

VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 – Córdoba, Argentina.

Actividad antioxidante de mieles argentinas de la provincia de Buenos Aires y la región Andino Patagónica

Patrignani M⁽¹⁾, Lupano CE⁽¹⁾

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CCT La Plata CONICET, CIC, 47 y 116, La Plata, Bs.As., Argentina. mariela_patrignani@hotmail.com

RESUMEN

La composición de la miel depende del origen floral de las mismas, que a su vez está definido por la región geográfica de la cual procede. Sería entonces posible discriminar las mieles según su contenido de antioxidantes. Esto permitiría ofertar al mercado de productos con características distintivas de mayor cotización para su venta. En el presente trabajo, se evaluó la capacidad antioxidante de mieles de 3 regiones fitogeográficas de Buenos Aires (Oriental, Talar y Paranaense) y de mieles obtenidas en la región Andino-Patagónica. El contenido de compuestos fenólicos se determinó por la técnica de Folin, mientras que el contenido de antioxidantes se cuantificó mediante distintos ensayos: FRAP, ABTS y DPPH. Los resultados indicaron que en general el mayor contenido de antioxidantes lo presentaban las mieles de la región Andino Patagónica. El contenido de compuestos fenólicos se puede relacionar con la actividad antioxidante encontrada a partir de los ensayos de FRAP y DPPH, pero no con el ensayo de ABTS. El análisis discriminante lineal indicó que las mieles de la región Andino Patagónica y la región de Buenos Aires Oriental se diferencian por su capacidad antioxidante, lo que permitiría aumentar el valor del mercado de estos productos.

Palabras clave: Antioxidantes, Mieles, Región Andino Patagónica, Provincia de Buenos Aires

ABSTRACT

Honey composition is strongly associated to its botanical origin which is closely related to the geographical area of production. Honey antioxidant content could be used to classify honey according to its geographical origin. Honey samples from 4 different regions of Argentina were collected: 3 from Buenos Aires (Oriental, Talar and Paranaense) and one from Patagonia Andina. The antioxidant capacity was determined by different assays (DPPH, ABTS and FRAP), the total phenolic content (TPC) was also evaluated. Honeys from Patagonia Andina showed a slightly higher antioxidant capacity when compared to samples from different regions. Moreover, the antioxidant capacity determined by DPPH and FRAP showed a good correlation with the TPC. Linear discriminant analysis showed that honeys from Buenos Aires Oriental and Patagonia Andina regions could be correctly classified by their antioxidant activity and TPC.

Keywords: Antioxidants, Honey, Patagonia Andina, Buenos Aires province

INTRODUCCIÓN

El código Alimentario Argentino en su capítulo X define la miel como “el producto dulce elaborado por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas”. Argentina es un importante productor a nivel mundial, y es el segundo país exportador después de China. Sin embargo, casi la totalidad de la producción Argentina de miel se basa en la venta de esta como un commodity (producto a granel indiferenciado). Sin embargo, la tipificación de la miel de acuerdo a la región donde fue producida podría contribuir a abrir la producción a nuevos mercados en donde el producto se cotice mejor por su diferenciación. Actualmente productos con estas características son



altamente cotizados, y podrían significar un incremento de un 15 a un 30% en la cotización de venta de las mieles (Plan estratégico apícola 2016).

La Argentina está dividida en regiones fitogeográficas con características particulares, estudios previos han demostrado que las mieles de estas regiones podrían diferenciarse por su origen geográfico mejor que por su origen floral (Patrignani et al. 2016). Para poder lograr esta diferenciación es indispensable establecer los parámetros botánicos, fisicoquímicos y/o organolépticos indicadores de su origen.

