



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE
HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**LICENCIATURA EN ALIMENTACIÓN
SUSTENTABLE**

TESIS

**Evaluación de la capacidad antioxidante y antibacteriana de la
miel de *Apis mellifera* enriquecida con extractos de arándano,
té verde y cacao**

Para obtener el grado de
Licenciada en Alimentación Sustentable

PRESENTA

Alejandra Pérez Lugo

Director (a)

Mtra. Ana Karen Zaldivar Ortega

Codirector (a)

Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo

Asesores(as)

Mtra. Denis de Jesús Dimas López

Dra. Iridiam Hernández Soto

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., 2025.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Institute of Agricultural Sciences

Tulancingo de Bravo, Hidalgo., a 11 de septiembre de 2025
Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado a la pasante de Licenciatura en Alimentación Sustentable **Alejandra Pérez Lugo**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado **“Evaluación de la capacidad antioxidante y antibacteriana de la miel de *Apis mellifera* enriquecida con extractos de arándano, té verde y cacao”**, que después de revisarlo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión de este, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del jurado:

PRESIDENTE	Dra. Iridiam Hernández Soto
SECRETARIO	Mtra. Denis de Jesús Dimas López
VOCAL 1	Mtra. Ana Karen Zaldivar Ortega
VOCAL 2	Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo

Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”

Dra. Gabriela Medina Pérez
Coordinador de la Licenciatura en
Alimentación Sustentable



WORLD
UNIVERSITY
RANKINGS



Times
Higher
Education



Av. Universidad Km. 1, Exhacienda de
Aquetzalpa. C.P. 43600. Tulancingo, Hidalgo.
México
Teléfono: 7717172000 Ext. 2461
pelaeza@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

Agradecimientos

Antes que nada, agradezco profundamente a mis papás, Ame y Alejandro quienes me enseñaron con su ejemplo el valor del esfuerzo y la constancia. Gracias por su apoyo incondicional en cada paso de mi vida, por sus palabras de aliento y por creer en mí incluso cuando yo dudaba, este logro no es solo mío sino también de ustedes, que sin su trabajo y sacrificio nada de esto sería posible. A mis hermanas, Edith y Miriam, por ser mi red de apoyo emocional, mis mejores amigas, mis guías y mis modelos a seguir, gracias por escucharme, animarme y acompañarme en los momentos difíciles con tanto amor. A mi sobrino, Santi, que con su sonrisa, abrazos y energía me recuerda siempre que la vida está llena de cosas buenas, y que aún falta mucho por vivir y descubrir.

Agradezco también a mi directora la Maestra Ana Karen Zaldivar Ortega, así como a mi codirector y asesores, por su guía y retroalimentación a lo largo de este proceso. Su experiencia y acompañamiento fueron esenciales tanto en mi formación a lo largo de mi paso por mi instituto, como para llevar este proyecto al que le tengo tanto cariño a buen término.

Gracias a mis amigas y compañeras Lucía y Ana Laura, por las risas, los desahogos, los viajes, por su acompañamiento y consejos desde el inicio de la licenciatura hasta el término de nuestras tesis.

Finalmente quiero agradecer a Sofía, por ayudarme y explicarme con paciencia cuando no entendía algún tema o sentía que el trabajo me sobrepasaba, gracias por escucharme repetir lo mismo mil veces.

Gracias a todos por ser parte de mi vida.

"When tiring days come, remember

The power to get up again

It's in you"

— EXO, Power

"You better know

There's a world that's been waiting for you as you are"

— Red Velvet, You Better Know

Índice general

Índice de tablas	8
Índice de figuras.....	9
Resumen	10
Abstract.....	11
1. Introducción	12
2. Antecedentes	14
3. Marco teórico	16
3.1 Miel.....	16
3.2 Composición de la miel.....	17
3.2.1 Nutrientes.....	18
3.2.2 Enzimas y ácidos orgánicos	19
3.3 Producción y consumo de miel en México	19
3.4 Compuestos bioactivos de la miel.....	21
3.4.1 Compuestos fenólicos	21
3.4.2 Flavonoides.....	22
3.5 Actividades biológicas de la miel	22
3.5.1 Actividad antioxidante	22
3.5.2 Actividad antibacteriana	24
3.6 <i>Salmonella spp</i>	26
3.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.8 <i>Escherichia coli</i>	27
3.9 Arándano	27
3.9.1 Compuestos bioactivos	28
3.9.2 Actividad antioxidante	28
3.10 Té verde	29

3.10.1 Compuestos bioactivos	29
3.10.2 Actividad antioxidante.....	30
3.11 Cacao	30
3.11.1 Compuestos bioactivos	31
3.11.2 Actividad antioxidante	31
4. Planteamiento del problema.....	33
5. Justificación	35
6. Hipótesis	37
7. Objetivos	38
8. Diseño del experimento	39
9. Materiales y métodos	40
9.1 Primera etapa: Caracterización de las muestras de miel	40
9.1.1 Determinación de grados Brix	40
9.1.2 Determinación de pH	41
9.1.3 Determinación de Actividad de Agua	41
9.1.4 Determinación de Acidez Libre	41
9.1.5 Determinación de Proteína.....	42
9.1.6 Determinación de azúcares reductores	43
9.1.7 Determinación de actividad de diastasa	43
9.1.8 Determinación de hidroximetilfurfural	44
9.1.9 Color	45
9.1.10 Determinación de fenoles totales	45
9.1.11 Determinación de flavonoides	46
9.1.12 Determinación de capacidad antioxidante mediante método ABTS.....	46
9.1.13 Determinación de capacidad antioxidante mediante método DPPH	47
9.2 Segunda etapa: Enriquecimiento y análisis de las muestras seleccionadas.....	47

9.2.1 Preparación de los extractos en polvo.....	47
9.2.2 Preparación de las muestras.....	48
9.2.3 Análisis de la actividad antioxidante	49
9.2.4 Análisis antibacteriano.....	50
10. Resultados y discusión.....	52
10.1 Caracterización fisicoquímica de las muestras de miel	52
10.1.1 Contenido de sólidos solubles (°Brix)	52
10.1.2 pH	52
10.1.3 Actividad de agua.....	53
10.1.4 Humedad	53
10.1.5 Acidez libre.....	54
10.1.6 Lactona	55
10.1.7 Acidez total.....	55
10.1.8 Contenido de proteína.....	57
10.1.9 Azúcares reductores.....	58
10.1.10 Actividad de diastasa.....	59
10.1.11 Hidroximetilfurfural.....	60
10.1.12 Color	61
10.2 Contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante	64
10.2.1 Miel sin tratamiento	64
10.2.2 Extractos	68
10.2.3 Miel enriquecida	73
10.3 Actividad antibacteriana	78
10.3.1 Frente a <i>Salmonella spp.</i>	79
10.3.2 Frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	80
10.3.3 Frente a <i>Escherichia coli</i>	80
11. Conclusión	86

Referencias.....	88
Anexos.....	111

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación y codificación de las muestras de miel con adición de extractos en polvo.	49
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de miel de <i>Apis mellifera</i>	56
Tabla 3. Parámetros de color de miel de <i>Apis mellifera</i>	63
Tabla 4. Contenido total de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante de miel con extracto en polvo de arándano y té verde.	73
Tabla 5. Diámetro del halo de inhibición (mm) de miel enriquecida con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella spp.</i>	78

Índice de figuras

Figura 1. Contenido total de fenoles en muestras de miel de <i>Apis mellifera</i>	65
Figura 2. Contenido total de flavonoides en muestras de miel de <i>Apis mellifera</i>	65
Figura 3. Actividad antioxidante en muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> mediante el método ABTS.	66
Figura 4. Actividad antioxidante en muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> mediante el método DPPH.	67
Figura 5. Contenido total de fenoles en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao.	69
Figura 6. Contenido total de flavonoides en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao.....	70
Figura 7. Actividad antioxidante en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao mediante el método ABTS.	71
Figura 8. Actividad antioxidante en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao mediante el método DPPH.	72

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar muestras de miel de *Apis mellifera* y evaluar el efecto del enriquecimiento con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao sobre su contenido de compuestos bioactivos, actividad antioxidante y capacidad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* Para ello, se caracterizaron 19 muestras de miel mediante análisis fisicoquímicos y se seleccionaron tres con base en su contenido fenólico y capacidad antioxidante, las cuales fueron enriquecidas con los extractos mencionados en concentraciones de 0.5%, 1% y 1.5%. Posteriormente, se evaluó la actividad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH, y la actividad antibacteriana mediante la técnica de difusión por pozo. Los resultados mostraron que el enriquecimiento aumentó significativamente el contenido de fenoles y flavonoides, así como la actividad antioxidante de la miel. El extracto de té verde generó el mayor incremento en estos parámetros, seguido por el cacao y el arándano. Asimismo, se observó una mejora en la capacidad antibacteriana de las mieles fortificadas, especialmente frente a *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*, siendo el extracto de té verde el más efectivo. Estos hallazgos confirman que la adición de extractos naturales en polvo potencia las propiedades bioactivas de la miel, lo que refuerza su potencial para ser utilizada como alimento funcional, no solo por sus beneficios nutricionales, sino también por su capacidad mejorada para combatir el estrés oxidativo y la proliferación de bacterias patógenas, lo que podría ser aprovechado en el desarrollo de productos con aplicaciones en la industria alimentaria y de la salud.

Palabras clave: miel, *Apis mellifera*, extractos vegetales, compuestos bioactivos, actividad antioxidante, actividad antibacteriana, alimentos funcionales, enriquecimiento.

Abstract

The present study aimed to characterize *Apis mellifera* honey samples and evaluate the effect of enrichment with powdered extracts of blueberry, green tea, and cocoa on their content of bioactive compounds, antioxidant activity, and antibacterial capacity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella spp.* For this, 19 honey samples were characterized through physicochemical analyses, and three were selected based on their phenolic content and antioxidant capacity. These were enriched with the mentioned extracts at concentrations of 0.5%, 1%, and 1.5%. Antioxidant activity was subsequently evaluated using the ABTS and DPPH methods, and the antibacterial activity was assessed using the well diffusion technique. The results showed that enrichment significantly increased the phenolic and flavonoid content, as well as the antioxidant activity of the honey. The green tea extract produced the higher increase in these parameters, followed by cocoa and blueberry. Likewise, an improvement in the antibacterial capacity of the fortified honeys was observed, especially against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.*, with green tea extract being the most effective. These findings confirm that the addition of natural powdered extracts enhances the bioactive properties of honey, reinforcing its potential as a functional food not only for its nutritional benefits but also for its improved ability to combat oxidative stress and the proliferation of pathogenic bacteria, which could be exploited in the development of products for the food and health industries.

Keywords: honey, *Apis mellifera*, plant extracts, bioactive compounds, antioxidant activity, antibacterial activity, functional foods, enrichment.

1. Introducción

La miel es un producto natural elaborado por las abejas melíferas (*Apis mellifera*) a partir del néctar vegetal. Este néctar es recolectado, modificado enzimáticamente y deshidratado por las abejas dentro de los panales, donde lo almacenan hasta alcanzar su madurez (Vandamme et al., 2013). Gracias a su alto contenido de azúcares, presenta una textura viscosa y una solución sobresaturada. Durante siglos, la humanidad ha empleado la miel no solo como alimento o endulzante, sino también con fines terapéuticos en diversas culturas. Se le han atribuido propiedades beneficiosas en el tratamiento de múltiples condiciones, entre ellas infecciones respiratorias, lesiones dérmicas, alteraciones digestivas, diabetes e incluso enfermedades crónicas como el cáncer o afecciones neurológicas y cardiovasculares (Samarghandian et al., 2017). Estos efectos positivos se han relacionado con su compleja composición química, rica en compuestos con potencial bioactivo, como los polifenoles y flavonoides (Cianciosi et al., 2018). A pesar de sus múltiples beneficios, aún existen áreas poco exploradas, como su uso como base para incorporar extractos con propiedades funcionales, lo que podría abrir nuevas oportunidades en el desarrollo de alimentos con valor agregado.

Alimentos como el arándano, el té verde y el cacao se destacan por su alto contenido de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, que ayudan a neutralizar los radicales libres y prevenir enfermedades crónicas (Arteaga & Arteaga, 2016; Del Carmen García-Rodríguez et al., 2022; Ortiz et al., 2021). Además, derivado a su gran capacidad antioxidante, se ha demostrado que estos alimentos también pueden ofrecer protección contra infecciones bacterianas y fúngicas, inhibiendo el crecimiento de diversas especies patógenas (Reygaert, 2014; Baranowska & Bartoszek, 2016; Cornejal et al., 2023). Por lo tanto, la incorporación de estos extractos en la miel podría no solo aumentar sus propiedades antioxidantes, sino también mejorar su capacidad antibacteriana, ampliando su potencial uso en la industrias alimentaria y farmacéutica.

Por lo cual, la presente investigación se enfoca en evaluar las propiedades antioxidantes y antibacterianas de la miel de *Apis mellifera* enriquecida con

extractos en polvo de arándano, té verde y cacao en tres diferentes concentraciones.

2. Antecedentes

Estudios previos han explorado las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de la miel en diferentes contextos.

Seif Eldin et al. (2024) analizaron la actividad antibacteriana y antifúngica de cuatro tipos de miel de origen multifloral, así como su contenido fenólico, capacidad antioxidante y sus efectos citotóxicos. Se examinó la potencia antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*. La actividad antioxidante, el contenido total de fenoles, flavonoides y la citotoxicidad se determinaron mediante la técnica DPPH, espectrofotometría de Folin-Ciocalteu y letalidad de camarones en salmuera, respectivamente, todas las mieles evaluadas inhibieron significativamente el crecimiento de los patógenos probados, mostraron niveles altos de actividad antioxidante, el contenido total de fenoles varió de 5,75 a 67,95 mg (GAE)/100 g, mientras que el contenido general de flavonoides varió de 0,15 a 0,5 mg (QE)/100 g. Ninguno de los tipos de miel expresó efectos de citotoxicidad en las líneas celulares.

Grabek-Lejko et al. (2022) Investigaron el efecto de las frutas (concentraciones de 1 y 4%) y las hojas (concentraciones de 0,5 y 1%) de zarzamora y frambuesa en las actividades biológicas de la miel de canola. Se analizaron los extractos de miel y material vegetal en cuanto a los contenidos totales de fenoles, flavonoides y antocianinas, así como los perfiles de polifenoles mediante las técnicas HPTLC y HPLC. El potencial antiviral se analizó contra el bacteriófago phi 6, un sustituto del coronavirus, mientras que el antimicrobiano se probó contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los extractos de zarzamora fueron más abundantes en antioxidantes que los extractos de frambuesa, con mejores propiedades encontradas en las hojas que en las frutas. Añadir estos aditivos vegetales a la miel aumentó significativamente su capacidad antioxidante, incrementándola de cuatro veces (concentración de un 4% en frutas) a cinco veces (con un 1% de hojas). La miel con frutas añadidas mostró un mayor potencial antiviral en comparación con la miel de canola sin tratamiento, siendo más efectiva con un 4% de frutos de frambuesa y un 1% de hojas de zarzamora. La miel enriquecida

mostró un mayor potencial antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* que la miel de canola sin tratamiento.

En un estudio elaborado por Milek et al. (2023) se evaluó el efecto de la adición de frutas y hierbas en la bioactividad de la miel de canola. Se prepararon mieles cremosas con nueve tipos de aditivos de origen vegetal: frambuesa negra, grosella negra, fruto de espino amarillo, polvo de fruto de espino amarillo, hojas de espino amarillo, flor de saúco, polvo de manzana, escaramujo y agracejo (en concentraciones de 2% y 4% del contenido) y se analizó el contenido de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante (mediante las técnicas FRAP, DPPH y ABTS) y actividad antibacteriana contra cuatro cepas de bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Se observó un aumento significativo dependiente de la dosis en el contenido de ingredientes bioactivos y la capacidad antioxidante en mieles enriquecidas, en comparación con la miel de control. El mayor efecto se obtuvo en la adición de hojas de espino amarillo en polvo y frambuesa negra. La miel con la adición de hojas de espino amarillo inhibió el crecimiento de *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *K. pneumonia*, mientras que las mieles con frutos de frambuesa negra y grosella negra mostraron actividad solo en las dos últimas cepas. Además, la miel enriquecida con hojas de espino amarillo y frutos de frambuesa negra inhibió la formación de biopelículas de *S. aureus*.

3. Marco teórico

3.1 Miel

De acuerdo a la Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018 se define a la miel como la sustancia dulce natural producida por abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas 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 o pueda añejarse.

La apicultura se refiere a la crianza y cuidado de las abejas, a través de esta se obtienen productos como miel, jalea real, propóleo, cera y polen (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015). Para el año 2400 a.C., esta actividad ya estaba bien desarrollada en Egipto, como lo demuestra un bajorrelieve en el Templo del Sol de Ne-Woser-Re, cerca de El Cairo. En esta escena, una figura aparece soplando humo en colmenas de arcilla para calmar a las abejas, mientras que otras figuras vierten y filtran miel en recipientes de varios tamaños, para luego sellarlos (Allsop & Miller, 1996).

