13-26

Insuasty E, Martínez J, Jurado H. 2016. Identificación De Flora Y Análisis Nutricional de Miel de Abeja Para La Producción Apícola. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 14(1): 37-44

Kaškonienė V, Maruška A, Kornyšova O. 2009. Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Chemine Technologija*. 52 (3): 74-80.

Lachman J, Kolihova D, Miholova D, Kosata J, Titera D, Kult K. 2007. Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, 101(3), 973–979. doi:10.1016/j.foodchem.2006.02.049.

Lazor P, Tomáš J, Tomáš T, Juraj T, Čéryová, S. 2012. Monitoring of Air Pollution and Atmospheric Deposition of Heavy Metals by Analysis of Honey. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 1 (4) 522-533.

Liberato M, Morais S, Magalhães C, Magalhães I, Cavalcanti D, Silva M. 2013. Physicochemical properties and mineral and protein content of honey samples from Ceará State, Northeastern Brazil. *Food Science Technology, Campinas*. 33(1): 38-46

Liberato M, Morais S, Siqueira S, Menezes J, Ramos D, Machado, L, Magalhães I. 2011. Phenolic Content and Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Properties of Honeys from Different Floral Origins. *Journal of Medicinal Food*, 14, 658-663

Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. 1978. Methods of Melissopalynology. Bee World, 59, 139–157.

Machado A, Bicudo L, Sancho M, Pascual-Maté A. 2017. Composition and properties of Apis mellifera honey. Journal of Apicultural Research. 57 (1): 5-37

MGAP-CHDA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca - Comisión Honoraria de Desarrollo Apícola). 2018. Informe Comisión Honoraria Desarrollo Apícola (CHDA) Sobre la Presente Zafra Apícola. [En línea]. Consultado 20 julio 2018. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/busqueda/mgap/CHDA>

MGAP-DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca - Dirección de Estadísticas Agropecuarias). 2017. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo, Uruguay. MGAP-DIEA. 214p

MGAP-DIGEGRA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca - Dirección General de la Granja). 2018. Sistema Nacional de Trazabilidad de los Productos Apícolas (SINATPA). Boletín Consumo de Miel en Uruguay. [En línea]. Consultado 20 julio 2018. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos/consumo-miel-uruguay>

MGAP-DIGEGRA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca - Dirección General de la Granja). 2016. Guía de Buenas Prácticas Apícolas en la Producción de Miel. [En línea]. Consultado 20 julio 2018. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/direccion-general-de-la-granja/produccion/produccion-apicola/guia-de-buenas-practicas-apicolas>

- Montenegro G, Santander F, Jara C, Nuñez G, Fredes C. 2013. Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. . Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12 (3): 257 – 268
- MVOTMA (Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente). 2000. [En línea]. Consultado 20 julio 2018. Disponible en: <http://mvotma.gub.uy/decretos-ministerio/item/10010063-decreto-52-005?highlight=WyJkZWNYZXRvIiw1MiwZGVjcmV0byA1MiJd>
- NCSS Statistical Software. NCSS software release 2012. 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037, USA
- Persano L, Piazza M, Sabatini A, Accort M. 1995. Review article Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*. 26: 453–465
- Pisani A, Protano G, Riccobono F. 2008. Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). *Food Chemistry*. 107(4): 1553-1560
- Reynaud J, Lussignol M. 2005. The Flavonoids of *Lotus corniculatus*. *Lotus Newsletter*. 35 (1): 75-82
- Rijke E, Zappey H, Ariese F, Gooijer C, Brinkman U. 2004. Flavonoids in *Leguminosae*: analysis of extracts of *T. pratense* L., *T. dubium* L., *T. repens* L., and *L. corniculatus* L. leaves using liquid chromatography with UV, mass spectrometry and fluorescence detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 378. 995-1006.
- Shetaya W, Young S, Watts M, Ander E, Bailey E. 2012. Iodine dynamics in soils. *Geochimica et Cosmochimica*. 77: 457–473

- Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R. 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152–178
- Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD. 1985. Micronutrients and Other Beneficial Elemental in Soils and Fertilizers. *In: Soil Fertility and Fertilizers*. 4th ed. New York. Macmillan. pp. 350-413.
- Uruguay XXI. 2018. Promoción de Inversiones, Exportaciones e Imagen País. [En línea]. Consultado 15 julio 2018. Disponible en: <https://www.uruguayxxi.gub.uy/es/marca-pais/>
- White J. 1975. Composition of honey., *In Crane, E (ed.) Honey. A Comprehensive survey*. London. Heinemann Edition; 157-206