La composición de la miel es compleja: el principal componente de la miel son los azúcares (fructosa, glucosa, sacarosa, y otros azúcares superiores) (80%), mientras que el contenido de agua ronda el 17%, (Baldi 2010). Entre los componentes minoritarios se encuentran los minerales (0,17%), compuestos nitrogenados (0,04%), y en menor medida ácidos libres, lactonas, etc (Baldi 2010). Además, la miel contiene gran variedad de compuestos fenólicos. Los cuales poseen un anillo aromático y uno o más grupos hidroxilo en su estructura (da silva et al. 2016). El interés particular en los compuestos fenólicos es su acción como antioxidantes, ya que captan radicales libres inhibiendo la peroxidación lipídica (da silva et al. 2016). Además su presencia se ha relacionado con propiedades benéficas para la salud como propiedades anticancerígenas, anti-inflamatorias, antiaterogénicas, antitrombóticas en incluso la modulación de la respuesta inmune (Estevinho et al. 2008). Estos efectos han dado un nuevo impulso al consumo de miel como endulzante natural, ya que existe una creciente demanda por productos sanos y beneficiosos para la salud (Patrignani et al. 2016).

Considerando todo esto, el presente trabajo tiene como objetivo contribuir a la búsqueda de marcadores que permitan la regionalización de las mieles argentinas a partir de su la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales (CFT). En el presente trabajo se analizaron mieles de distintas regiones de la provincia de Buenos Aires (en donde se centraliza más de la mitad de la producción) y de mieles obtenidas en la región Andino-Patagónica (una región productora en pleno desarrollo).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las mieles analizadas fueron recolectadas directamente de productores. De la provincia de Buenos Aires, se analizaron mieles de tres de sus siete regiones fitogeográficas: región Paranaense (6 muestras), Provincia del Espinal distrito del Talar (6 muestras) y de la provincia Pampeana, distrito oriental (6 muestras). Se analizaron además 6 muestras de productores de la región Andina Patagónica Argentina ubicada al sur de la de nuestro país (**Figura 1**). Si bien esta región ha aumentado su nivel de producción, el contenido de antioxidantes de estas mieles no ha sido evaluado aún.

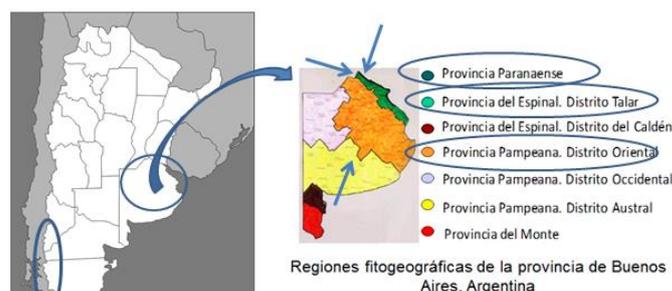


Figura 1. Regiones de recolección de mieles.

Preparación de las muestras

Para la determinación de la capacidad antioxidante, se pesaron 10,000 g de miel, se disolvieron con agua



destilada y se llevó a un volumen final de 25 ml en matraz aforado.

Contenido de fenoles totales (CFT)

El método de Folin-Ciocalteu fue utilizado para determinar el contenido de fenoles en las muestras de miel. Se agregó agua destilada (2300 μ l) y 50 μ l del reactivo de Folin a 50 μ l de la muestra de miel preparada como se describió previamente. Se mezcló por agitación y 2 min después se agregaron 100 μ l de Na_2CO_3 20% en NaOH 0,1 M. La mezcla se dejó reposar durante una hora en oscuridad. Pasado ese tiempo, se midió la absorbancia a 750 nm, en un espectrofotómetro Hitachi U-1900, Tokio, Japón. Paralelamente se realizó una curva patrón con ácido gálico (250 μ g/ml) y los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/Kg de miel (Escuredo et al. 2013). Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado.

Ensayo de DPPH

Se evaluó la capacidad de captación de radicales por medio del ensayo de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) descrito por Brand-Williams et al. (1995). Se colocaron 0,025 ml de la muestra y 1,475 ml de una solución de DPPH recién preparada. Los resultados se expresaron como μ g Trolox/mg de miel. Las determinaciones se realizaron por duplicado para cada muestra.

Ensayo de FRAP

La capacidad antioxidante total de las muestras de miel se determinó por medio del ensayo desarrollado por Benzie y Strain (1996). Para la determinación se colocaron 100 μ L de la muestra o su respectiva dilución y se agregaron 0,9 mL de reactivo de FRAP recién preparado. Los resultados se expresaron como μ g Trolox/mg de miel. Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada muestra.