En nuestro país, la abeja de la miel, *Apis mellifera* (*A. mellifera*), ha adquirido una gran relevancia ecológica y social, resultado de diferentes procesos históricos que se remontan a las culturas mesoamericanas y la época colonial. *A. mellifera* fue introducida entre los años 1760 y 1770 (Negrín Muñoz & Sotelo Santos, 2016); mientras que el manejo de meliponinos, o abejas sin aguijón (*Meliponini*), ya era una actividad culturalmente significativa en los pueblos mesoamericanos (Cortés et al., 2020). Esta relación se traspasó a *A. mellifera* y aunque sustituyó en parte la función de las abejas sin aguijón, no las desplazó completamente (Villanueva-Gutiérrez et al., 2015). El éxito de esta adaptación en México se debe a que *A. mellifera* es una especie generalista, capaz de recolectar néctar, polen y resinas de una amplia variedad de plantas con flores, y a su capacidad de producir grandes cantidades de miel, lo que la ha permitido establecerse en la mayoría de los ecosistemas del país. La apicultura, a pesar

de la presencia de *A. mellifera* desde la colonia, no adquirió relevancia económica hasta mediados del siglo XX (Baena-Díaz et al., 2022).

La miel es considerada un alimento complejo, ya que sus propiedades varían según su origen botánico, el tipo de abejas que la producen, la zona geográfica y las condiciones ambientales (Wang et al., 2023). En general, contiene diversos azúcares, siendo la fructosa y la glucosa los más abundantes, junto con ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas provenientes de su recolección (Eteraf-Oskouei & Najafi, 2013). Su color puede variar desde casi transparente hasta ámbar oscuro o negro, este depende del origen botánico, la edad y las condiciones de almacenamiento, pero la transparencia o claridad depende de la cantidad de partículas suspendidas presentes en la miel, como el polen. La consistencia de la miel puede ser líquida, viscosa o cristalizada. La cristalización de la miel resulta de la formación de cristales de glucosa monohidrato, que varían en número, forma, dimensión y calidad con la composición de la miel y las condiciones de almacenamiento. Cuanto menor sea el contenido de agua y mayor el de glucosa de la miel, más rápida será la cristalización (Olaitan et al., 2007). El sabor y el aroma también difieren y dependen de la planta de la cual procede el néctar (Santacruz et al., 2016). Siendo los atributos más destacados los olores y sabores dulces, florales, afrutados, verdes y herbales (Mahmoud et al., 2024).

3.2 Composición de la miel

La miel es un producto natural extraordinariamente complejo que contiene alrededor de 180 compuestos diferentes. Entre los componentes principales se encuentran el agua, diversos azúcares, aminoácidos libres, proteínas, enzimas, minerales esenciales y vitaminas. Además, la miel alberga una variedad de fitoquímicos como compuestos fenólicos, flavonoides y ácidos orgánicos, que le otorgan sus características beneficiosas para la salud, tales como su capacidad antioxidante y antimicrobiana (Cianciosi et al., 2018). Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la composición de la miel, representando entre el

95% y 97% de su peso seco, lo que hace de la miel una fuente rápida de energía debido a la alta presencia de azúcares simples (Samarghandian et al., 2017).

3.2.1 Nutrientes

La miel es reconocida como una fuente importante de macro y micronutrientes. Su composición está dominada por carbohidratos, principalmente mono y disacáridos. Los monosacáridos, como la glucosa y la fructosa, están presentes en mayores cantidades y son los que aportan mayor valor energético a la miel. Además, estos azúcares influyen en las características físicas de la miel, como su capacidad para absorber humedad (higroscopicidad), su tendencia a cristalizar (granulación) y su viscosidad. Otros carbohidratos, presentes en menores cantidades, incluyen la maltosa, sacarosa, turanosa, isomaltosa y celobiosa (Cianciosi et al., 2018). Durante el almacenamiento, estos azúcares pueden experimentar cambios químicos. Si la miel se conserva durante un período prolongado o de manera incorrecta, pueden formarse compuestos indeseables como el 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), el cual se utiliza como un indicador para evaluar la calidad de la miel (Manyi-Loh et al., 2011).

Contiene pequeñas cantidades de proteínas, principalmente en forma de enzimas y aminoácidos libres, a excepción de la asparagina y la glutamina. El aminoácido predominante en la miel es la prolina, que representa entre el 50% y 85% del total de aminoácidos presentes en la miel, y proviene principalmente de las secreciones salivales de las abejas (*Apis mellifera*). La prolina a su vez se utiliza como un indicador clave para evaluar la calidad de la miel y también puede usarse para su caracterización en base al origen botánico (Truzzi et al., 2014). La miel también contiene otros aminoácidos, como la alanina, fenilalanina, tirosina, ácido glutámico, isoleucina y leucina (Bogdanov et al., 2008).

Contiene una cantidad variable de minerales, representando aproximadamente el 0,2% de su peso seco. Esta cantidad depende de su origen botánico, las condiciones ambientales y el procesamiento al que ha sido sometida. Entre los minerales más comunes en la miel se encuentran el potasio, calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, sodio, zinc y selenio. Además, la miel también

contiene pequeñas cantidades de vitaminas, como el ácido ascórbico (vitamina C), tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), ácido pantoténico (B5) y piridoxina (B6) (Alvarez-Suarez et al., 2013). Las vitaminas del complejo B provienen principalmente del polen, y tanto estas como la vitamina C pueden verse afectadas por el procesamiento y almacenamiento de la miel (Ciulu et al., 2011).

3.2.2 Enzimas y ácidos orgánicos

Las enzimas presentes en la miel provienen de tres fuentes principales: el néctar y las secreciones de las plantas, las abejas y las excreciones de insectos que se alimentan de plantas. Las enzimas más abundantes en la miel son la diastasa, glucosa oxidasa e invertasa, mientras que en menor cantidad se pueden encontrar catalasa, glucosilceramidasa, α -amilasa, α -glucosidasa, β -glucosidasa y proteasas. Las reacciones bioquímicas en la miel se dividen en dos tipos: aquellas catalizadas por enzimas y las no enzimáticas. Las reacciones enzimáticas en particular son conocidas por influir en la calidad de la miel y sus actividades biológicas (Alaerjani et al., 2022).

Todos los tipos de miel poseen cierta acidez, la cual varía según su origen. Esta característica se debe a la presencia de ácidos orgánicos, que no solo contribuyen al sabor de la miel, sino también a su actividad antimicrobiana y a su estabilidad. El ácido glucónico es el más predominante, aunque también se pueden encontrar otros ácidos en menor cantidad, como el cítrico, acético, fórmico, butírico, láctico, málico, succínico, tartárico y oxálico, entre otros, dependiendo de su composición (Mato et al., 2006).

3.3 Producción y consumo de miel en México

La apicultura en México tiene una importancia a nivel social, económico y ecológico. Es una de las principales actividades pecuarias que genera empleo, ingresos y divisas para los productores rurales a través de la producción de miel, cera, polen, jalea real y propóleos. Además, la apicultura desempeña un papel

crucial en el equilibrio ambiental de las zonas agrícolas del país, ya que las abejas, al alimentarse de las flores, contribuyen a la polinización, favoreciendo la fecundación y la producción de las plantas. (Chan-Chi et al., 2018)

El clima favorable en gran parte de México permite que las colonias de *Apis mellifera* se mantengan activas durante todo el año. Además, la gran diversidad de vegetación y ecosistemas en el país genera una amplia variación en la cantidad y calidad de la miel producida (Guzmán-Novoa et al., 2011). Debido a esta diversidad geográfica y a las características socioeconómicas de los productores, la apicultura en México se lleva a cabo bajo dos modalidades. La primera es la apicultura fija o sedentaria, en la cual los apiarios permanecen en un mismo lugar durante todo el año. La segunda es la apicultura de trashumancia o móvil, donde los apiarios se trasladan a diferentes ubicaciones a lo largo del año, siguiendo las floraciones que resultan de interés para el apicultor. (Chontal et al., 2019)

De acuerdo con la actualización 2024 del "Atlas Nacional de las Abejas y Derivados Apícolas", en México aproximadamente 48 mil personas se dedican a la apicultura, concentrándose principalmente en Yucatán, Campeche y Chiapas. En la última década, la producción anual de miel fue de alrededor de 59 mil toneladas, y en 2021 México se posicionó como el octavo productor a nivel mundial. La apicultura actual está presente en mayor o menor grado en los 32 estados que comprende la República Mexicana, sin embargo, los estados de Yucatán, Campeche, Jalisco y Chiapas contribuyen con más del 40% de la producción nacional de miel. Entre 2014 y 2021, los apicultores mexicanos exportaron cerca de 34.5 mil toneladas de miel al año, colocando al país entre los principales exportadores de este producto, junto con China, Nueva Zelanda y Argentina. Durante este periodo, el ingreso anual promedio por exportaciones alcanzó los 110 millones de dólares, con Estados Unidos, Alemania, Bélgica, Arabia Saudita y Reino Unido como los principales destinos. En cuanto al consumo interno, el consumo de miel per cápita anual en México varió entre 163 y 280 gramos durante el periodo de 2011 a 2022, según el Panorama Agroalimentario (Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI, 2024).

3.4 Compuestos bioactivos de la miel

Los componentes de la miel ofrecen diversas acciones beneficiosas, entre las que se incluyen propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antioxidantes, antidiabéticas, antitumorales, antiinflamatorias y anticancerígenas. Se considera que los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en la miel son los principales responsables de estas actividades biológicas. A su vez la efectividad de la miel está influenciada por la biodisponibilidad de sus distintos fitoquímicos, así como por la manera en que estos se absorben y metabolizan en el organismo (Al-Kafaween et al., 2023).

3.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias que incluyen fenol (hidroxibenceno) en su estructura, la cual puede estar conectada a estructuras aromáticas (anillos cíclicos insaturados) o alifáticas (estructuras lineales o ramificadas que no forman anillos). Son considerados el principal grupo de metabolitos secundarios en las plantas, y su presencia en los animales proviene de su consumo a través de la dieta (Creus, 2004).

Los fenoles presentes en los alimentos se dividen principalmente en fenoles simples, cumarinas, quinonas, betacianina, lignanos, lignina, ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, siendo estos tres últimos los principales compuestos fenólicos de la dieta (Becerril-Sánchez et al., 2021). Los ácidos fenólicos se distinguen por tener al menos un grupo hidroxilo en su estructura y son derivados del ácido benzoico o del ácido cinámico. Los compuestos básicos derivados del ácido benzoico incluyen los ácidos p-hidroxibenzoico, protocatecuico, gálico, siríngico, salicílico y gentísico, mientras que los derivados del ácido cinámico incluyen los ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico y sináptico (Kaurinovic & Vastag, 2019).

La miel contiene compuestos fenólicos debido a que, durante su producción, las abejas combinan sus fluidos corporales con néctares de flores o secreciones de plantas que incluyen agua, azúcares, proteínas y compuestos fenólicos (Jibril et

al., 2019). Los compuestos fenólicos más comunes en la miel son principalmente flavonoides, aunque también se encuentran cumarinas, taninos como el ácido elágico, y ácidos fenólicos como el ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido gálico y ácido p-cumárico, entre otros (Abubakar et al., 2012).

3.4.2 Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios compuestos principalmente por un anillo de benzopirona con grupos fenólicos o polifenólicos en diversas posiciones. Se encuentran mayormente en frutas, hierbas, tallos, cereales, nueces, verduras, flores y semillas, otorgando a estos alimentos sus colores distintivos, como el amarillo, rojo o azul (Ullah et al., 2020).

La clasificación más común de los flavonoides incluye flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanoles y flavanonas (Silva et al., 2021). Los flavonoides constituyen la mayor parte de los compuestos bioactivos que se encuentran en la miel, dentro de los cuales destacan quercetina, kaempferol, pinocembrina, naringenina, luteolina, apigenina, galangina, crisina, hesperidina (Abubakar et al., 2012).

3.5 Actividades biológicas de la miel

En los últimos años, ha crecido el interés en la miel debido a sus propiedades beneficiosas para la salud, que han sido ampliamente comprobadas. (Mahmoodi-Khaledi et al., 2016). Dentro de las cuales se destaca su actividad antioxidante y antibacteriana.

3.5.1 Actividad antioxidante

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, en el que predominan los agentes oxidantes. Este proceso genera

daño oxidativo que puede afectar diversas funciones fisiológicas. Los principales agentes oxidantes en las células son los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (ROS), los cuales están involucrados en el envejecimiento y en la aparición de múltiples enfermedades. Entre estas se incluyen las enfermedades cardiovasculares (ECV), la insuficiencia renal aguda y crónica, enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. También están implicados en la degeneración macular, trastornos biliares y varios tipos de cáncer. El estrés oxidativo, al generar un exceso de radicales libres, provoca daños en las células y tejidos, lo que contribuye al progreso de estas enfermedades. Además, su impacto en procesos inflamatorios y degenerativos está relacionado con la diabetes y trastornos respiratorios como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (Chandrasekaran et al., 2017).

La producción de ROS y radicales libres es un proceso fisiológico normal que ocurre durante diversas funciones metabólicas. Estos compuestos se generan principalmente en las mitocondrias durante el metabolismo aeróbico de los ácidos grasos, así como en procesos como la asimilación de fármacos y la respuesta del sistema inmune. Sin embargo, también pueden originarse por factores ambientales y hábitos de vida poco saludables, como la exposición a contaminantes, radiación ultravioleta, radiación ionizante y el estrés físico excesivo, también pueden generar radicales libres, incrementando el riesgo de daño oxidativo, lo que aumenta el riesgo de daño oxidativo en las células (Yang et al., 2013). Debido a esto, controlar la producción y acumulación de ROS se considera un factor crucial en la prevención y manejo de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

El término antioxidante se refiere a cualquier sustancia que, incluso en pequeñas cantidades, puede retrasar o prevenir la oxidación de otro compuesto. Hay varias moléculas que participan en la defensa antioxidante, las cuales pueden ser endógenas (producidas por el cuerpo) o exógenas (obtenidas a través de la dieta) (Somogyi et al., 2007).

Las investigaciones han mostrado que la miel es capaz de reducir el impacto del estrés oxidativo, ayudando en la prevención de enfermedades. Esto se debe a su habilidad para combatir sustancias como los radicales libres y especies

reactivas de oxígeno (Pérez et al., 2006). Esta capacidad está relacionada con su contenido en compuestos fenólicos, pero también de otros componentes como las enzimas, aminoácidos y carotenoides que actúan en conjunto para neutralizar los radicales libres y proteger las células (Bouayed & Bohn, 2010).

3.5.2 Actividad antibacteriana

La miel es ampliamente reconocida por su actividad antibacteriana, desde tiempos antiguos, se ha utilizado en el tratamiento y prevención de infecciones en heridas. Sin embargo, con el surgimiento de los antibióticos, su uso clínico disminuyó en la medicina occidental moderna (Kwakman & Zaat, 2011). Actualmente, la resistencia a los antibióticos está aumentando globalmente, incluso para los antibióticos que son considerados de último recurso. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que la resistencia a los antimicrobianos se produce cuando un microorganismo, como una bacteria, virus, hongo o parásito, modifica su respuesta a un medicamento, lo que hace que dicho tratamiento pierda efectividad, esta se relaciona principalmente con un uso excesivo e inadecuado de antibióticos y la transmisión de bacterias resistentes entre personas, animales y el medio ambiente (World Health Organization: WHO, 2014). Así mismo la Organización Panamericana de la Salud estableció en 2021 que *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella spp.* son algunos de los microorganismos que, en los últimos años, han mostrado niveles crecientes de resistencia a diferentes generaciones de antibióticos, lo que representa una amenaza significativa para la salud pública. Esto ha llevado a un renovado interés en la miel, debido a su potente efecto contra bacterias resistentes a los antibióticos.

La efectividad y potencia de la miel contra los microorganismos varía según el tipo de miel, lo cual depende de su origen botánico, el estado de salud de las abejas, su procedencia y el método de procesamiento utilizado. La eficacia antibacteriana de la miel puede atribuirse a su efecto osmótico, alto contenido de azúcar y bajo contenido de humedad, así como a la presencia de ácido

glucónico, que produce el antiséptico peróxido de hidrogeno. Además, ciertos compuestos presentes en la miel, como los fitoquímicos, contribuyen significativamente a sus efectos antimicrobianos (Almasaudi, 2021).

Actividad de agua, alto contenido de azúcar

En la miel, la actividad del agua es lo suficientemente baja como para impedir el crecimiento de bacterias u otros microorganismos, así mismo la miel pura y sin diluir detiene el crecimiento de bacterias por su alto contenido de azúcar. Este azúcar crea una presión que hace que el agua salga de las células bacterianas a través de un proceso llamado ósmosis. Al perder agua, las células bacterianas se deshidratan, se encogen y no pueden sobrevivir en este ambiente rico en azúcar y bajo en actividad de agua (Molan, 1992).