## 6. ANEXOS

### 6.1 TRACE ELEMENTS CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HONEY FROM PROTECTED PHYTOGEOGRAPHICALS REGIONS IN URUGUAY

### 6.2 PORCENTAJE DE POLEN Y PRESENCIA DE MIELATO EN LAS MIELES DE CADA REGIÓN Y TEMPORADA

#### 6.2.1 Región Los Cerrillos: Temporada primavera - verano

Nombre común	Nombre científico	Muestras									
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Mielato	Mielato	no	no	si	no	no	si	si	no	no	no
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	8,9	3,5	18,7	6,2	7,1	6,2	12,3	6,3	8,7	25,3
Mirtacea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>	12,9	19,7	15,1	10,2	9,8	10,1	7,7	2,3	5,9	0,1
Lotus	<i>Lotus</i> sp.	10	16,5	3,2	6,5	6,4	3,2	2,1	26,8	24	16
Acacia	<i>Acacia</i> sp.	5	0,8							3	8
-	<i>Scrophulariaceae</i>	0,5	0,8	2,3		0,1	0,1	0,1			2,1
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>	1,2	0,5		0,3	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	1,4
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.	0,3	0,1								
Sauce	<i>Salix</i> sp.	0,9	10	9,6	22,1	16,8	15	14,9	16,4	15,5	19
Molle	<i>Schinus longifolius</i>	5,7	12,2	3,2	5,4	8,4	6,1	16,2	4,1	3,1	4,5
Trébol blanco	<i>Trifolium repens</i>		4,3	2,1	2,6	7,1	4,3	0,1	4,3	5,2	4,2
Viznaga	<i>Ammi viznaga</i>	1,5									
Borraja	<i>Echium plantagineum</i>	7,9	6,9	3,3	4,3	8,4	7	14,5	6,8	7	7,7
Menta	<i>T. Menta piperita</i>	2,1			0,2		2			4	0,1
Chirca/carqueja 1	<i>T. Baccharis articulata</i>	8,6	3,6	5,6	6,5	6,8	7,7	3,1	7,3	6,1	3,4
Chirca/carqueja 2	<i>Baccharis</i> spp.	5,4	5,9	0,5	5,2	9,7	6,3		4,1		
Chirac/Carqueja 3	<i>Baccharis</i> spp.	3,4		0,2	1,3	7	5,4				3,2
Acacia de chaucha	<i>Gleditsia triacanthos</i>	1,8	2,1	4,2	4,3	4,4	2,1	4,5	2,3	0,2	1,2
Macachín	<i>Oxalis</i> sp.	2,3	1,5	26,5	12,3	1,8	0,3	2,5	0,5	0,4	2,3
Brusquilla	<i>Discaria americana</i>	1,6	0,5	2,6		1,2	0,5				
Coronilla	<i>Scutia buxifolia</i>	3,5		0,2		0,6					
Rábano	<i>Raphanus raphanistrum</i>		2,2			0,2			1		
Espina corona	<i>Xylosma tweedianum</i>	16,5	8,9	17,8	12,6	4,1	23,5	21,9	17,5	16,7	1,5
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### 6.2.2 Región Los Cerrillos: Temporada verano-otoño

Nombre común	Nombre científico	Muestras									
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Mielato	Mielato	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	2,1	6,5	9,1	3,8	4,6	9,8	3,2	0,7	1,3	2,3
Mirtácea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>		20,0	1,2	4,0	5,9	2,3	1,8	10,1	0,2	23,6
Lotus	<i>Lotus</i> sp.	67,7	44,8	82,1	78,6	75,2	81,6	78,6	81,1	82,3	49,5
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>	4,3	1,2	0,1	9,6	3,2	0,8	0,2		0,1	0,5
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.									2,7	0,2
Cardo	<i>T. Cirsium vulgare</i>					1,5					
Senecio 2	<i>Senecio</i> sp.									3,1	2,4
Fabaceae	-	9,2	3,9	2,3		5,7		3,2	5,5	6,8	10,9
Soja	<i>Glycine max</i>	6,1	9,1	0,9							
Trébol blanco	<i>Trifolium repens</i>	9,5	2,5	1,2	1,6		3,4	2,8	1,9	3,5	9,6
Caraguatá	<i>Eryngium</i> sp.	0,5	0,6			0,8		0,9			0,6
Viznaga	<i>Ammi viznaga</i>	0,3	0,1	0,8				0,2			0,1
Borraja	<i>Echium plantagineum</i>	0,3	11,3	2,3	2,4	3,1	2,1	1,9	0,1		0,3
Menta	<i>T. Menta piperita</i>							7,2	0,6		
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### 6.2.3 Región Quebrada de los Cuervos: Temporada verano-otoño