Ensayo de ABTS

La determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo de ABTS se realizó según la técnica de Re et al. (1999). Se colocaron 12 μ L de la muestra y 1 ml de solución de ABTS recién preparada. Los resultados se expresaron como μ g Trolox/mg de miel. Cada una de las determinaciones se realizó por duplicado.

Análisis estadístico

Se determinaron las mínimas diferencias significativas entre las muestras (LSD) y se compararon los promedios a un nivel de 95% ($p \leq 0,05$) utilizando el test de Fisher. Las muestras se clasificaron de acuerdo a su origen geográfico.

La interdependencia de las variables relacionadas con la capacidad antioxidante (CFT, antioxidantes por DPPH, ABTS y FRAP) se evaluó por medio de un análisis de componentes principales. A partir de esta herramienta estadística se pueden construir ejes artificiales (los componentes principales) y obtener gráficos (denominados biplots) que permiten visualizar las observaciones y variables en un mismo espacio, identificando sus asociaciones. En estos gráficos los puntos indican las observaciones y las variables son graficadas como vectores desde el origen. Si la dirección de una observación se corresponde con la dirección de una variable, entonces se puede interpretar que esa observación presenta valores altos de esa variable. Por otro lado, el biplot también ofrece información sobre la relación entre las variables de acuerdo a los ángulos entre los vectores que las representan: ángulos de 90° entre dos variables indican que éstas no están correlacionadas, mientras que ángulos de 0° indican que las variables están fuertemente correlacionadas en forma positiva (de igual modo, un ángulo de 180° indica que las variables están correlacionadas de manera negativa) (Balzarini et al. 2008).

Adicionalmente se realizó un análisis discriminante lineal (LDA por sus siglas en inglés) para comprobar si es posible discriminar las muestras según su origen geográfico a partir de las variables analizadas. Este análisis permite la representación de las observaciones en un espacio en donde las diferencias entre los grupos son máximas (Balzarini et al. 2008).

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software estadístico Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La miel es considerada una importante fuente de antioxidantes con numerosas propiedades beneficiosas (Gheldof y Engeseth, 2002). Los efectos terapéuticos de la miel en muchos casos se han relacionado con la



presencia de antioxidantes, como compuestos fenólicos y flavonoides (Alvarez-Suarez et al. 2013). Otros autores, también han indicado que la capacidad antioxidante de las mieles podría estar relacionada con el contenido de minerales, ya que podrían actuar como donores de electrones (Chua et al. 2013, Sant'Ana et al. 2012).

En el presente trabajo se determinó el contenido de antioxidantes de mieles argentinas recolectadas en las distintas regiones mediante las técnicas de ABTS, DPPH y FRAP. Además se el CFT se evaluó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos se pueden observar en la **Tabla 1**.



Tabla 1. Contenido de antioxidantes y CFT en mieles argentinas medidos por distintas técnicas

	CFT (μg gálico/g)	ABTS (μg Trolox/mg)	DPPH (μg TROLX/mg)	FRAP (μg TROLX/mg)
Patagonia Andina	825,3 \pm 166,6 ^b	0,60 \pm 0,2 ^b	0,29 \pm 0,15 ^b	0,41 \pm 0,17 ^b
Buenos Aires Talar	821,5 \pm 160,2 ^b	0,35 \pm 0,2 ^a	0,27 \pm 0,12 ^{ab}	0,43 \pm 0,16 ^b
Buenos Aires Oriental	601,6 \pm 72,3 ^a	0,18 \pm 0,1 ^a	0,15 \pm 0,04 ^a	0,19 \pm 0,06 ^a
Buenos Aires Paranaense	760,2 \pm 151,6 ^{ab}	0,32 \pm 0,5 ^a	0,22 \pm 0,04 ^{ab}	0,34 \pm 0,05 ^{ab}

Supraíndices iguales en la misma columna indican que las medias no se diferencian significativamente ($P > 0,05$).

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de antioxidantes determinado por las técnicas de ABTS, FRAP y DPPH ($P \leq 0,05$). Por otro lado, el ensayo de Folin-Ciocalteu, también mostró diferencias significativas en el CFT entre mieles de distintas zonas ($P \leq 0,05$). En general el mayor contenido de antioxidantes pareciera encontrarse en las mieles de la región Andino Patagónica, mientras que las mieles de la región oriental de Buenos Aires, presentaron los menores valores.