Acidez

La mayoría de los microorganismos crecen mejor en un pH neutro, que está entre 6.5 y 7.5. Sin embargo, la miel tiene un pH ácido, que varía entre 3.2 y 4.5, lo que la hace muy efectiva como antibacteriano. Esta acidez se debe principalmente a la presencia de ácidos orgánicos, siendo el más importante el ácido glucónico (Molan, 1992).

Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno en la miel se genera cuando el oxígeno es reducido durante la oxidación de la glucosa a ácido glucónico, un proceso catalizado por la enzima glucosa oxidasa. Esta enzima, es añadida por las abejas durante la recolección del néctar, y desempeña un papel fundamental en la producción de peróxido de hidrógeno. Este es un agente antimicrobiano efectivo que elimina microorganismos mediante un proceso de oxidación. Puede actuar de dos maneras: directamente, al dañar las paredes celulares de las bacterias, o indirectamente, al producir radicales hidroxilo, que son moléculas altamente reactivas que atacan los componentes celulares de las bacterias, como el ADN, las proteínas y los lípidos. Estos mecanismos inhiben el crecimiento y la reproducción de las bacterias, contribuyendo así a la actividad antibacteriana de la miel (Faúndez et al., 2023).

Compuestos fenólicos

Estos pueden dañar la membrana celular de las bacterias, afectando su estructura y provocando la pérdida de nutrientes esenciales, lo que finalmente lleva a la muerte de las células bacterianas. Además, los polifenoles inhiben enzimas cruciales para el crecimiento y la reproducción de las bacterias, interfiriendo en procesos vitales como la replicación del ADN y la síntesis de proteínas (Almasaudi, 2021).

3.6 *Salmonella spp*

Salmonella es un género de bacterias gramnegativas en forma de bacilo que incluye diversas especies patógenas para humanos y animales. La mayoría de sus serotipos crecen entre 5°C y 47°C. Su pH de crecimiento varía de 4 a 9, siendo óptimo entre 6.5 y 7.5. Se desarrollan bien con una actividad de agua de 0.94 a 0.99. Su crecimiento se detiene a temperaturas inferiores a 7°C, pH <3.8 y $a_w < 0.94$. Estas bacterias son responsables de infecciones gastrointestinales, conocidas como salmonelosis, que pueden variar desde diarreas leves hasta enfermedades graves como fiebre tifoidea. Se transmiten principalmente a través del consumo de alimentos o agua contaminada, y representan una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial (González Pedraza et al., 2014).

3.7 *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria grampositiva en forma de coco, es parte de la flora natural de la piel y las mucosas humanas. Sin embargo, en ciertas condiciones puede causar infecciones que van desde leves, como infecciones cutáneas, hasta graves, como neumonías, septicemias y endocarditis. *Staphylococcus aureus* crece en temperaturas entre 37°C y 45°C, con un pH entre 4.5 y 9.6, y una actividad de agua de 0.89. Su capacidad para producir varias toxinas lo convierte en un patógeno altamente versátil y peligroso. En Norteamérica y Latinoamérica, se ha descrito como la principal causa de bacteriemia nosocomial (Garzón et al., 2019).

Puede transmitirse a través del consumo de alimentos contaminados o por contaminación cruzada durante su procesamiento. Los animales enfermos también pueden ser fuente de infección, como en el caso de la mastitis en rumiantes, que puede contaminar la leche (Scali et al., 2015). Algunas cepas de *S. aureus* han desarrollado resistencia a antibióticos comunes como la penicilina, dando lugar a cepas resistentes a la meticilina, conocidas como *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, 2022).

3.8 *Escherichia coli*

Es un bacilo gramnegativo, además de ser una parte clave de la flora intestinal normal en humanos y otros mamíferos. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, pero algunas, pueden causar enfermedades como diarrea o disentería, mientras que otros causan padecimientos como infecciones urinarias, meningitis, sepsis y síndrome urémico hemolítico (Kaper et al., 2004). Esta bacteria se transmite a los humanos principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como carne molida cruda o mal cocida, leche sin pasteurizar, y hortalizas o brotes crudos contaminados. Puede crecer en un rango de temperaturas entre 7 °C y 50 °C, siendo 37 °C su temperatura óptima. Además, puede proliferar en alimentos ácidos con un pH de hasta 4.4 y en condiciones de actividad de agua mínima de 0.95 (World Health Organization: WHO, 2018).

Salmonella spp, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* han mostrado altos niveles de resistencia a múltiples antibióticos, lo que agrava su impacto en la salud pública. Este fenómeno ha aumentado la necesidad de alternativas naturales, como la miel, para combatir las infecciones causadas por estas cepas resistentes.

3.9 Arándano

También conocido como arándano azul o mora azul cuyo nombre científico es *Vaccinium corymbosum*, es una planta perteneciente al género *Vaccinium*, el cual incluye otros arbustos silvestres que producen bayas redondas y comestibles. Debido a su sabor dulce se consume en fresco y se utiliza como insumo para la preparación de productos como jaleas, purés, jugos, mermeladas, vinos, y diversos postres. En los últimos años, ha ganado popularidad por el interés en los compuestos antioxidantes presentes en sus frutos, que son beneficiosos para la salud humana. Esto ha llevado a que el arándano se convierta en la cuarta frutilla de mayor importancia económica a nivel mundial (Vargas et al., 2018).

3.9.1 Compuestos bioactivos

Los arándanos son frutos ampliamente valorados por sus beneficios para la salud, su alto contenido nutricional y su excelente aceptación sensorial. Muchos de estos beneficios se deben a la presencia de compuestos fenólicos, que desempeñan funciones biológicas importantes gracias a su capacidad para neutralizar radicales libres, lo que les otorga su efecto antioxidante. Además, tienen propiedades antialérgicas y antiinflamatorias, contribuyen a la prevención del cáncer y de enfermedades neurodegenerativas, ralentizan el envejecimiento celular, favorecen la salud cardiovascular y reducen la incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos, entre otros efectos positivos (Bedoya-Cataño et al., 2022).

3.9.2 Actividad antioxidante

Los arándanos contienen principalmente flavonoles, como la quercetina y sus derivados, además de antocianinas y proantocianidinas. También contienen compuestos no flavonoides, como los ácidos benzoico e hidroxicinámico, y sus derivados, entre los que se encuentran los ácidos: gálico, cafeico, clorogénico, p-cumárico, ferúlico y vanílico. En particular, para la especie *Vaccinium*

corymbosum, se han identificado como principales antocianinas la delfinidina y la quercetina (Bedoya-Cataño et al., 2022). Se ha encontrado que los arándanos, en comparación con otras frutas y vegetales, poseen una alta capacidad antioxidante, principalmente debido a sus elevadas concentraciones de compuestos bioactivos. En particular, de antocianinas las cuales se destacan por su estructura química, que presenta una deficiencia de electrones, lo que las hace altamente reactivas frente a los radicales libres en el cuerpo. Estas moléculas pueden donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o bien atraparlos y desplazarlos dentro de su estructura aromática, neutralizando así su efecto dañino (Zapata et al., 2014).

3.10 Té verde

El té (*Camellia sinensis*) pertenece a la familia Theaceae y se refiere específicamente al producto obtenido del procesamiento de las yemas, hojas jóvenes, pecíolos y tallos tiernos de esta especie. Ha sido utilizado durante siglos como una bebida medicinal. Originario del sur de China, su cultivo se ha expandido ampliamente en Asia y en países de África central. Existen tres tipos principales de té: negro, oolong y verde. El té verde es una bebida común en los países asiáticos, aunque su popularidad ha crecido a nivel global debido a que se le han atribuido numerosos beneficios para la salud (Hernández-Figueroa et al., 2004).

3.10.1 Compuestos bioactivos

En los últimos años, el té ha ganado mucha relevancia en la medicina preventiva, especialmente por su papel en la prevención de diversos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas y hepáticas, esto se le atribuye principalmente a su alta concentración de antioxidantes. El té verde se somete a un procesamiento mínimo para evitar la oxidación de las hojas, por lo que, a diferencia de otros tipos de té, no pasa por un proceso de fermentación, lo que hace que mantenga

la mayoría de sus compuestos bioactivos. Las hojas frescas de té contienen alrededor de un 3-4% de alcaloides, como las metilxantinas (cafeína, teobromina y teofilina). Además, el té también contiene aminoácidos característicos, como la teanina, y compuestos fenólicos (Shrivastava et al., 2018).

3.10.2 Actividad antioxidante

El té verde es conocido como un potente antioxidante por su alto contenido en compuestos fenólicos, entre estos compuestos, las catequinas son el grupo más abundante, destacando la epigallocatequina-3-galato (EGCG) como el compuesto más activo y que más contribuye a su actividad antioxidante. Además de la EGCG, el té verde contiene otras catequinas como la epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG) y epigallocatequina (EGC). Junto a las catequinas, el té verde también cuenta con una variedad de flavonoides, que refuerzan su capacidad antioxidante. Asimismo, posee ácidos fenólicos, entre los que se incluyen el ácido gálico, ácido cafeico y ácido clorogénico. En conjunto estos compuestos ejercen su acción antioxidante principalmente neutralizando los radicales libres. Las catequinas actúan donando electrones o átomos de hidrógeno a los radicales libres, estabilizándolos y evitando que dañen componentes celulares como lípidos, proteínas y el ADN. Este proceso interrumpe las reacciones en cadena que pueden llevar al estrés oxidativo y al deterioro celular (Chacko et al., 2010).

3.11 Cacao

Theobroma cacao L. es el nombre científico que recibe el árbol del cacao, planta de la familia Malvaceae. Por cacao se conocen las semillas del árbol del cacao (granos), así como el polvo que se obtiene de ellas. Ha sido un elemento central en la cultura mexicana durante siglos. En la época prehispánica, se utilizaba como moneda, remedio para diversas enfermedades, y como ingrediente principal en la preparación de bebidas ceremoniales (Secretaría De Agricultura

Y Desarrollo Rural, 2018). Con registros históricos que revelan más de 150 aplicaciones medicinales del cacao, Hernán Cortés fue quien introdujo este producto en Europa tras su llegada a Mesoamérica. Para mediados del siglo XVII, el cacao ya era utilizado en Europa tanto como un medicamento que promovía la salud y era considerado un tratamiento eficaz para una amplia variedad de enfermedades y dolencias (De Araujo et al., 2013). En la actualidad, el cacao y sus derivados son consumidos en todo el mundo por su agradable sabor y sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud (Tan et al., 2021).

3.11.1 Compuestos bioactivos

El cacao se considera un producto vegetal complejo ya que contiene más de 300 componentes diferentes, incluso en los granos tostados. Entre sus principales componentes se encuentran la manteca de cacao, que está compuesta por ácidos grasos como el oleico, esteárico y palmítico. También es rico en minerales como magnesio, potasio, hierro y zinc, contiene metilxantinas, como la teobromina y la cafeína, y otros compuestos como la tiramina y triptófano que ayuda a la producción de serotonina. Un aspecto destacado es su alto contenido de polifenoles, se considera que son los responsables de mayoría de los beneficios para la salud que se le atribuyen al cacao, como la reducción del estrés oxidativo, la mejora de la salud cardiovascular, la protección frente a la inflamación y la prevención de enfermedades neurodegenerativas (De Araujo et al., 2013).

3.11.2 Actividad antioxidante

El cacao ha sido reconocido durante mucho tiempo como un alimento con alto contenido de polifenoles. En 1909, se identificó su principal polifenol, al que se le dio el nombre "Kakaool", aunque durante más de 20 años los investigadores no estaban de acuerdo sobre el nombre exacto de este compuesto. Luego de estudios más detallados, se descubrió que este compuesto era en realidad la

catequina (Jalil & Ismail, 2008). Con el tiempo, se determinó que los granos de cacao contienen tres grupos principales de polifenoles: antocianidinas, proantocianidinas y catequinas, siendo la epicatequina el polifenol más abundante (Andújar et al., 2012). Estos compuestos son los responsables de su actividad antioxidante, ya que poseen propiedades de captura de radicales libres, quelación de metales redox-activos, promueve la actividad de enzimas antioxidantes naturales en el cuerpo, como superóxido dismutasa, y también puede eliminar de forma directa o indirecta las especies reactivas de oxígeno, protegiendo así al organismo contra el estrés oxidativo (Qu et al., 2020).

4. Planteamiento del problema

En los últimos años, la demanda de alimentos funcionales ha crecido de manera considerable, impulsada por consumidores más conscientes de la relación entre la dieta y la salud. Estos no solo satisfacen necesidades nutricionales básicas, sino que también aportan beneficios adicionales, como la prevención de enfermedades crónicas. Cuya prevalencia ha aumentado exponencialmente, y son consideradas de las principales causas de mortalidad en el país (Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI, 2024.)

Paralelamente, la creciente resistencia a los antibióticos es una de las mayores amenazas para la salud pública a nivel mundial. El uso indiscriminado de antibióticos ha dado lugar a la aparición de cepas bacterianas resistentes, lo que dificulta el tratamiento de infecciones comunes y aumenta el riesgo de complicaciones graves. Este hecho ha llevado a buscar alternativas naturales para la inhibición de bacterias patógenas, que puedan reducir la dependencia de los antibióticos sintéticos.

Dentro de este contexto la miel de *Apis mellifera* es un alimento natural ampliamente valorado por sus propiedades nutricionales y medicinales, siendo utilizada tradicionalmente como endulzante y en el tratamiento de diversas enfermedades. Estas propiedades se deben en gran medida a su composición rica en compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales contribuyen a su capacidad antioxidante y antimicrobiana. Sin embargo, a pesar de estos beneficios, la miel también enfrenta desafíos en cuestión de la maximización de su potencial funcional, específicamente en su capacidad para actuar como un vehículo de compuestos bioactivos adicionales.

Alimentos como el arándano, el té verde y el cacao son reconocidos por su alta concentración de antioxidantes y sus efectos beneficiosos en la prevención de enfermedades crónicas y en la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos. Aunque estos alimentos son comúnmente utilizados en diversos productos, incluyendo alimentos considerados funcionales, su incorporación en la miel de *Apis mellifera* para potenciar sus propiedades antioxidantes y antibacterianas no ha sido lo suficientemente investigada. Además, es primordial

establecer cómo varían estas propiedades cuando los extractos de arándano, té verde y cacao se incorporan a la miel en diferentes concentraciones, y cómo estos cambios pueden influir en su efectividad tanto desde el punto de vista antioxidante como antibacteriano.

La falta de estudios que combinen la miel de *Apis mellifera* con extractos naturales y se evalúe su capacidad antioxidante y antimicrobiana plantea la necesidad de investigación en esta área, lo que ayudaría a establecer nuevas formas de desarrollar productos funcionales que respondan a las demandas de los consumidores y puedan tener un impacto positivo en la salud pública.

5. Justificación

La prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles ha aumentado de manera considerable en todo el mundo, se estima que matan a 41 millones de personas cada año, lo que equivale al 74% de todas las muertes en el mundo, de estas las enfermedades cardiovasculares suponen la mayoría de las muertes (17,9 millones de personas cada año), seguidas del cáncer (9,3 millones), las enfermedades respiratorias crónicas (4,1 millones) y la diabetes (2,0 millones) (World Health Organization: WHO, 2023). Se ha establecido que estas enfermedades son de naturaleza multifactorial, donde los hábitos alimenticios juegan un papel determinante para su prevención o el padecimiento (Grosso, 2019). Como consecuencia, la demanda de alimentos funcionales, que no solo cumplan con las necesidades nutricionales, sino que también ofrezcan beneficios adicionales para la salud ha ido en aumento (Meléndez-Sosa et al., 2020).

La resistencia generalizada a los antibióticos es la causa de cientos de miles de muertes cada año. El principal problema es el creciente número de bacterias que han desarrollado resistencia a antibióticos de uso común, incluyendo aquellos considerados como medicamentos de último recurso (Urban-Chmiel et al., 2022). La rápida propagación de los genes de resistencia a nivel global ha intensificado la preocupación, convirtiéndose en un problema de salud pública mundial, reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2014.

La miel de *Apis mellifera* es ampliamente reconocida por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y medicinales, derivadas de su rica composición. Sin embargo, a pesar de estos atributos, su potencial para funcionar como vehículo para la adición de compuestos bioactivos no ha sido plenamente explorado.

El arándano, té verde y cacao son conocidos por su alto contenido de antioxidantes, como polifenoles y flavonoides, que han demostrado ser efectivos en la prevención de enfermedades crónicas y en la protección contra infecciones microbianas. La combinación de estos alimentos con la miel podría potenciar sus

propiedades bioactivas, creando un producto innovador con aplicaciones tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica.

Además, la incorporación de estos extractos en diferentes concentraciones permite evaluar no solo el impacto sobre las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de la miel, sino también la viabilidad de su uso en diversos productos comerciales. La capacidad de estos extractos para mejorar las propiedades de la miel podría abrir nuevas oportunidades para el desarrollo de productos funcionales que respondan a las necesidades actuales de los consumidores.