Nombre común	Nombre científico	Muestras						
		Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7
Mielato	Mielato	si	si	si	si	si	si	si
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.		11,7					
Mirtácea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>		9,2			11,2	1,5	
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.	4,3	4,5	3,2	2,6	2,1	0,6	3,2
Senecio 2	<i>Senecio</i> sp.	1,2	6,2	2,1	0,8	0,9	2,3	
Molle	<i>Schinus longifolius</i>		3,4	0,5		0,2		0,1
Yerba del pajarito	<i>Tripodanthus acutifolius</i>	53,1	17,9	16,5	27,5	31,8	16,9	27,8
Chirca/carqueja 1	<i>T. Baccharis articulata</i>	38,2	15,4	41,8	38,9	22,4	31,8	32,6
Chirca/carqueja 2	<i>Baccharis</i> spp.		16,3	27	30,2	21,3	36,9	23,5
Chirca/Carqueja 3	<i>Baccharis</i> spp.		5,6	8,9		6,5	10	9,9
Pasto	<i>Pasto</i>		3,2	0,1				
Aruera	<i>Lithraea brasiliensis</i>		0,6					2,1
Acacia de chaucha	<i>Gleditsia triacanthos</i>		4,5			3,1		0,3
Madreselva	<i>Lonicera japonica</i>							0,5
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>		4,6			0,5		
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### 6.2.4 Región Quebrada de los Cuervos: Temporada primavera-verano

Nombre común	Nombre científico	Muestras								
		Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
Mielato	Mielato	no	si	si	si	si	si	si	si	si
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	3,8	4,2			0,1	5,2		1,2	0,5
Mirtacea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>		17,2	17,9	15,2	2,1	3,4	0,2	2,1	0,6
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.	6,7	8,1	6,1	5,3	3,8	4,1	3,6	0,7	1,2
Molle	<i>Schinus longifolius</i>		15,6	19,8	51,1	0,7	7,8	0,1	0,5	3,2
Yerba del pajarito	<i>Tripodanthus acutifolius</i>	44,9	19,6	2,1	1,1	22,1	19,5	27,6	48,2	47
Chirca/carqueja 1	<i>T. Baccharis articulata</i>	18,1	13,8	16,1	5,4	42,3	38	49,2	25,2	38,2
Chirca/carqueja 2	<i>Baccharis</i> spp.	9,2	6,6	12,9	10,8	12,5	5	12	9,1	2,5
Chirac/Carqueja 3	<i>Baccharis</i> spp.	16,5				16,3	15	5	10	5,6
Pasto	-	0,8	1	4,1			2	2,3	0,6	1,2
Aruera	<i>Lithraea brasiliensis</i>		8,3	2,7						
Acacia de chaucha	<i>Gleditsia triacanthos</i>		5,6	6,9	1,7	0,1			0,1	
Madreselva	<i>Lonicera japonica</i>			3,2						
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>			8,2	9,4				2,3	
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### 6.2.5 Región Valle del Lunarejo: Temporada primavera-verano