El contenido de compuestos fenólicos fue similar al obtenido por nuestro grupo de trabajo en mieles de la provincia de Buenos Aires cosechadas en años anteriores (Patrignani et al. 2016). Por otro lado, el contenido de antioxidantes cuantificado en las mieles argentinas se comparó con valores de referencias bibliográficas. Se encontró que el contenido de compuestos fenólicos fue superior al obtenido por Beretta et al. (2005) en mieles multiflorales de Italia, pero similares (e incluso levemente inferiores) a los obtenidos en mieles portuguesas por Alves et al. (2013). Por otro lado, los resultados de Isla et al. (2011) sobre mieles del noroeste argentino, mostraron que en general esas mieles presentaban un contenido de compuestos fenólicos que no superaba los 400 mg de gálico/Kg de miel, valor muy inferior al obtenido en nuestro trabajo.

El contenido de antioxidantes determinado por la técnica de FRAP fue superior al encontrado en mieles de la provincia de Buenos Aires de cosechas anteriores (Patrignani et al. 2016) y superior a los informados en trabajos de mieles de Brasil; pero resultaron ser inferiores a mieles de México (Ruiz-Navajas et al. 2011). Por otro lado, el contenido de antioxidantes determinado por el método de DPPH fue del orden y hasta levemente superior a los valores encontrados por Kuś et al. (2014) en mieles polacas. Finalmente, al comparar los valores obtenidos con los publicados por Ciappini et al. (2013) en mieles monoflorales de trébol y eucalipto de la región Pampeana Argentina, se encontró que el contenido de antioxidantes por DPPH en las mieles analizadas en nuestro trabajo resultó ser similar a los valores obtenidos por estos autores para mieles de trébol, pero inferiores a los de mieles de eucalipto. Las mieles de la región Andino Patagónica mostraron el contenido de antioxidantes más alto utilizando la técnica de ABTS (se obtuvo un valor de antioxidantes de 0,6 μg equivalentes de Trolox/mg de miel). Para el resto de las regiones el valor osciló entre los 0,35 y 0,18 μg equivalentes de Trolox/mg de miel, sin encontrarse diferencias significativas entre los valores ($p > 0,05$). El contenido de antioxidantes cuantificado mediante esta técnica resultó muy superior a los obtenidos por Chang et al. (2011) en mieles Chinas, aunque fueron inferiores a los establecidos por Ciappini et al. (2013) para mieles monoflorales argentinas. La variabilidad del contenido de antioxidantes en mieles puede deberse a distintos factores, no sólo a su procedencia geográfica, sino también al procesamiento, la manipulación y el almacenamiento (Frankel et al. 1998). Los resultados encontrados en este trabajo indicarían que a pesar de las diferencias encontradas en muestras del mismo origen geográfico, el contenido de antioxidantes podría ser un indicador de la procedencia de las mismas, especialmente en mieles de la Patagonia Andina. Para una mejor interpretación de los resultados se evaluó la interdependencia de las variables relacionadas con la capacidad antioxidante descriptas en la bibliografía por medio de un análisis de componentes principales. El gráfico Biplot obtenido se puede observar en la **Figura 2**.