6. Hipótesis

La adición de extractos en polvo de arándano, té verde y cacao a la miel de *Apis mellifera* incrementará su capacidad antioxidante y antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, en comparación con la miel sin tratamiento; mejorando así su perfil nutricional, y proporcionando una posible alternativa natural para combatir bacterias.

7. Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la adición de extractos en polvo de arándano, té verde y cacao, mediante su incorporación a la miel de *Apis mellifera*, con el fin de determinar su influencia sobre las propiedades antioxidantes y antibacterianas del producto.

Objetivos específicos:

- Caracterizar fisicoquímicamente las muestras de miel de *Apis mellifera* provenientes de distintas regiones mediante el análisis de parámetros como °Brix, pH, actividad de agua, humedad, acidez, proteínas, azúcares, actividad de diastasa, HMF y color, con el fin de establecer su perfil composicional base.
- Cuantificar el contenido de compuestos bioactivos específicamente fenoles y flavonoides totales, así como evaluar la actividad antioxidante de las muestras de miel, mediante los métodos ABTS y DPPH, con el fin de caracterizar su potencial funcional.
- Determinar el efecto de la adición de extractos en polvo de arándano, té verde y cacao sobre el contenido de compuestos bioactivos, específicamente fenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante de la miel enriquecida, mediante los métodos ABTS y DPPH, para valorar su mejora funcional.
- Evaluar la actividad antibacteriana de las mieles enriquecidas con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao frente a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, mediante ensayos de difusión en agar por la técnica de pozo, con el fin de determinar su eficacia frente a bacterias patógenas de interés.

8. Diseño del experimento

El presente estudio se llevó a cabo bajo un diseño experimental completamente al azar, con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de extractos en polvo de arándano, té verde y cacao, en tres concentraciones distintas (0.5 %, 1.0 % y 1.5 %) sobre las propiedades bioactivas y funcionales de la miel de *Apis mellifera*.

Las muestras de miel sin tratamiento se emplearon como grupo control, mientras que las muestras tratadas se distribuyeron aleatoriamente en función del tipo de extracto y la concentración añadida, generando así un total de nueve tratamientos experimentales. Cada tratamiento se realizó por triplicado para asegurar la confiabilidad de los resultados y permitir un adecuado análisis estadístico.

Este enfoque experimental permitió evaluar de manera objetiva el efecto de los diferentes extractos y sus concentraciones sobre las propiedades bioactivas y antibacterianas de la miel.

9. Materiales y métodos

Se recolectaron diecinueve muestras de miel de *Apis Mellifera*, procedentes de los municipios Alvarado, Martínez de la Torre y Pajapan, pertenecientes al estado de Veracruz, así como del municipio Huamantla en el estado de Tlaxcala y del municipio Guadalupe Victoria localizado en el estado de Puebla, todas las muestras son de origen multifloral y se recolectaron en el año 2019, estas fueron almacenadas en tubos herméticos de 50 mL, posteriormente se llevaron al laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral en el Instituto de Ciencias Agropecuarias, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo donde fueron almacenadas a temperatura de refrigeración (entre 0 y 5°C) en condiciones de oscuridad.

El presente estudio se desarrolló en dos etapas principales, en la primera etapa se realizó la caracterización de las muestras de miel, y en la segunda etapa se llevó a cabo el enriquecimiento y análisis de las muestras.

9.1 Primera etapa: Caracterización de las muestras de miel

9.1.1 Determinación de grados Brix

El contenido de sólidos solubles (°Brix) de las muestras de miel fue determinado utilizando un refractómetro digital (modelo Smart-1, Atago, Tokio, Japón), previamente calibrado con agua destilada, siguiendo el método descrito por la AOAC en el 2005 (Association of Official Analytical Chemists por sus siglas en inglés). Se colocó aproximadamente 1 mL de muestra de miel directamente sobre la superficie del prisma del refractómetro, asegurando una distribución uniforme, después de cada medición, los valores obtenidos fueron registrados cuidadosamente. Entre cada medición, el refractómetro fue enjuagado y limpiado con agua destilada para evitar contaminación cruzada entre las muestras.

9.1.2 Determinación de pH

El pH de las muestras de miel fue determinado utilizando un potenciómetro digital (modelo HI-2211, 2012, Hanna instruments, Rumania), previamente calibrado con soluciones buffer estándar de pH 4.0 y 7.0, siguiendo el procedimiento descrito por la AOAC (2005). Para cada muestra, se pesaron exactamente 2 g de miel en un vaso de precipitado de 50 mL, y se diluyeron en 15 mL de agua. La solución se agitó manualmente o con un agitador magnético hasta lograr una mezcla homogénea. Finalmente, el electrodo del potenciómetro fue sumergido en la solución, y se registró el valor del pH una vez que la lectura se estabilizó. Entre cada medición, el electrodo fue lavado con agua destilada y secado cuidadosamente con papel absorbente para evitar contaminación entre muestras.

9.1.3 Determinación de Actividad de Agua

La actividad de agua (a_w) de las muestras de miel fue determinada utilizando un medidor de actividad de agua (modelo LabTouch-aw Novasina AG, Lachen, Suiza) previamente calibrado para garantizar la precisión de las mediciones, siguiendo las recomendaciones del fabricante y métodos estandarizados descritos por la AOAC (2005). Para el análisis, se colocaron aproximadamente 2 g de miel directamente en la cámara de medición del equipo, asegurando que la muestra cubriera completamente la superficie de medición sin burbujas de aire ni partículas externas. El sistema fue cerrado herméticamente, y se esperó hasta que las lecturas se estabilizaran. La actividad de agua de cada muestra fue registrada. Entre cada medición, la cámara del equipo fue limpiada cuidadosamente con agua destilada y secada con un paño para evitar contaminación entre muestras.

9.1.4 Determinación de Acidez

La acidez de las muestras de miel fue determinada siguiendo la metodología establecida por la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SAG/GAN-2018). Para cada análisis, se pesaron exactamente 2 g de miel en un vaso de precipitado de 50 mL y se diluyeron con 15 mL de agua destilada. La mezcla fue agitada manualmente hasta obtener una solución homogénea. La titulación se llevó a cabo en dos etapas: primero, se añadió hidróxido de sodio (NaOH) 0.05 N a la solución, gota a gota, con agitación continua, utilizando un agitador magnético. Durante el proceso, se monitoreó el pH con un potenciómetro hasta alcanzar un valor de pH 8.5, considerado el punto de neutralización. En la segunda etapa, se tituló la solución neutralizada con ácido clorhídrico (HCl) 0.05 N, siguiendo el mismo procedimiento, hasta alcanzar un valor de pH 8.3. Este punto corresponde al final del proceso de titulación. Los valores obtenidos se registraron cuidadosamente.

9.1.5 Determinación de Proteína

El contenido de proteína bruta en las muestras de miel fue determinado mediante el método Kjeldahl, con base en el método 978.04 de la AOAC (2005), que cuantifica el nitrógeno total presente en la muestra. Este método consta de tres etapas principales: digestión, destilación y titulación.

Inicialmente, se pesaron aproximadamente 2 g de miel en un matraz Kjeldahl, al que se añadieron 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) y mezcla digestora. La muestra fue calentada hasta obtener una solución clara, lo que indicó la conversión del nitrógeno orgánico en sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Posteriormente, en la etapa de destilación, al añadir hidróxido de sodio (NaOH), el sulfato de amonio se transformó en amoníaco (NH_3), cuyos vapores fueron capturados en una solución de ácido bórico. Finalmente, el contenido de nitrógeno fue determinado mediante titulación con una solución estándar de ácido clorhídrico (HCl).

El contenido de proteína bruta se calculó utilizando el factor de conversión estándar de 6.25 ($N \times 6.25$), bajo el supuesto de que el nitrógeno en las proteínas constituye aproximadamente el 16% de su peso.

9.1.6 Determinación de azúcares reductores

El contenido de azúcares reductores en las muestras de miel se determinó utilizando el método de Fehling conforme al procedimiento descrito por la AOAC (2000), con algunas modificaciones. Este método se basa en la capacidad de los azúcares reductores para reducir el cobre presente en el reactivo bajo condiciones de calentamiento. Para ello, se pesó 1 g de miel y se diluyó con agua destilada hasta alcanzar un volumen de 100 mL en un matraz volumétrico, asegurando una mezcla homogénea mediante agitación. En un matraz Erlenmeyer, se preparó una mezcla compuesta por 2.5 mL de solución Fehling A, 2.5 mL de solución Fehling B y 25 mL de agua destilada. Esta fue colocada en una parrilla con calentamiento y agitación, donde se añadieron alícuotas de la solución de miel de manera gradual hasta alcanzar el punto de reducción. Se utilizó azul de metileno al 1% como indicador visual para identificar el punto final, notable por un cambio de color en la mezcla, los valores obtenidos se anotaron cuidadosamente. Los resultados se expresaron como porcentaje de azúcares reductores (% p/p), calculado en base a la equivalencia con glucosa, considerando el volumen gastado en la reducción total del reactivo, indicando los gramos de azúcares reductores presentes por cada 100 gramos de muestra de miel.

9.1.7 Determinación de actividad de diastasa

La actividad de diastasa en las muestras de miel fue determinada siguiendo la metodología descrita en la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SAG/GAN-2018), con algunas modificaciones. Se pesaron 5 g de miel y se disolvieron en una mezcla que contenía 2.5 mL de solución amortiguadora de acetato, 10 mL de agua destilada y 1.5 mL de solución de cloruro de sodio. La solución resultante

se aforó en un matraz volumétrico de 25 mL. Posteriormente, se tomaron 10 mL de esta solución y se calentaron en un baño María a una temperatura constante de 40 °C. Una vez alcanzada la temperatura, se añadieron 5.0 mL de una solución de almidón y, tras un intervalo de reacción, se incorporaron 5 mL de una solución de yodo 0.0007 N. Finalmente, se determinó la absorbancia de la mezcla a 660 nm utilizando un espectrofotómetro, lo que permitió evaluar la actividad enzimática de la diastasa presente en la miel.

9.1.8 Determinación de hidroximetilfurfural

La determinación de hidroximetilfurfural (HMF) en las muestras de miel se realizó siguiendo la metodología establecida en la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SAG/GAN-2018), con algunas modificaciones. Para el análisis, se prepararon tres soluciones: Carrez I (15 g de ferrocianuro de potasio disueltos en 100 mL de agua destilada), Carrez II (30 g de acetato de zinc disueltos en 100 mL de agua destilada) y una solución de bisulfito de sodio (0.2 g en 100 mL de agua destilada). Posteriormente, se pesaron 5 g de miel y se disolvieron en 25 mL de agua destilada. A esta mezcla se añadieron 0.5 mL de cada solución Carrez I y Carrez II, y se llevó el volumen final a 50 mL en un matraz volumétrico. La solución resultante fue filtrada, descartando los primeros 10 mL del filtrado, y se midieron 5 mL en dos tubos de ensayo. Al primer tubo (referencia), se añadieron 5 mL de la solución de bisulfito de sodio, mientras que al segundo tubo (muestra), se agregaron 5 mL de agua destilada. Las absorbancias de ambas soluciones se midieron a 284 nm y 336 nm utilizando un espectrofotómetro. Estos valores permitieron calcular el contenido de HMF presente en las muestras de miel. Utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{HMF (mg/kg)} = (A_{284} - A_{336}) * 14.97$$

Donde A_{284} es la absorbancia medida a 284 nm, correspondiente a la longitud de onda donde el HMF presenta su máxima absorción, y A_{336} es la absorbancia a 336 nm, utilizada para corregir posibles interferencias de otros compuestos presentes en la muestra.

9.1.9 Color

El color de las muestras de miel fue determinado utilizando un colorímetro (modelo Chroma meter, CR-400, 2008, Konica Minolta, Tokio, Japón) siguiendo las instrucciones del fabricante y empleando el sistema de color CIE Lab, establecido por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE). Este sistema evalúa diferentes parámetros: L^* (luminosidad, de 0 = negro a 100 = blanco), a^* (matiz rojo-verde: valores positivos indican rojo y negativos verde), b^* (matiz amarillo-azul: positivos indican amarillo y negativos azul), así como los parámetros croma (C^*), que representa la saturación del color, y tono (h°), que indica el ángulo de matiz en el espacio de color.

Para cada medición, se colocó una cantidad uniforme de muestra de miel en la cubeta del colorímetro, asegurando que la superficie estuviera completamente cubierta y libre de burbujas o partículas que pudieran interferir con la medición. Las lecturas fueron realizadas en condiciones controladas de iluminación, y los valores obtenidos se registraron para cada muestra.

9.1.10 Determinación de fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron utilizando el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton et al. (1999), con algunas modificaciones. Para ello se preparó el extracto de miel mediante una mezcla de etanol y agua, se tomó 1 g de miel y se disolvió en 9 mL de una solución de etanol al 80%, agitando la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir que los compuestos fenólicos se disolvieran. Después de la extracción, la solución se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos para separar el sobrenadante, que contiene los fenoles, de cualquier residuo sólido presente en la miel.

Después de la extracción se tomó 0.5 mL del sobrenadante del extracto y se introdujo en un tubo de ensayo. Se le añadieron 2.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, y tras 5 minutos, se agregaron 2 mL de carbonato de sodio al 7.5%. La mezcla se dejó reposar en oscuridad durante 2 horas para permitir que la reacción completara su curso. Finalmente, se midió la absorbancia en un

espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm, utilizando agua como blanco. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de muestra (mg EAG/100 g).

9.1.11 Determinación de flavonoides

Los flavonoides totales se determinaron mediante el método colorimétrico con tricloruro de aluminio (AlCl_3), siguiendo el procedimiento descrito por Meda et al. (2005), con algunas modificaciones. Para ello, se preparó un extracto de miel mediante una solución de metanol. Posteriormente en un tubo de ensayo, se colocaron 2 mL del sobrenadante del extracto de metanol. A continuación, se añadieron 2 mL de tricloruro de aluminio al 2% disuelto en metanol. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 10 minutos para que la reacción tuviera lugar. Finalmente, se midió la absorbancia de la solución en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm, con metanol puro como blanco. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de quercetina por 100 gramos de muestra (mg EQ/100 g).

9.1.12 Determinación de capacidad antioxidante mediante método ABTS

La capacidad antioxidante mediante el radical ABTS se evaluó con base en el método descrito por Re et al. (1999), con algunas modificaciones. Se utilizó el extracto de miel previamente preparado (etanol/agua). En un tubo de ensayo, se colocaron 100 μL del sobrenadante del extracto, al cual se le añadieron inmediatamente 3 mL de la solución de radical ABTS previamente preparada. La mezcla se dejó reposar durante 2 horas en completa oscuridad, permitiendo que ocurriera la reacción entre los compuestos antioxidantes presentes en el extracto y el radical ABTS. Tras el tiempo de reposo, se midió la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 734 nm utilizando un espectrofotómetro, se utilizó etanol al 20% como blanco. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de muestra (mg EAG/100 g).

9.1.13 Determinación de capacidad antioxidante mediante método DPPH

La capacidad antioxidante mediante el método DPPH, se determinó según (Baliyan et al., 2022), con algunas modificaciones. Para ello se utilizó el extracto de miel previamente preparado (metanol). En un tubo de ensayo, 2.5 mL de la solución de radical DPPH y 0.5 mL del sobrenadante del extracto. La mezcla se dejó reposar en completa oscuridad durante 30 minutos, permitiendo que los antioxidantes presentes en el extracto reaccionaran con el radical DPPH. Transcurrido el tiempo, se midió la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 515 nm utilizando un espectrofotómetro, utilizando metanol como blanco. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos de muestra (mg EAA/100 g).

9.2 Segunda etapa: Enriquecimiento y análisis de las muestras seleccionadas

Con base en los resultados obtenidos en la caracterización de las diecinueve muestras de miel analizadas, se seleccionaron tres muestras representativas para llevar a cabo el proceso de enriquecimiento. La selección se realizó considerando específicamente su contenido de fenoles totales, flavonoides totales y su capacidad antioxidante, evaluada mediante los métodos ABTS y DPPH. Estas muestras destacaron por presentar los valores más consistentes y representativos dentro del rango observado, asegurando su idoneidad para el estudio de la incorporación de extractos en polvo de arándano, té verde y cacao.

9.2.1 Preparación de los extractos en polvo

Para la obtención de los extractos en polvo, se emplearon granos de cacao, hojas de té verde y arándanos frescos adquiridos en el mercado local de Tulancingo de Bravo en el estado de Hidalgo.

Los granos de cacao fueron tostados en un horno de secado a una temperatura de 45°C durante 20 minutos, para garantizar la eliminación de humedad y mejorar sus propiedades organolépticas. Posteriormente, se pelaron y se molieron utilizando un molino eléctrico hasta pulverizarlos, finalmente se sometieron a un tamizado para asegurar una correcta molienda.

Los arándanos frescos fueron deshidratados mediante exposición directa al sol durante siete días. Para prevenir la entrada de microorganismos y proteger los compuestos sensibles, se cubrieron con una malla oscura. Tras el proceso de deshidratación, los arándanos fueron molidos manualmente en un mortero hasta obtener un polvo fino, el cual para finalizar se sometió a un tamizado.