Nombre común	Nombre científico	Muestras									
		VL1	VL2	VL3	VL4	VL5	VL6	VL7	VL8	VL9	VL10
Mielato	Mielato	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.			2,1	3,4	13,8	2,1	9,5	10,9	3,5	
Mirtácea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>	80,4	51,2	29,5	50	45,5	36,7	35,6	31,3	10,6	15,4
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.			0,1			0,1	0,2		1	0,5
Molle	<i>Schinus longifolius</i>	4,3	11,5	7,4	6,3	12,6	5,4	7,2	3,2	10,5	4,3
Caraguatá	<i>Eryngium</i> sp.								3		
Borraja	<i>Echium plantagineum</i>		4,1	2,3	2,3			0,1	0,2	2,3	3,3
Chirca/carqueja 1	<i>T. Baccharis articulata</i>	9,4				6,5	0,3	0,1	0,1	6,8	4,1
Aruera	<i>Lithraea brasiliensis</i>	2,3	13,8	15,5	31,2	6,8	45,6	35,4	50,5	59	63,6
Acacia de chaucha	<i>Gleditsia triacanthos</i>	3,6	19,4	43,1	6,8	14,8	9,8	11,9	0,8	6,3	8,8
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>



### 6.2.6 Región Valle del Lunarejo: Temporada verano-otoño

Nombre común	Nombre científico	Muestras									
		VL 1	VL2	VL3	VL4	VL5	VL6	VL7	VL8	VL9	VL10
Mielato	Mielato	si	no	si	si	si	si	si	si	si	si
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.		1,1	3,8							
Mirtacea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>		2,1	4,3					5,1	3,6	1,2
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>		2,1		1,2						
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.	1,3	2,3	2,1		2,3	4,9		2,6	4,5	4,2
Cardo	<i>T. Cirsium vulgare</i>				1,1						
Senecio 2	<i>Senecio</i> sp.								4,3	1,1	2,1
Fabaceae	-		2								
Molle	<i>Schinus longifolius</i>		0,6	46,8					72,9	14,6	24,1
Caraguatá	<i>Eryngium</i> sp.	1,4									0,5
Yerba del pajarito	<i>Tripodanthus acutifolius</i>	35,6	47,8	10	7,6	10,9	34,2	37,6	6,1	21,2	13,3
Chirca/carqueja 1	<i>T. Baccharis articulata</i>	12,8	21,3	17,4	35,6	29,6	33,7	31,8	4,5	31,2	22,4
Chirca/carqueja 2	<i>Baccharis</i> spp.	42,5	12,4	11,8	37,6	38,2	24,3	22,2	4,4	21,3	25
Chirac/Carqueja 3	<i>Baccharis</i> spp.	5,1	5	0,2	9,1	12	2,3	8,2		0,2	3,2
Pasto	-	1,3	1,2		5,3	7					
Aruera	<i>Lithraea brasiliensis</i>				2,3			0,2	0,1	0,1	2
Acacia de chaucha	<i>Gleditsia triacanthos</i>			3,4			0,5			0,1	1,4
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>		2,1							2,1	
Iridaceae	-			0,1			0,1				0,6
Falsa mandioca	<i>Manihot grahamii</i>			0,1	0,2						
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### 6.2.7 Región Esteros de Farrapos: Temporada primavera-verano

Nombre común	Nombre científico	Muestras									
		EF1	EF2	EF3	EF4	EF5	EF6	EF7	EF8	EF9	EF10
Mielato	Mielato	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	48,1	36,0	2,0	1,5	2,5		23,1	41,9	59,3	61,5
Mirtacea nativa	<i>T. Myrcianthes cisplatensis</i>	47,5	61,1	16,5	10,5	19,3	2,4	73,7	45,9	37,1	34,3
Cina cina	<i>Parkinsonia aculeata</i>	3,3	0,2	71,5		59,5	26,2	0,9	11,2	0,9	2,1
Rosaceae	-	0,5		1,5			5,3		0,2		
Lotus	<i>Lotus</i> sp.	0,6									
Acacia	<i>Acacia</i> sp.		1,9	1,0		2,5	1,2		0,3	0,8	2,1
Scrophulariaceae	-		0,8						0,1	1,2	
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>			4,0	86,5	7,5		2,3	0,2	0,7	
Senecio 1	<i>Senecio</i> sp.			0,5	1,5	3,6					
Cardo	<i>T. Cirsium vulgare</i>			3,0		0,5					
Senecio 2	<i>Senecio</i> sp.					4,6			0,2		
Fabaceae	-						3,7				
Sauce	<i>Salix</i> sp.						34,8				
Pino	<i>Pinus</i> sp.						0,2				
Molle	<i>Schinus longifolius</i>						26,2				
<b>TOTAL %</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>