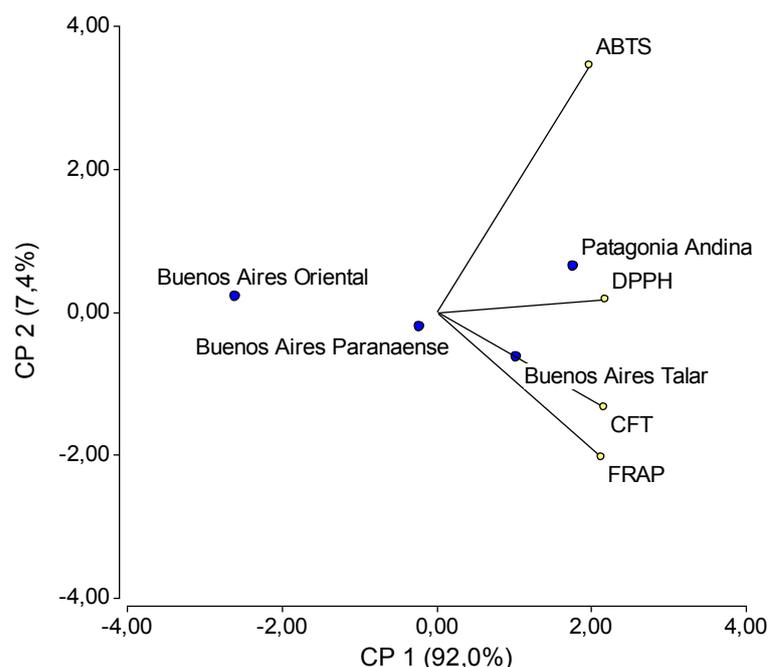


Figura 2. Biplot de componentes principales del contenido de antioxidantes (DPPH, FRAP, ABTS) y compuestos fenólicos totales (CFT) en mieles de la región de la provincia de Buenos Aires (región Oriental, Talar, Paranaense) y de la Patagonia Andina.

El componente principal 1 (CP1) concentró el 92,0% de la variabilidad, mientras que el componente principal 2 (CP2) concentró el 7,4% de la variabilidad; esto significa que con las dos primeras componentes es posible explicar el 99,4 % de la variación total. Tal como se puede ver en el Biplot las mieles de la Patagonia Andina se caracterizaron por su capacidad antioxidante determinada con la técnica de ABTS y DPPH. Mientras que las mieles de la región del Talar se caracterizaron por su contenido de compuestos fenólicos (CFT) y su poder antioxidante determinado con la técnica de FRAP.

Para evaluar la correlación entre las variables se calcularon los coeficientes de Pearson que representan una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables (Balzarini et al. 2008). La matriz de correlaciones entre variables se puede ver en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Coeficientes de correlación entre parámetros antioxidantes

	DPPH	ABTS	CFT	FRAP
DPPH	1			
ABTS	0,9	1		
CFT	0,96*	0,8	1	
FRAP	0,96*	0,75	0,99*	1

* Correlaciones significativas ($p \leq 0,05$)

Se encontraron excelentes correlaciones entre el poder antioxidante medido por las técnicas de FRAP y DPPH ($r = 0,96$; $p \leq 0,05$) a pesar de que estos dos ensayos se fundamenten en distintos mecanismos.

Además, las técnicas de DPPH y FRAP se relacionaron con el contenido de compuestos fenólicos en la muestra medidos por la técnica de Folin. Los compuestos fenólicos presentes en la miel serían capaces



entonces de actuar como antioxidantes estabilizando los radicales libres (como el DPPH), y también actuando como donores de electrones (para reducir el Fe (III) a Fe (II) en el ensayo de FRAP). Sin embargo, la capacidad antioxidante de las mieles determinada por el ensayo de ABTS no mostró una correlación significativa con el CFT. Esto estaría indicando que, los compuestos fenólicos no son los únicos responsables de la actividad antioxidante observada en las mieles. Probablemente existan otros compuestos (como pueden ser minerales) que también contribuyen a la actividad antioxidante, y que se refleja principalmente en la capacidad antioxidante medida por la técnica de ABTS.

Finalmente se utilizó un LDA para encontrar las ecuaciones que mejor discriminen entre muestras de distintas regiones. La primera dimensión (CV1) acumulaba el 71% de la varianza, mientras que la segunda dimensión (CV2) el 23 % de la misma. Las ecuaciones encontradas con las variables originales fueron las siguientes:

$$CV1 = 1,49 - 0,41 \text{ DPPH} + 14,46 \text{ ABTS} - 0,0046 \text{ CFT} - 0,43 \text{ FRAP}$$

$$CV2 = 4,25 - 1,42 \text{ DPPH} - 0,48 \text{ ABTS} + 0,0025 \text{ CFT} - 0,77 \text{ FRAP}$$

En la **Tabla 3** se puede ver la tasa de error aparente de discriminación, obtenidas al clasificar las observaciones en los posibles grupos a partir de las funciones discriminantes construidas.