Las hojas de té verde se sometieron a una molienda manual con un mortero, posteriormente se pasó por un tamiz, para asegurar que el resultado fuera un polvo homogéneo listo para su incorporación.

Cada extracto fue almacenado en recipientes herméticos, hasta su uso en los ensayos experimentales.

9.2.2 Preparación de las muestras

Las tres muestras de miel de *Apis mellifera* fueron clasificadas y codificadas según el tipo de extracto que se les añadió

Muestra A: destinada al tratamiento con extracto de arándano.

Muestra C: para el tratamiento con extracto de cacao.

Muestra T: para el tratamiento con extracto de té verde.

A cada muestra de miel se le añadieron los extractos en polvo en tres diferentes concentraciones (0.5%, 1% y 1.5%) con relación a 10 gramos de miel. La adición se realizó de forma directa, y posteriormente las muestras fueron homogenizadas manualmente con una espátula hasta lograr una mezcla uniforme. De esta manera, se obtuvieron nueve muestras diferentes, las cuales fueron codificadas para su análisis posterior (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación y codificación de las muestras de miel con adición de extractos en polvo.

Código	Tipo de extracto	Concentración del extracto (%)	Descripción
A0.5	Arándano	0.5	Miel con arándano al 0.5%
A1	Arándano	1.0	Miel con arándano al 1%
A1.5	Arándano	1.5	Miel con arándano al 1.5%
C0.5	Cacao	0.5	Miel con cacao al 0.5%
C1	Cacao	1.0	Miel con cacao al 1%
C1.5	Cacao	1.5	Miel con cacao al 1.5%
T0.5	Té verde	0.5	Miel con té verde al 0.5%
T1	Té verde	1.0	Miel con té verde al 1%
T1.5	Té verde	1.5	Miel con té verde al 1.5%

A = extracto de arándano, C = extracto de cacao, T = extracto de té verde; los números indican el porcentaje de extracto añadido con respecto a 10 g de miel (0.5%, 1%, 1.5%).

Finalmente, estas fueron almacenadas en recipientes herméticos y oscuros a temperatura de refrigeración (4-6 °C) para evitar la degradación de los compuestos.

9.2.3 Análisis de la actividad antioxidante

Tanto los extractos en polvo de arándano, té verde y cacao, como las muestras de miel enriquecidas fueron analizados para determinar su contenido de fenoles totales, flavonoides totales y su capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH. Estos análisis se realizaron siguiendo los mismos procedimientos y materiales previamente descritos en la caracterización inicial de las mieles, garantizando la consistencia en la metodología y permitiendo comparabilidad de los resultados.

9.2.4 Análisis antibacteriano

Se utilizaron tres cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* Las cuáles fueron activadas siguiendo el procedimiento descrito a continuación: En un tubo con 10 mL de caldo nutritivo previamente esterilizado, se agregó una asada de cada cepa respectivamente, utilizando un asa bacteriológica estéril. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 horas. Después de este tiempo, en otro tubo con 10 mL de caldo nutritivo estéril, se añadió una nueva asada del cultivo previo y se incubó nuevamente a 37 °C durante otras 24 horas. Finalmente, se estandarizó la turbidez de los microorganismos activos a un valor de 0.5 en la escala de McFarland, siguiendo las recomendaciones de Andrews (2001), con algunas adaptaciones. Asegurando así que las concentraciones bacterianas fueran homogéneas y adecuadas para los ensayos posteriores.

La técnica de difusión en pozo fue empleada para evaluar la actividad antibacteriana de las muestras, siguiendo la metodología descrita por Hossain et al. (2022), con algunas modificaciones. Se utilizaron diferentes medios de cultivo para cada cepa bacteriana:

Agar Salmonella-Shigella para *Salmonella spp.*

Agar Mueller-Hinton para *Staphylococcus aureus*

Agar McConkey para *Escherichia coli*

Se prepararon los diferentes agares siguiendo las indicaciones del fabricante, posteriormente se vertieron en cajas Petri estériles. Una vez solidificado el agar, cada placa fue inoculada con las cepas bacterianas activas correspondientes, utilizando un asa de siembra estéril, asegurándose de cubrir uniformemente toda la superficie del agar.

En cada placa, se realizaron cinco pozos de 5 mm de diámetro utilizando un perforador estéril, y se clasificaron según el tratamiento aplicado:

1. Tratamiento con miel enriquecida al 0.5%
2. Tratamiento con miel enriquecida al 1%
3. Tratamiento con miel enriquecida al 1.5%
4. Miel sin tratamiento (control)
5. Antibiótico (control positivo)

Para evaluar la actividad antibacteriana de la miel, se utilizaron antibióticos de referencia con actividad conocida contra las bacterias analizadas. Los antibióticos seleccionados fueron sulfametoxazol y trimetoprima para *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*, mientras que ciprofloxacino fue utilizado para *Staphylococcus aureus*. La elección se debe a su amplio espectro de acción contra bacterias gramnegativas, El uso de estos antibióticos como referencia en el estudio permite contextualizar la actividad antibacteriana de la miel y comparar así su efecto inhibidor contra los tratamientos convencionales

Posteriormente, a cada pozo se le agregaron 50 µL de las muestras correspondientes, el ensayo se llevó a cabo por duplicado para garantizar la precisión de los resultados.

Las placas inoculadas se incubaron a 37°C durante 24 horas. Tras la incubación, se midió el diámetro de los halos de inhibición formados alrededor de cada pozo con ayuda de un vernier, determinando la capacidad inhibidora de cada tratamiento sobre el crecimiento de las bacterias.

10. Resultados y discusión

10.1 Caracterización fisicoquímica de las muestras de miel

El análisis de las 19 muestras de miel mostró una variabilidad en sus parámetros fisicoquímicos (Tabla 2 y Tabla 2 Continuación), reflejando diferencias en su composición y características.

10.1.1 Contenido de sólidos solubles (°Brix)

Los valores de grados Brix oscilaron en un rango de 73.13 ± 0.26 a 82.77 ± 0.02 , lo que indica variaciones en la concentración de sólidos solubles. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) y pueden estar influenciada por diversos factores, como el origen floral de la miel, las condiciones ambientales durante la recolección del néctar y el manejo postcosecha. En este caso, las mieles analizadas provienen de municipios ubicados en los estados de Veracruz (Alvarado, Martínez de la Torre y Pajapan), Tlaxcala (Huamantla) y Puebla (Guadalupe Victoria), regiones que presentan climas cálido-húmedo, semicálido y templado, así como una diversidad florística, lo cual influye en la disponibilidad y composición del néctar, afectando así parámetros como los grados Brix. Una menor concentración de sólidos solubles sugiere que ciertas mieles poseen un menor contenido de azúcares, lo que podría resultar beneficioso para consumidores que buscan opciones con un menor impacto glucémico sin comprometer las propiedades nutricionales y funcionales de la miel (González-Montemayor et al., 2019).

10.1.2 pH

El análisis de pH mostró valores que oscilaron entre 3.66 ± 0.04 y 4.65 ± 0.02 , lo que se encuentra dentro del rango característico de este producto. El pH de la miel generalmente se sitúa en un rango ácido, entre 3.0 y 4.5, lo cual se debe a

su contenido natural de ácidos orgánicos (Moyano et al., 2023). Este es un factor clave en su estabilidad e influye en sus propiedades sensoriales, afectando su sabor y percepción en boca. El pH bajo de la miel refuerza su actividad antimicrobiana al crear un ambiente poco favorable para el desarrollo de patógenos y microorganismos deteriorativos (Pascual-Maté et al., 2018).

10.1.3 Actividad de agua

Por otro lado, la actividad de agua (A_w) presentó valores entre 0.64 ± 0.00 y 0.77 ± 0.00 , lo que indica que las muestras analizadas tienen una disponibilidad de agua lo suficientemente baja como para prevenir la proliferación de la mayoría de los microorganismos. Este es un parámetro fundamental en la conservación de los alimentos, ya que determina la cantidad de agua libre disponible para reacciones químicas y crecimiento microbiano. Dado que los valores obtenidos en las muestras son inferiores al umbral de 0.87, por debajo del cual la mayoría de bacterias no pueden desarrollarse correctamente, se confirma que la miel posee una barrera natural contra la contaminación microbiológica (Lang et al., 2017). Además de este factor, conocer la actividad de agua de la miel es esencial para predecir y controlar su estabilidad durante el almacenamiento. La miel es un producto altamente higroscópico, lo que significa que puede absorber o perder humedad dependiendo de las condiciones ambientales. Si la actividad de agua de la miel es muy baja, puede cristalizar más rápidamente, mientras que una A_w más alta la hace más propensa a la fermentación por levaduras osmófilas. Por lo tanto, mantener un equilibrio adecuado en la actividad de agua es crucial para garantizar la calidad y vida útil del producto a lo largo del tiempo (Zamora et al., 2005).

10.1.4 Humedad

El contenido de humedad en las muestras de miel analizadas presentó un rango de 19.25 ± 0.48 a 24.41 ± 0.11 . La humedad es un parámetro fundamental en la

calidad de la miel, ya que influye directamente en su estabilidad, textura y vida útil. Un contenido de humedad elevado puede hacer que la miel sea más propensa a fermentación por la proliferación de levaduras osmófilas, lo que puede alterar sus propiedades organolépticas, afectando su sabor, aroma y apariencia (Jorge et al., 2019). Según la NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones, se considera que una miel en óptimas condiciones debe presentar un contenido de humedad inferior al 20%, ya que por encima de este valor aumenta el riesgo de deterioro si las condiciones de almacenamiento no son adecuadas. Esto ocurre porque, a mayor humedad, aumenta la actividad de agua, lo que facilita el desarrollo de microorganismos capaces de sobrevivir en ambientes con alto contenido de azúcares. Este fenómeno puede agravarse si la miel se expone a altos niveles de humedad ambiental debido a que es un producto higroscópico, y puede absorber agua si se expone a un ambiente con una humedad relativa superior al 60% (Crane & Visscher, 2009). Además de su impacto en la estabilidad microbiológica, la humedad también influye en la cristalización de la miel. Mieles con un contenido de humedad más bajo tienden a cristalizar más rápido, mientras que aquellas con un mayor contenido de agua se mantienen en estado líquido por más tiempo (Hamdan, 2010). En este estudio se observó que algunas muestras tienen un contenido de humedad inferior al 20%, lo que sugiere una mayor estabilidad y menor riesgo de fermentación. Sin embargo, otras muestras superaron este umbral, lo que podría hacerlas más susceptibles al crecimiento de levaduras osmófilas si no se almacenan en condiciones adecuadas, haciéndolas no aptas para su comercialización.

10.1.5 Acidez libre

El análisis de acidez libre en las muestras de miel reveló una variabilidad significativa, con valores que oscilaron entre 6.67 ± 0.58 y 22.67 ± 2.08 , lo que refleja diferencias en su composición química y en la presencia de ácidos orgánicos. La acidez en la miel está determinada principalmente por la concentración y tipo de ácidos orgánicos, como el ácido glucónico, cítrico y

málico, los cuales pueden variar dependiendo del origen botánico de la miel y las condiciones de producción (Baloš et al., 2018). Se ha establecido que valores elevados de acidez libre pueden ser indicativos de procesos fermentativos, generando ácidos adicionales como resultado del metabolismo microbiano, generando cambios en su composición y características sensoriales (Pataca et al., 2006).

10.1.6 Lactona

Por otro lado, el contenido de lactona en las muestras mostró un rango de 29.33 ± 1.53 a 55.67 ± 3.06 , lo que sugiere que algunas mieles tienen una mayor reserva de compuestos que pueden liberar acidez con el tiempo. Las lactonas actúan como una fuente de acidez potencial, ya que bajo ciertas condiciones pueden hidrolizarse y transformarse en ácidos libres, alterando el equilibrio de acidez en la miel (Fernández & Díaz, 1998). Esto puede ser relevante en términos de estabilidad, ya que mieles con un mayor contenido de lactonas pueden experimentar un incremento progresivo en su acidez libre, lo que podría influir en su actividad antimicrobiana y en sus propiedades sensoriales con el paso del tiempo (El-Wahed et al., 2023).

10.1.7 Acidez total

Finalmente, la acidez total, resultado de la suma de la acidez libre y la lactona, presentó valores que variaron entre 32.67 ± 2.08 y 78.33 ± 3.79 (Tabla 1 Continuación). Este parámetro es fundamental, ya que la acidez contribuye al sabor de la miel, a su estabilidad frente a microorganismos, a la mejora de las reacciones químicas y a su actividad antibacteriana y antioxidante (Cavia et al., 2006). Muestras con valores más elevados de acidez total pueden poseer una mayor estabilidad microbiológica, lo que podría hacerlas más resistentes al deterioro y reforzar sus propiedades bioactivas.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de miel de *Apis mellifera*.

Muestra	°Brix	Ph	Aw	Humedad (%)	Acidez libre	Lactona
1	77.28 ± 0.56 ^b	4.02 ± 0.03 ^{fg}	0.72 ± 0.00 ^{ef}	22.72 ± 0.56 ⁱ	16.67 ± 1.53 ^{fgh}	29.33 ± 1.53 ^{abc}
2	78.41 ± 0.19 ^{de}	4.18 ± 0.07 ^{ij}	0.73 ± 0.00 ^{fg}	21.59 ± 0.19 ^{fg}	10.67 ± 1.53 ^{abc}	31.67 ± 2.52 ^{bcd}
3	80.75 ± 0.48 ^h	3.86 ± 0.05 ^{cde}	0.64 ± 0.00 ^a	19.25 ± 0.48 ^c	12.33 ± 1.15 ^{cde}	31.33 ± 0.58 ^{bcd}
4	78.36 ± 0.17 ^{de}	3.77 ± 0.04 ^{abc}	0.64 ± 0.00 ^{ab}	21.64 ± 0.17 ^{fg}	16.00 ± 2.00 ^{efg}	36.00 ± 1.00 ^{cd}
5	75.59 ± 0.11 ^a	4.17 ± 0.04 ^{hij}	0.65 ± 0.01 ^{bc}	24.41 ± 0.11 ^j	10.33 ± 0.58 ^{abc}	31.00 ± 1.73 ^{bcd}
6	79.15 ± 0.08 ^f	4.65 ± 0.02 ^m	0.70 ± 0.04 ^{ef}	20.85 ± 0.08 ^e	10.33 ± 0.58 ^{abc}	37.33 ± 2.52 ^d
7	80.66 ± 0.17 ^h	4.24 ± 0.01 ^{jk}	0.76 ± 0.00 ^h	19.34 ± 0.17 ^c	14.00 ± 1.00 ^{cdef}	31.00 ± 2.00 ^{bcd}
8	77.39 ± 0.02 ^b	4.50 ± 0.04 ^l	0.77 ± 0.00 ⁱ	22.61 ± 0.02 ⁱ	15.00 ± 1.00 ^{def}	36.00 ± 2.65 ^{cd}
9	78.23 ± 0.03 ^{cd}	4.32 ± 0.02 ^k	0.77 ± 0.00 ⁱ	21.77 ± 0.03 ^{gh}	19.67 ± 1.15 ^{ghi}	36.00 ± 1.00 ^{cd}
10	79.98 ± 0.07 ^g	3.95 ± 0.04 ^{ef}	0.77 ± 0.00 ⁱ	20.02 ± 0.07 ^d	16.33 ± 0.58 ^{efgh}	23.67 ± 2.52 ^a
11	77.58 ± 0.04 ^{bc}	3.73 ± 0.04 ^{ab}	0.76 ± 0.00 ^{hi}	22.42 ± 0.04 ^{hi}	20.33 ± 1.53 ^{hi}	55.67 ± 3.06 ^e
12	73.13 ± 0.26 ^b	3.66 ± 0.04 ^a	0.76 ± 0.00 ^h	22.87 ± 0.26 ⁱ	22.67 ± 2.08 ⁱ	55.67 ± 3.06 ^e
13	82.44 ± 0.11 ^{ij}	3.72 ± 0.03 ^{ab}	0.69 ± 0.00 ^d	17.56 ± 0.11 ^{ab}	11.00 ± 1.00 ^{bcd}	30.67 ± 2.08 ^{bcd}
14	82.77 ± 0.02 ^j	4.05 ± 0.02 ^{gh}	0.65 ± 0.00 ^c	17.23 ± 0.02 ^a	7.67 ± 0.58 ^{ab}	33.33 ± 1.53 ^{cd}
15	81.89 ± 0.16 ⁱ	3.89 ± 0.06 ^{de}	0.69 ± 0.00 ^d	18.11 ± 0.16 ^b	7.00 ± 1.00 ^{ab}	34.67 ± 3.06 ^{cd}
16	80.18 ± 0.16 ^{gf}	3.82 ± 0.03 ^{bcd}	0.74 ± 0.00 ^g	19.82 ± 0.16 ^{cd}	13.00 ± 2.00 ^{cdef}	25.33 ± 3.51 ^{ab}
17	82.02 ± 0.24 ⁱ	3.85 ± 0.03 ^{cde}	0.72 ± 0.00 ^e	17.98 ± 0.24 ^b	6.67 ± 0.58 ^a	26.00 ± 2.00 ^{ab}
18	79.01 ± 0.15 ^{ef}	4.08 ± 0.04 ^{ghi}	0.73 ± 0.00 ^{fg}	20.99 ± 0.15 ^{ef}	14.00 ± 1.00 ^{cdef}	35.00 ± 1.00 ^{cd}
19	78.95 ± 0.07 ^{ef}	3.82 ± 0.06 ^{bcd}	0.75 ± 0.01 ^h	21.05 ± 0.07 ^{ef}	15.00 ± 2.00 ^{def}	31.67 ± 2.52 ^{bcd}

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Los valores en las columnas con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$, de acuerdo a la prueba de Tukey; medias seguidas de la misma letra en la columna no difieren estadísticamente.

Tabla 2 (continuación). Caracterización fisicoquímica de miel de *Apis mellifera*.

Muestra	Acidez total	Proteína	Azúcares reductores	Actividad de diastasa	HMF
1	46.00 ± 1.00 ^{bcdef}	0.35 ± 0.00 ^{ab}	58.75 ± 3.75 ^{abcde}	31.11 ± 1.92 ^e	8.6826 ± 1.01 ^{ef}
2	42.33 ± 4.04 ^{bcd}	0.26 ± 0.12 ^{ab}	54.58 ± 2.60 ^{abcd}	19.58 ± 0.72 ^{bcd}	5.29 ± 0.09 ^{ab}

3	43.67 ± 1.53 ^{bcd}	0.30 ± 0.06 ^{ab}	68.33 ± 6.41 ^{efgh}	56.67 ± 5.77 ^f	5.33 ± 0.25 ^{ab}
4	52.00 ± 1.73 ^{fg}	0.39 ± 0.06 ^{ab}	76.67 ± 0.72 ^h	29.09 ± 1.57 ^{de}	4.11 ± 0.14 ^a
5	41.33 ± 1.15 ^{bcd}	0.26 ± 0.00 ^{ab}	72.08 ± 2.60 ^{efgh}	14.76 ± 0.41 ^{abc}	5.26 ± 0.27 ^{ab}
6	47.67 ± 2.52 ^{cdef}	0.17 ± 0.00 ^a	74.58 ± 3.82 ^{gh}	29.09 ± 1.57 ^{de}	12.96 ± 0.95 ^g
7	45.00 ± 1.73 ^{bcd}	0.35 ± 0.00 ^{ab}	63.33 ± 4.39 ^{cdefg}	53.33 ± 5.77 ^f	9.12 ± 0.08 ^f
8	51.00 ± 2.00 ^{efg}	0.57 ± 0.06 ^b	75.42 ± 0.72 ^h	56.67 ± 5.77 ^f	6.76 ± 0.04 ^{cd}
9	55.67 ± 0.58 ^g	0.35 ± 0.00 ^{ab}	62.50 ± 4.51 ^{cdef}	20.48 ± 0.82 ^{cd}	9.53 ± 0.19 ^f
10	40.00 ± 2.00 ^{abc}	0.31 ± 0.06 ^{ab}	61.67 ± 9.38 ^{bcd}	56.67 ± 5.77 ^f	5.22 ± 0.04 ^{ab}
11	76.00 ± 4.58 ^h	0.30 ± 0.05 ^{ab}	52.08 ± 3.15 ^{abc}	9.68 ± 0.31 ^{ab}	5.36 ± 0.22 ^{ab}
12	78.33 ± 3.79 ^h	0.39 ± 0.06 ^{ab}	48.33 ± 2.60 ^a	6.52 ± 0.14 ^a	4.19 ± 0.07 ^a
13	41.67 ± 2.89 ^{bcd}	0.31 ± 0.06 ^{ab}	66.25 ± 0.00 ^{defgh}	27.42 ± 2.50 ^{de}	6.76 ± 0.27 ^{cd}
14	41.00 ± 1.00 ^{bc}	0.22 ± 0.31 ^{ab}	67.50 ± 3.31 ^{efgh}	53.33 ± 5.77 ^f	7.47 ± 0.37 ^{de}
15	41.67 ± 2.08 ^{bcd}	0.39 ± 0.06 ^{ab}	65.83 ± 1.91 ^{defgh}	9.68 ± 0.31 ^{ab}	7.67 ± 0.15 ^{de}
16	38.33 ± 2.89 ^{ab}	0.48 ± 0.06 ^{ab}	60.83 ± 2.60 ^{bcd}	53.33 ± 5.77 ^f	6.76 ± 0.04 ^{cd}
17	32.67 ± 2.08 ^a	0.30 ± 0.06 ^{ab}	62.50 ± 3.75 ^{cdef}	27.42 ± 2.50 ^{de}	5.39 ± 0.37 ^{ab}
18	49.00 ± 0.00 ^{defg}	0.39 ± 0.06 ^{ab}	62.50 ± 1.25 ^{cdef}	19.58 ± 0.72 ^{bcd}	12.18 ± 0.75 ^g
19	46.67 ± 4.51 ^{cdef}	0.34 ± 0.01 ^{ab}	50.42 ± 5.20 ^{ab}	9.68 ± 0.31 ^{ab}	5.61 ± 0.46 ^{bc}

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Los valores en las columnas con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$, de acuerdo a la prueba de Tukey; medias seguidas de la misma letra en la columna no difieren estadísticamente.

10.1.8 Contenido de proteína

El análisis del contenido de proteína en las muestras de miel reveló valores que oscilaron entre 0.17 ± 0.00 y 0.57 ± 0.06 , mostrando una variación mínima entre las muestras analizadas. Aunque estos niveles de proteína pueden parecer bajos en comparación con otros alimentos, en el contexto de los endulzantes, la miel representa una de las pocas fuentes que aporta proteínas en su composición, lo que la diferencia de otros como la azúcar refinada, el jarabe de maíz o los edulcorantes artificiales, que no contienen este macronutriente. El contenido de nitrógeno en la miel proviene en gran medida de pequeñas cantidades de enzimas y aminoácidos libres, se ha identificado la presencia de entre 11 y 21 aminoácidos en la miel, siendo algunos de los más abundantes la prolina, ácido

glutámico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina (Santacruz et al., 2016). De igual manera las enzimas presentes en la miel son fundamentales para su composición y se originan principalmente a partir de la actividad de las abejas durante el proceso de transformación del néctar en miel. Estas enzimas desempeñan un papel clave en la conversión de los azúcares y en la generación de algunos de los compuestos característicos de la miel. Una de las más importantes es la α -glucosidasa, encargada de descomponer la sacarosa en fructosa y glucosa, los dos principales azúcares simples que conforman la miel. Además, se encuentran otras enzimas relevantes como la glucosa oxidasa, la cual contribuye a la producción de peróxido de hidrógeno, otorgándole a la miel parte de su actividad antimicrobiana (Cianciosi et al., 2018). También se han identificado la catalasa, que regula la degradación del peróxido de hidrógeno, y la fosforilasa ácida, una enzima involucrada en la descomposición del almidón. Por otro lado, en la miel también se han identificado proteínas no enzimáticas, las cuales pueden tener origen tanto en las abejas como en las plantas de las que proviene el néctar. Estas proteínas, aunque presentes en menor cantidad, pueden desempeñar un papel en la estructura y estabilidad de la miel, además de influir en algunas de sus propiedades funcionales (García-Chaviano et al., 2022). Por lo tanto, aunque no representa una fuente significativa de proteínas en la dieta, la presencia de estos compuestos sugiere que la miel no solo actúa como un endulzante natural, sino que también puede contribuir con pequeñas cantidades de proteínas funcionales, lo que la hace una alternativa más completa en términos nutricionales.

10.1.9 Azúcares reductores

Respecto a los azúcares reductores, el contenido varió entre 48.33 ± 2.60 y 76.67 ± 0.72 , lo que evidencia diferencias significativas en la composición de carbohidratos entre las muestras analizadas. Los azúcares reductores, principalmente glucosa y fructosa, son los responsables del dulzor característico de la miel, así como de su capacidad de cristalización con el tiempo (Pataca et al., 2006). Se observó que las mieles con mayor contenido de azúcares

reductores pueden tener una mayor tendencia a cristalizar, ya que la cristalización es un proceso influenciado directamente por la concentración de glucosa. La glucosa es menos soluble en agua en comparación con la fructosa, por lo que cuando su proporción es elevada, tiende a formar cristales con el tiempo, afectando la textura y apariencia de la miel (Ma et al., 2016). Por otro lado, las muestras con valores más bajos de azúcares reductores pueden mantener una textura más fluida durante periodos prolongados, debido a una mayor proporción de fructosa, la cual es más soluble y retrasa la cristalización (Escuredo et al., 2013). Además, la relación entre glucosa y fructosa influye no solo en la cristalización, sino también en la percepción del dulzor, ya que la fructosa posee un poder edulcorante superior al de la glucosa (Hanover & White, 1993), lo que significa que mieles con mayor contenido de fructosa pueden percibirse como más dulces, aunque tengan un menor contenido total de azúcares reductores. Dado que la cristalización es un proceso natural que no afecta la calidad de la miel, pero sí su aceptación por parte de los consumidores, es importante considerar que factores como el almacenamiento y la temperatura pueden influir en la velocidad con la que ocurre este fenómeno. En condiciones frías, la cristalización se acelera, mientras que el almacenamiento a temperaturas más altas puede retrasarla, aunque un calor excesivo puede degradar algunos de sus compuestos bioactivos (Ji et al., 2022).

10.1.10 Actividad de diastasa

El análisis de la actividad de la enzima diastasa, en las muestras de miel mostró una variabilidad considerable, con valores que oscilaron entre 6.52 ± 0.14 y 56.67 ± 5.77 , lo que indica diferencias significativas en su estabilidad enzimática. La diastasa es una enzima cuya función principal es la descomposición de los almidones en azúcares simples, facilitando su aprovechamiento por las abejas y contribuyendo a la transformación del néctar en miel (Huang et al., 2019). Este parámetro es ampliamente utilizado como indicador de frescura y calidad de la miel, ya que la actividad enzimática disminuye con el almacenamiento prolongado o cuando la miel es sometida a temperaturas elevadas durante su

procesamiento (Sak-Bosnar & Sakač, 2012). En este sentido, las muestras con valores más altos de diastasa pueden considerarse más frescas y menos procesadas, lo que sugiere una menor exposición a condiciones que podrían haber afectado su integridad enzimática. Por el contrario, las muestras que presentaron valores bajos de diastasa podrían haber sufrido degradación enzimática como consecuencia de factores como el envejecimiento natural de la miel o el sobrecalentamiento durante su procesamiento. La pasteurización o almacenamiento a temperaturas elevadas puede inactivar progresivamente la diastasa, lo que reduce su actividad y, en consecuencia, puede comprometer la calidad del producto (Amariei et al., 2020). Además, la medición de la actividad de diastasa es un criterio regulado en diversas normativas internacionales, ya que permite detectar tratamientos térmicos excesivos o adulteraciones que podrían alterar las características del producto final.

10.1.11 Hidroximetilfurfural

El contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en las muestras de miel mostró valores que oscilaron entre 4.11 ± 0.14 y 12.96 ± 0.95 , lo que indica una variabilidad en su estabilidad térmica y frescura. El HMF es un compuesto que se genera a partir de la degradación térmica de los azúcares, principalmente fructosa, a través de reacciones de deshidratación y caramelización que ocurren cuando la miel es expuesta a altas temperaturas o se almacena por períodos prolongados. Debido a su formación progresiva con el paso del tiempo y bajo condiciones de temperatura elevada, el HMF es considerado un indicador clave de la frescura de la miel (Zappalà et al., 2004). Muestras con valores bajos de HMF sugieren que han sido recientemente cosechadas y no han sido sometidas a tratamientos térmicos intensivos, mientras que niveles más elevados podrían indicar procesos de envejecimiento o exposición a calor durante el procesamiento, lo que puede comprometer la calidad del producto. De acuerdo con la norma oficial mexicana para miel (NOM-004-SAG/GAN-2018), el contenido de HMF en la miel no debe superar los 40 mg/kg y 80.00 mg/kg para miel de origen declarado procedente de regiones de clima tropical, se consideran estos límites ya que niveles

excesivos pueden ser indicativos de prácticas de adulteración o deterioro del producto. En este estudio, todas las muestras analizadas presentaron valores muy por debajo de este límite, lo que confirma que no han sido sometidas a sobrecalentamiento ni han sufrido degradación significativa durante el almacenamiento

10.1.12 Color

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de color de las muestras de miel, donde se observaron diferencias significativas entre ellas, reflejando la variabilidad en su composición y origen botánico. Uno de los parámetros más relevantes es la luminosidad (L), cuyos valores oscilaron entre 17.68 ± 0.38 y 37.36 ± 0.61 , lo que confirma la presencia tanto de mieles claras como oscuras dentro del grupo analizado. Las muestras con valores más altos de L se caracterizan por una tonalidad más clara, lo cual podría estar relacionado con fuentes florales específicas, menor contenido de compuestos fenólicos o una menor presencia de pigmentos naturales. Por el contrario, las mieles con valores más bajos de L tienden a presentar una coloración más oscura, lo que sugiere una mayor concentración de compuestos bioactivos, como flavonoides y polifenoles, que pueden influir tanto en su coloración como en su actividad antioxidante y antimicrobiana (Ciappini et al., 2013).

Los parámetros a y b, que indican la tendencia del color dentro del espacio de color CIELAB, también mostraron diferencias significativas. En el caso del parámetro a, el cual representa la inclinación del color hacia el rojo (valores positivos) o el verde (valores negativos), los valores oscilaron entre 2.71 ± 0.16 y 6.70 ± 0.10 . La mayoría de las muestras presentaron valores positivos, lo que indica que predominan tonalidades dentro del espectro de color amarillo a rojo, una característica común en las mieles de *Apis mellifera* (Sohaimy et al., 2015). Valores más elevados de a pueden estar relacionados con una mayor presencia de pigmentos naturales, como flavonoides y carotenoides, los cuales no solo influyen en la tonalidad de la miel, sino que también pueden desempeñar un papel en su actividad antioxidante (Brudzynski, 2023). Por otro lado, el parámetro

b, el cual representa la intensidad del color en la escala azul-amarillo, mostró valores que oscilaron entre 1.65 ± 0.07 y 22.97 ± 0.48 , lo que indica una notable variabilidad en la coloración de las muestras analizadas. Valores más altos en este parámetro reflejan una mayor tendencia hacia tonalidades amarillas o doradas, que suelen estar relacionadas con mieles más claras y brillantes. En contraste, valores más bajos pueden estar asociados con tonalidades más pálidas o con ligeros matices verdosos, lo que puede estar influenciado por la composición floral y la presencia de ciertos compuestos fenólicos. En particular, los flavonoides y carotenoides, las condiciones de envejecimiento y almacenamiento, así como los sacáridos y el polen desempeñan un papel clave en la tonalidad amarillenta de la miel (Al-Farsi et al., 2018).

El análisis del croma (c), que representa la intensidad y saturación del color en las muestras de miel, mostró valores que oscilaron entre 4.19 ± 1.09 y 23.32 ± 0.69 , lo que evidencia una variabilidad significativa. Este parámetro es clave para determinar qué tan brillante o apagado es el tono de la miel, ya que valores más elevados reflejan una coloración más intensa y saturada, mientras que valores más bajos indican tonos más tenues u opacos (Tuberoso et al., 2013). Este parámetro puede estar influenciado por su contenido de compuestos fenólicos y polen que influyen en la coloración e intensidad de las tonalidades presentes en la miel. En este sentido, las muestras con mayor valor de croma podrían estar asociadas a una concentración más alta de estos compuestos bioactivos.

El tono o hue (h), que representa la tonalidad predominante en las muestras de miel, mostró valores entre 20.58 ± 1.01 y 79.75 ± 0.69 , reflejando una diversidad significativa en el color de las muestras analizadas. En este parámetro, valores más bajos indican una predominancia de tonalidades rojizas o anaranjadas, mientras que valores más altos sugieren una mayor inclinación hacia colores amarillos. La variabilidad en el valor de hue puede atribuirse a múltiples factores, entre los que destaca la composición química de la miel, particularmente su contenido de carotenoides y otros pigmentos naturales como xantofilas y antocianinas (Alqarni et al., 2012). Asimismo, la tonalidad observada en cada muestra está influenciada por las características del néctar de las flores de origen, ya que cada especie vegetal aporta un perfil de pigmentos diferente, que impacta directamente en el color final de la miel.

En conjunto, la variabilidad observada en los parámetros de color confirma que esta característica en la miel es un atributo complejo y multifactorial, influenciado por una amplia gama de elementos. Entre los principales se encuentran su composición química, el origen botánico del néctar recolectado por las abejas y la presencia de diversos compuestos bioactivos. Dentro de estos compuestos, destacan los fenoles y flavonoides, ampliamente reconocidos por su capacidad antioxidante y su influencia en la coloración de la miel. Sin embargo, el color también se ve influido por la presencia de pigmentos naturales, como los carotenoides o el contenido de polen, ya que los granos de polen transportados desde distintas flores pueden contribuir a la variación del color. Estos resultados también sugieren que el color de la miel podría relacionarse con su contenido de compuestos fenólicos, destacando que las mieles oscuras tienen una mayor presencia de estos, lo que abre la posibilidad de utilizar este parámetro como un indicador visual preliminar de su capacidad antioxidante.