Tabla 3. Tasa de error aparente en la clasificación de las muestras de miel aplicando las ecuaciones desarrolladas en el LDA

Grupo	Buenos Aires Oriental	Buenos Aires Paranaense	Buenos Aires Talar	Patagonia Andina	Total	Error(%)
Buenos Aires Oriental	6	0	0	0	6	0
Buenos Aires Paranaense	1	3	2	0	6	50
Buenos Aires Talar	0	2	4	0	6	33,33
Patagonia Andina	0	0	0	6	6	0
Total	7	5	6	6	24	20,83

331

Tal como se puede ver en la **Tabla 3**, de las cuatro regiones analizadas, las mieles de la región de Buenos Aires Oriental y Patagonia Andina podían ser bien caracterizadas por su capacidad antioxidante y CFT. Sin embargo, las mieles de la región Paranaense y Talar serían indistinguibles. Esto probablemente se deba a que la flora de ambas regiones suele ser similar debido a sus condiciones climáticas. Para confirmar esto sería necesario un análisis palinológico de las mieles.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indicarían que el contenido de antioxidantes en mieles podría ser un indicador de la procedencia geográfica de las mismas.

El análisis de componentes principales indicó que las mieles recolectadas en la Patagonia Andina se caracterizaron por contenido de antioxidantes cuantificados con la técnica de ABTS y DPPH. Mientras que las mieles de la región del Talar se caracterizaron por su contenido de compuestos fenólicos y su poder antioxidante determinado con la técnica de FRAP.

El análisis de correlación entre variables indicó que los compuestos fenólicos no son los únicos responsables de la actividad antioxidante observada en las mieles. Probablemente existan otros compuestos (como podrían ser minerales) que también contribuyen a la actividad antioxidante. Esto se refleja principalmente en la



capacidad antioxidante medida por la técnica de ABTS.

A partir del análisis discriminante lineal se pudo concluir que las mieles de la región de Buenos Aires Oriental y Patagonia Andina podían ser bien caracterizadas por su capacidad antioxidante y CFT.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez-Suarez J, Giampieri F, Battino M. 2013. Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 20: 621-638.
- Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo JA, Robledo CW. 2008. Infostat. Manual del Usuario. Córdoba, Editorial Brujas. Pág 336
- Benzie IF, Strain J J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Facino RM. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533:185-191.
- Bertha Baldi Coronel (2010). La miel. Una mirada científica. Concordia Entre Ríos, Editorial UNER. Pp 232
- Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset, C L. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28: 25-30.
- Chua LS, Rahaman NLA, Adnan NA, Eddie TT. 2013. Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-8
- Ciappini MC, Stoppani FS, Martinet R, Alvarez MB. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19: 45-51..
- da Silva PM., Gauche C, Gonzaga LV, Costa ACO, Fett R. 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
- Escuredo O, Míguez M, Fernández-González M, Seijo MC. 2013. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138: 851-856.
- Estevinho L, Pereira A P, Moreira L, Dias LG, Pereira, E. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3774-3779.
- Frankel S, Robinson G E, Berenbaum MR. 1998. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, 37: 27-31.
- Gheldof N, Engeseth N J. 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3050-3055.
- Isla MI, Craig A, Ordoñez R, Zampini C, Sayago J, Bedascarrasbure, E., ... Maldonado L. 2011. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1922-1930.
- Kuś PM, Congiu F, Teper D, Sroka Z, Jerković I, Tuberoso, C I. 2014. Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. *LWT-Food Science and Technology*, 55: 124-130.
- Patrignani M, Lupano C E, Conforti, PA. 2016. Color, cenizas y capacidad antioxidante de mieles de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 115: 77-82
- Plan estratégico apícola. 2016 [en línea] consultado el 3/02/2016. Disponible en: http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo_rural/producciones_regionales/00_origen_animal/00_apicultura/publicaciones/plan_estrategic_apicola.pdf
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26: 1231-1237.
- Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Fernandez-Lopez J, Zaldivar-Cruz J M, Kuri V, Pérez-Álvarez J Á. 2011. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *International Journal of Food Properties*, 14:



459-470.

Sant'Ana LDO, Sousa JP, Salgueiro FB, Lorenzon MCA, Castro, RN. 2012. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. *Journal of Food science*, 77:135-140.