Tabla 3. Parámetros de color de miel de *Apis mellifera*

Muestra	Color				
	L	a	b	c	H
1	27.55 ± 0.22 ^g	6.46 ± 0.26 ^{hi}	5.18 ± 0.09 ^d	8.32 ± 0.94 ^e	38.18 ± 0.94 ^c
2	30.66 ± 0.57 ⁱ	5.18 ± 1.69 ^{defg}	11.77 ± 0.31 ^{fgh}	13.52 ± 0.59 ^h	62.35 ± 0.59 ^g
3	31.44 ± 0.23 ^j	5.43 ± 0.27 ^{efg}	9.96 ± 0.08 ^e	11.36 ± 0.44 ^f	62.00 ± 0.44 ^g
4	32.56 ± 0.54 ^j	5.02 ± 0.10 ^{cdefg}	11.93 ± 0.45 ^{gh}	12.76 ± 1.19 ^{gh}	68.16 ± 1.19 ^h
5	25.31 ± 0.19 ^{def}	4.14 ± 0.11 ^{bc}	2.49 ± 0.21 ^a	12.76 ± 1.75 ^{abc}	35.13 ± 1.75 ^b
6	27.86 ± 0.44 ^g	3.53 ± 0.23 ^{ab}	4.59 ± 0.25 ^{cd}	5.62 ± 2.04 ^c	53.04 ± 2.04 ^f
7	25.05 ± 0.47 ^{cdef}	4.49 ± 0.27 ^{bcd}	5.02 ± 0.14 ^d	6.71 ± 1.23 ^d	48.96 ± 1.23 ^e
8	24.33 ± 0.17 ^c	4.37 ± 0.10 ^{bcd}	1.65 ± 0.07 ^a	4.68 ± 1.01 ^{ab}	20.58 ± 1.01 ^a
9	25.79 ± 0.53 ^f	2.71 ± 0.16 ^a	2.63 ± 0.30 ^{ab}	4.19 ± 1.09 ^a	44.39 ± 1.09 ^d
10	25.81 ± 0.22 ^f	3.75 ± 0.09 ^b	3.59 ± 0.25 ^{bc}	5.30 ± 0.81 ^{bc}	42.82 ± 0.81 ^d
11	28.93 ± 0.42 ^h	6.70 ± 0.10 ⁱ	15.93 ± 0.29 ^k	17.29 ± 1.14 ^j	67.84 ± 1.14 ^h
12	17.68 ± 0.38 ^a	5.50 ± 0.18 ^{gh}	5.08 ± 0.28 ^d	7.26 ± 0.73 ^d	42.86 ± 0.73 ^d
13	25.38 ± 0.33 ^{ef}	5.48 ± 0.08 ^{fgh}	13.59 ± 0.69 ⁱ	14.63 ± 1.02 ⁱ	68.00 ± 1.02 ^h
14	37.36 ± 0.61 ^k	4.04 ± 0.14 ^{bc}	22.97 ± 0.48 ^m	23.32 ± 0.69 ^j	79.75 ± 0.69 ^j
15	24.67 ± 0.26 ^{cde}	4.21 ± 0.30 ^{bcd}	10.85 ± 0.32 ^{ef}	11.76 ± 0.87 ^f	68.59 ± 0.87 ^h

16	23.43 ± 0.33 ^b	4.40 ± 0.21 ^{bcd}	11.70 ± 0.71 ^{fg}	13.20 ± 0.41 ^h	71.59 ± 0.41 ⁱ
17	32.95 ± 0.32 ^j	4.46 ± 0.22 ^{bcde}	14.73 ± 0.19 ^j	15.39 ± 0.64 ⁱ	73.16 ± 0.64 ⁱ
18	30.62 ± 0.29 ⁱ	4.32 ± 0.22 ^{bcd}	17.26 ± 0.72 ^l	18.62 ± 0.53 ^k	77.55 ± 0.53 ^j
19	24.47 ± 0.28 ^{cd}	4.41 ± 0.32 ^{bcd}	12.77 ± 1.00 ^{hi}	12.08 ± 3.01 ^{fg}	68.15 ± 3.01 ^h

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Los valores en las columnas con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$, de acuerdo a la prueba de Tukey; medias seguidas de la misma letra en la columna no difieren estadísticamente.

10.2 Contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante

10.2.1 Miel sin tratamiento

El contenido de compuestos fenólicos en las muestras de miel varió entre 0.52 ± 0.01 y 1.43 ± 0.22 . (Figura 1), mientras que el contenido de flavonoides osciló entre 0.01 ± 0.00 y 0.18 ± 0.01 . (Figura 2), lo que indica diferencias significativas en la composición bioactiva de las muestras. Esta variabilidad puede atribuirse, en gran medida, al origen floral de la miel, ya que se trata de un producto multifloral, con distinto origen geográfico. Las muestras analizadas fueron recolectadas en municipios de los estados de Veracruz (Alvarado, Martínez de la Torre y Pajapan), Tlaxcala (Huamantla) y Puebla (Guadalupe Victoria), lo que implica distintas condiciones ambientales y florales. Por lo que las distintas combinaciones de néctar recolectadas por las abejas pueden influir en la cantidad y el tipo de compuestos bioactivos presentes (Nayaka et al., 2020). Ya que algunas especies vegetales contienen mayores concentraciones de fenoles y flavonoides en comparación con otras.

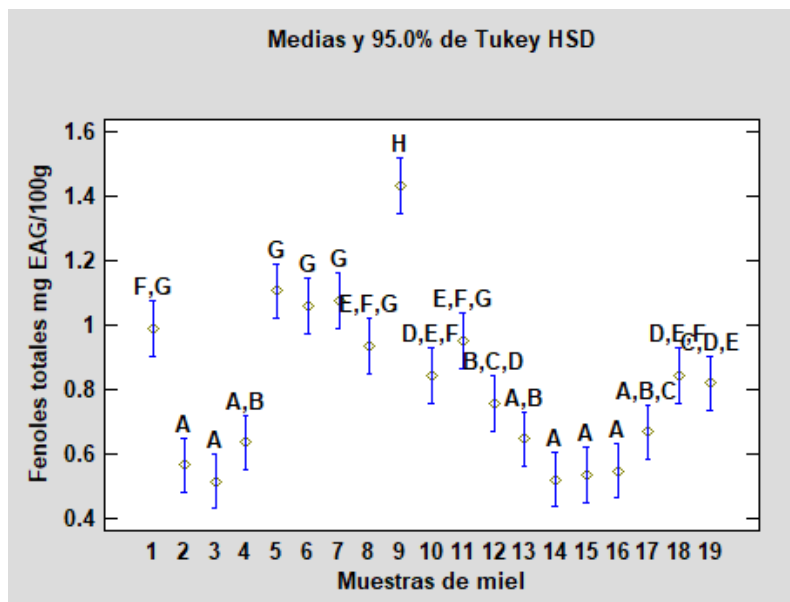


Figura 1. Contenido total de fenoles en muestras de miel de *Apis mellifera*.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar.

Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

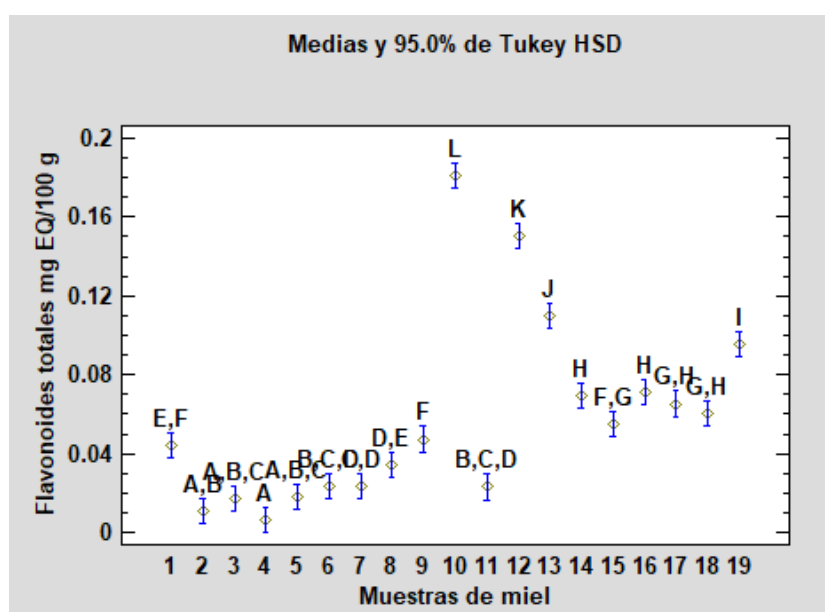


Figura 2. Contenido total de flavonoides en muestras de miel de *Apis mellifera*.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar.

Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

En cuanto a la actividad antioxidante, los valores obtenidos por el método ABTS variaron entre 0.17 ± 0.01 y 0.62 ± 0.01 (Figura 3), mientras que los resultados

obtenidos por el método DPPH oscilaron entre 0.02 ± 0.00 y 0.42 ± 0.01 (Figura 4). En términos generales, se observó una clara tendencia, las muestras con un mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides presentaron una mayor capacidad antioxidante, lo que reafirma el papel clave de estos compuestos en la neutralización de radicales libres. Esta relación concuerda con lo que ha sido documentado en diversos estudios, donde se destaca que los polifenoles presentes en la miel pueden actuar como poderosos agentes antioxidantes, ayudando a mitigar el daño celular causado por el estrés oxidativo. Además de su impacto en la actividad antioxidante, la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y otros polifenoles en la miel podría proporcionar beneficios adicionales para la salud. Ya que estos compuestos exhiben propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y protectoras frente a diversas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como trastornos cardiovasculares y neurodegenerativos (Erejuwa et al., 2012; Pasupuleti et al., 2020). Debido a estas propiedades, la miel no solo es valorada como un endulzante natural, sino también como un alimento funcional con potencial aplicación en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica, lo que resalta la importancia de continuar investigando su composición y posibles efectos sobre la salud.

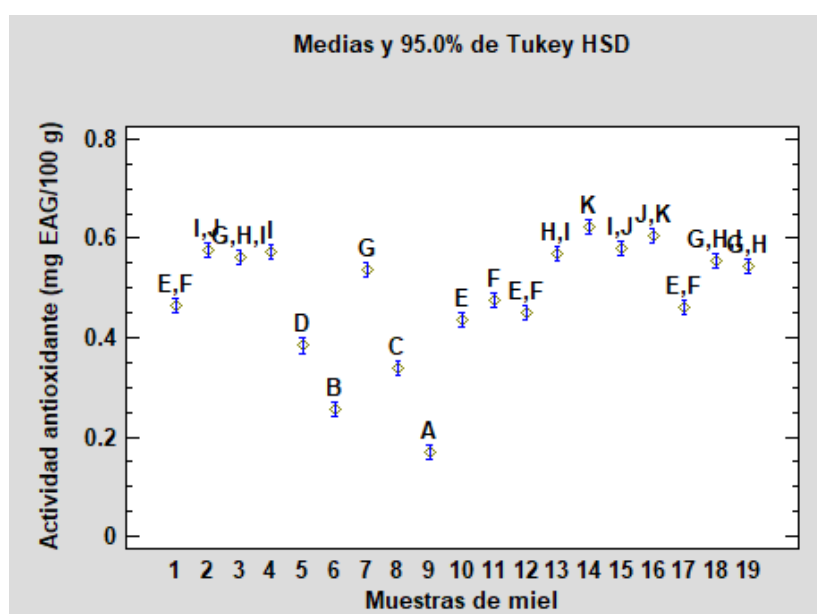


Figura 3. Actividad antioxidante en muestras de miel de *Apis mellifera* mediante el método ABTS.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

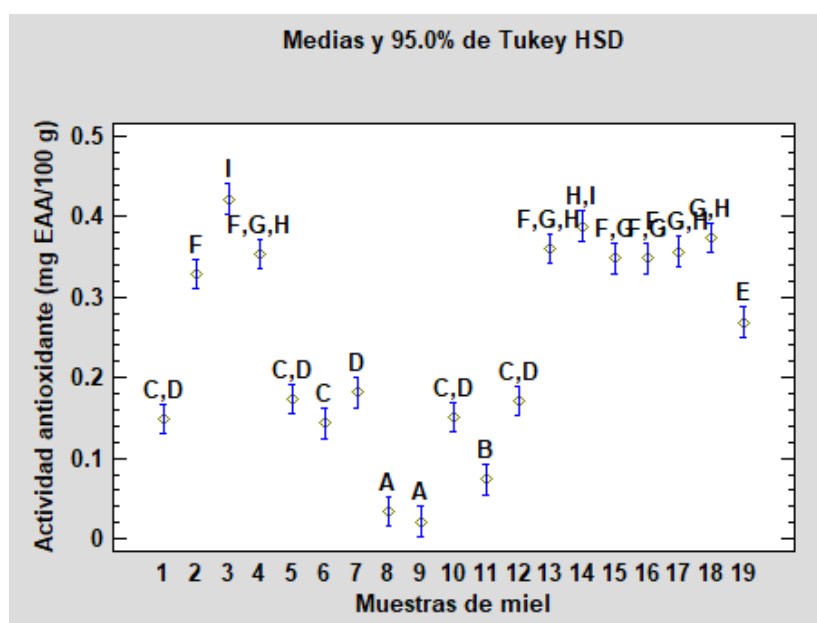


Figura 4. Actividad antioxidante en muestras de miel de *Apis mellifera* mediante el método DPPH.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

El análisis de los resultados obtenidos sugiere una correlación significativa entre los parámetros de color y la concentración de compuestos bioactivos en las muestras de miel. En particular, se observó que las mieles más oscuras, es decir, aquellas con valores más bajos de L, presentaron un mayor contenido de fenoles y flavonoides, lo que a su vez se reflejó en una mayor capacidad antioxidante. Además de este parámetro, otros componentes del color, como a y b, también parecen estar relacionados con la composición química de la miel. En particular, se observó que valores más altos de b, asociados con tonalidades más amarillas, tendieron a coincidir con un mayor contenido de flavonoides. Esto sugiere que estos compuestos no solo influyen en la bioactividad de la miel, sino también en su coloración. Por otro lado, la intensidad y saturación del color, medida a través del croma (c), también mostró una relación con la presencia de compuestos fenólicos. Esto indica que mieles con colores más saturados podrían poseer una mayor concentración de estos compuestos bioactivos. Asimismo, el parámetro hue (h) evidenció variaciones en relación con la composición fenólica de las muestras. Las mieles con valores más bajos de h, es decir, aquellas con

tonalidades rojizas o ámbar oscuro, tendieron a presentar un mayor contenido de compuestos fenólicos y una actividad antioxidante más elevada.

Esto concuerda con estudios previos que han demostrado que las mieles más oscuras tienden a contener mayores concentraciones de polifenoles y, por lo tanto, presentan un mayor potencial antioxidante en comparación con las mieles más claras (Kus et al., 2013; Karabagias et al., 2017; Becerril-Sánchez et al., 2021). En conjunto, estos resultados refuerzan la idea de que la composición de la miel influye directamente en su apariencia visual, lo que abre la posibilidad de utilizar parámetros de color como una herramienta rápida y preliminar para estimar su contenido de compuestos fenólicos y, por ende, su potencial antioxidante.

10.2.2 Extractos

Por otra parte, los extractos en polvo empleados para la fortificación de la miel presentaron diferencias significativas tanto en su contenido de compuestos bioactivos como en su capacidad antioxidante. Como se observa en la Figura 5, el extracto de té verde destacó por su elevada concentración de fenoles, registrando un valor de 89.78 ± 0.46 , lo que lo posiciona como la fuente más rica en estos compuestos entre los extractos evaluados. En segundo lugar, se ubicó el cacao, con un contenido de 29.71 ± 0.13 , seguido del arándano, que presentó una concentración de 26.77 ± 0.08 . Estos resultados son consistentes con lo reportado en la literatura, donde se ha documentado que el té verde es una de las fuentes naturales más abundantes en polifenoles, especialmente catequinas, las cuales han sido ampliamente estudiadas por su potente actividad antioxidante (Musial et al., 2020; Farhan, 2022).

En cuanto al contenido de flavonoides (Figura 6), se observó una tendencia similar, con el té verde nuevamente en la primera posición, con un valor de 0.94 ± 0.01 , seguido esta vez por el arándano (0.47 ± 0.01) y el cacao (0.39 ± 0.02). Esto sugiere que, dentro de los extractos analizados, el té verde no solo es la fuente más rica en fenoles, sino también en flavonoides, lo que refuerza su potencial como ingrediente funcional para la fortificación de alimentos. Los

polifenoles y flavonoides desempeñan un papel clave en la neutralización de radicales libres y la prevención del estrés oxidativo (Hussain et al., 2016), estos compuestos se encuentran presentes en todos los extractos, sin embargo, el té verde se perfila como el ingrediente con mayor capacidad bioactiva, mientras que el cacao y el arándano pueden aportar perfiles complementarios de compuestos antioxidantes, aumentando el potencial de la miel natural.

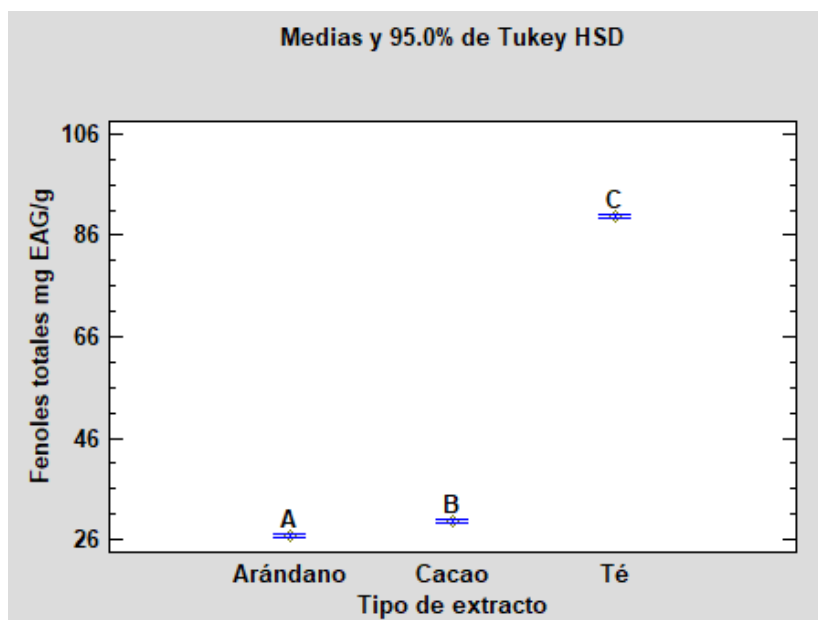


Figura 5. Contenido total de fenoles en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

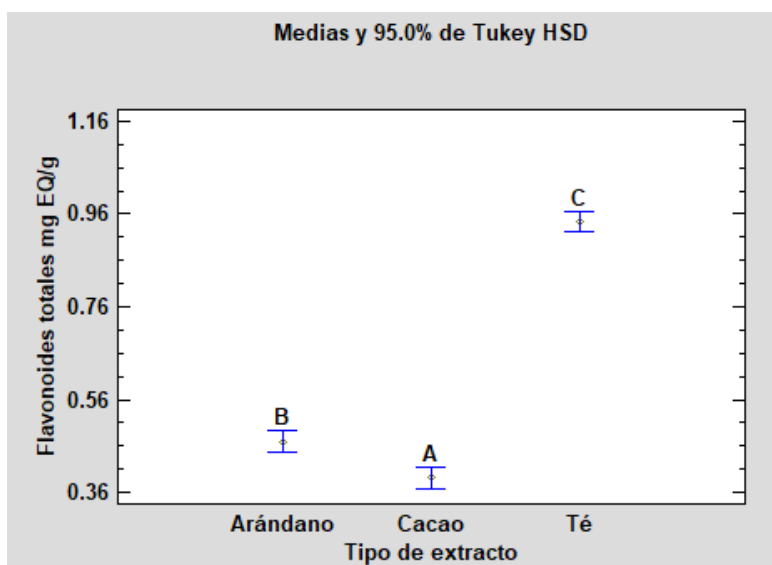


Figura 6. Contenido total de flavonoides en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

La capacidad antioxidante de los extractos en polvo fue determinada mediante los ensayos ABTS y DPPH, obteniéndose diferencias significativas entre ellos.

En el método ABTS (Figura 7), se observó que el té verde presentó la mayor actividad antioxidante, con un valor de 54.22 ± 0.19 , seguido muy de cerca por el cacao, que registró 54.09 ± 0.19 , mientras que el arándano mostró una capacidad antioxidante ligeramente menor, con 50.43 ± 0.46 . Los valores elevados obtenidos en los extractos de té verde y cacao pueden atribuirse a su alta concentración de polifenoles y flavonoides, compuestos bioactivos ampliamente reconocidos por su capacidad para neutralizar radicales libres y reducir el estrés oxidativo (Suen et al., 2016). En el caso del té verde, se ha reportado que sus catequinas poseen una gran actividad antioxidante, representan más del 75% de los compuestos polifenólicos en las hojas de té, y son eliminadores de radicales libres altamente efectivos en comparación con muchos otros antioxidantes (Bae et al., 2020), mientras que el cacao es rico en flavanoles, compuestos con efectos beneficiosos que gracias a su contenido antioxidante protegen la salud cardiovascular y neurológica (Sokolov et al., 2013). Por otro lado, aunque el arándano presentó un valor ligeramente menor en comparación con los otros dos extractos, su actividad antioxidante sigue siendo destacable, debido a su contenido en antocianinas, pigmentos naturales con potentes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Kowalczyk et al., 2024).

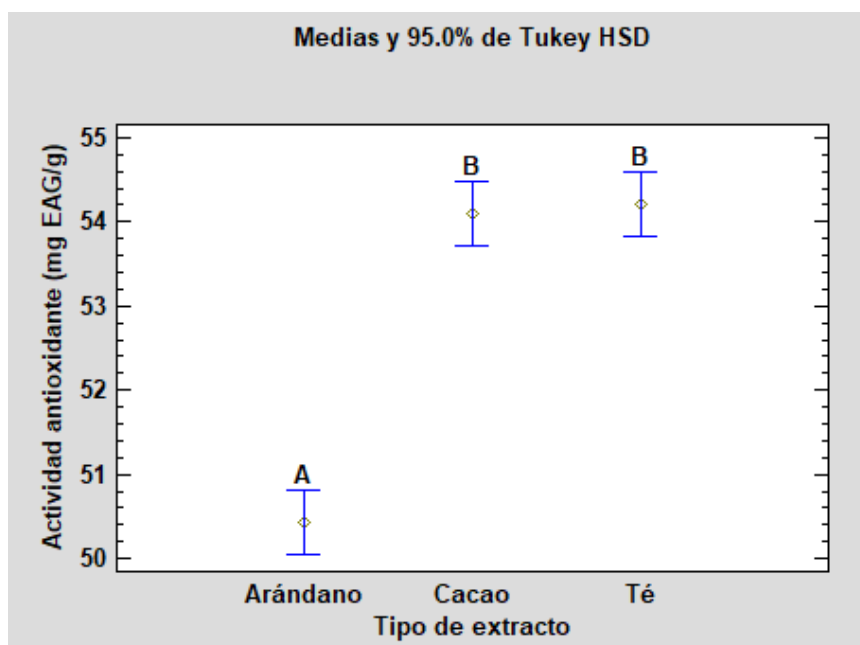


Figura 7. Actividad antioxidante en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao mediante el método ABTS.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

Al evaluar la capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH (Figura 8), se observaron resultados ligeramente distintos a los obtenidos con el método ABTS. En este caso, el extracto de arándano presentó la mayor actividad antioxidante, con un valor de 22.86 ± 0.05 , superando al té verde (21.73 ± 0.18) y al cacao (20.78 ± 0.04). Este comportamiento diferencial puede atribuirse a la estructura química y la reactividad de los compuestos fenólicos presentes en cada extracto, ya que algunos polifenoles pueden mostrar mayor afinidad o eficacia en ciertos métodos de ensayo en función de su capacidad para donar electrones, lo que diferencia un extracto de otro.

En términos generales, los resultados obtenidos confirman una relación clara entre el contenido de compuestos bioactivos analizados (fenoles y flavonoides) y la capacidad antioxidante de los extractos. Se destaca que el té verde, que presentó la mayor concentración de polifenoles en los análisis previos, también exhibió la actividad antioxidante más alta en el método ABTS. Sin embargo, el extracto de cacao, a pesar de contener menos fenoles en comparación con el té verde, mostró un nivel de actividad antioxidante similar en ABTS. Esto sugiere que la composición específica de los polifenoles en el cacao, como los flavanoles

y procianidinas, puede desempeñar un papel clave en su capacidad para neutralizar radicales libres.

Por su parte, el arándano mostró una mayor actividad antioxidante en el ensayo DPPH, lo que puede explicarse por su alto contenido de antocianinas, pigmentos naturales con una destacada capacidad para captar y estabilizar radicales libres. Estas diferencias en la respuesta antioxidante de cada extracto sugieren que su impacto en la fortificación de la miel dependerá del método de evaluación y de la composición específica de los compuestos bioactivos presentes en cada extracto.

De manera general, el té verde se posiciona como el extracto con mayor contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, seguido por el cacao y el arándano. No obstante, cada extracto posee un perfil único de polifenoles y flavonoides, lo que influye en su comportamiento en los distintos ensayos y, en consecuencia, en su potencial funcional al ser incorporado en la miel.

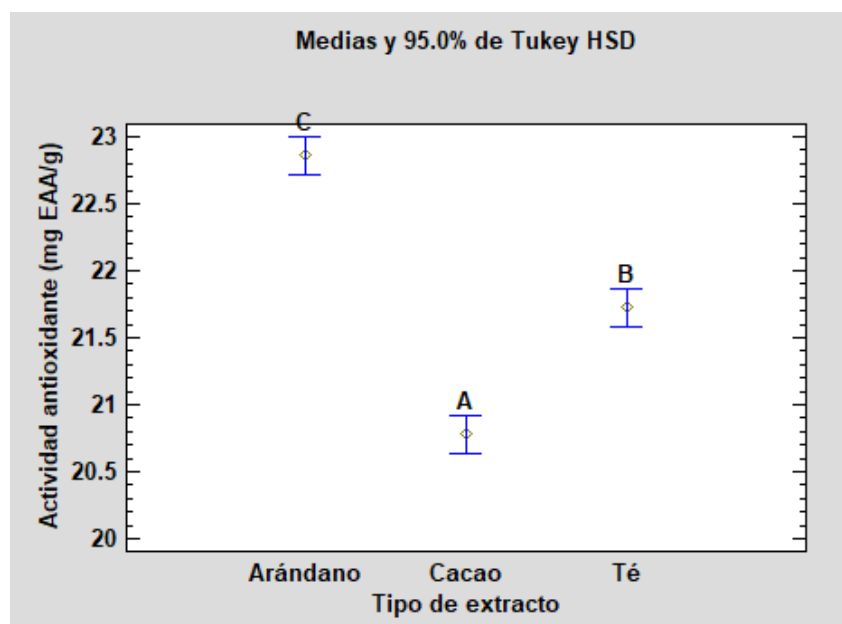


Figura 8. Actividad antioxidante en extracto en polvo de arándano, té verde y cacao mediante el método DPPH.

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

10.2.3 Miel enriquecida

A partir de los resultados obtenidos en la caracterización inicial de las muestras de miel, se identificaron diferencias en sus perfiles de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, lo que permitió seleccionar las más adecuadas para su fortificación con extractos naturales. En este sentido, se eligieron las muestras 5, 6 y 8 para su enriquecimiento con arándano, té verde y cacao, respectivamente. La selección de estas muestras se basó en criterios clave, tales como su contenido de fenoles y flavonoides, así como su capacidad antioxidante, evaluada mediante los métodos ABTS y DPPH.

Las muestras seleccionadas fueron consideradas óptimas para la fortificación, ya que presentaron un perfil adecuado que permitió evaluar de manera efectiva el impacto de los extractos, ya que, al contar con una concentración inicial relevante de polifenoles y flavonoides, estas mieles proporcionan una matriz idónea para analizar cómo la adición de los extractos influye en su actividad antioxidante y antibacteriana.

Tabla 4. Contenido total de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante de miel con extracto en polvo de arándano y té verde.

Muestra	Concentración	Fenoles	Flavonoides	ABTS	DPPH
Miel con arándano	control	1.84 ± 0.08 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	23.80 ± 1.56 ^a	22.29 ± 0.27 ^a
	0.5%	1.95 ± 0.00 ^a	0.23 ± 0.01 ^b	53.81 ± 0.07 ^b	22.98 ± 0.28 ^b
	1%	2.34 ± 0.31 ^a	0.26 ± 0.00 ^c	54.22 ± 0.07 ^b	24.38 ± 0.08 ^c
	1.5%	2.51 ± 0.05 ^b	0.30 ± 0.01 ^d	54.58 ± 0.07 ^b	24.79 ± 0.07 ^c
Miel con té verde	control	1.93 ± 0.06 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	9.66 ± 3.36 ^a	21.08 ± 0.06 ^a
	0.5%	2.33 ± 0.15 ^b	0.35 ± 0.01 ^b	53.61 ± 0.14 ^b	22.21 ± 0.08 ^b
	1%	2.60 ± 0.03 ^c	0.61 ± 0.00 ^c	53.97 ± 0.07 ^b	25.32 ± 0.04 ^c
	1.5%	4.51 ± 0.09 ^d	0.72 ± 0.00 ^d	54.42 ± 0.07 ^b	25.41 ± 0.06 ^c
Miel con	control	1.60 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	10.84 ± 1.10 ^a	14.84 ± 0.38 ^a

cacao	0.5%	2.30 ± 0.02^b	0.31 ± 0.00^b	52.79 ± 0.37^b	15.34 ± 0.12^a
	1%	2.51 ± 0.04^c	0.41 ± 0.01^c	53.97 ± 0.19^{bc}	19.47 ± 0.53^b
	1.5%	2.76 ± 0.02^d	0.56 ± 0.01^d	54.50 ± 0.12^c	24.90 ± 0.10^c

Las muestras se analizaron por triplicado, los resultados se muestran como la media $\pm$ desviación estándar. Los valores en las columnas con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

Tras la incorporación de los extractos de arándano, té verde y cacao, se observó un aumento significativo en el contenido total de fenoles y flavonoides en todas las muestras enriquecidas (Tabla 4).

En la miel fortificada con arándano, los fenoles aumentaron de 1.84 ± 0.08 en la muestra control a 2.51 ± 0.05 en la concentración más alta de 1.5%, mientras que los flavonoides incrementaron de 0.01 ± 0.00 en la miel sin tratamiento a 0.30 ± 0.01 con el 1.5% de arándano. Por su parte, la miel enriquecida con té verde mostró el mayor incremento en estos compuestos, con un aumento en el contenido de fenoles de 1.93 ± 0.06 a 4.51 ± 0.09 con el 1.5% de extracto, mientras que los flavonoides pasaron de 0.01 ± 0.00 a 0.72 ± 0.00 . En cuanto a la miel con cacao, los fenoles aumentaron de 1.60 ± 0.01 a 2.76 ± 0.02 , y los flavonoides incrementaron de 0.03 ± 0.01 a 0.56 ± 0.01 en la concentración de 1.5%.

Estos resultados confirman que la adición de extractos de origen vegetal mejora significativamente el contenido de compuestos bioactivos en la miel, con un efecto particularmente pronunciado en la muestra enriquecida con té verde, que presentó la mayor concentración de fenoles y flavonoides. El aumento en el contenido de fenoles y flavonoides observado en las muestras fortificadas concuerda con estudios previos que han reportado una mejora en la actividad bioactiva de la miel tras su combinación con ingredientes ricos en polifenoles (Guldás et al., 2021; Milek et al., 2021; Milek et al., 2023). En este sentido, la miel enriquecida con té verde mostró el mayor incremento en estos compuestos, esto concuerda con los análisis previos que mostraron al té verde como el extracto con mayor potencial antioxidante, debido a su contenido de catequinas, un tipo de flavonoide con potente actividad antioxidante. El cacao y el arándano también contribuyeron a aumentar los compuestos bioactivos en la miel, aunque en

menor medida que el té verde. El arándano, rico en antocianinas, mostró un impacto moderado en la concentración de fenoles y flavonoides, pero su contribución a la actividad antioxidante podría depender de la estabilidad de estos compuestos en la matriz de la miel. Cabe destacar que el incremento en los compuestos bioactivos sugiere que la miel fortificada con estos extractos no solo mantiene, sino que potencia sus propiedades funcionales, lo que podría traducirse en un mayor potencial antioxidante.

La actividad antioxidante de las muestras de miel se determinó mediante los métodos ABTS y DPPH, reflejando un incremento significativo tras la adición de los extractos de arándano, té verde y cacao, aunque con algunas diferencias en la respuesta de cada extracto.

En la prueba ABTS, la miel enriquecida con té verde mostró el mayor incremento en la capacidad antioxidante, pasando de 9.66 ± 3.36 en la muestra control a 54.42 ± 0.07 en la concentración más alta de 1.5%. La miel con arándano también experimentó un aumento, pasando de 23.80 ± 1.56 en la muestra sin tratamiento a 54.58 ± 0.07 con 1.5% de extracto. Por otro lado, la miel enriquecida con cacao mostró un incremento de 10.84 ± 1.10 en la miel sin tratamiento a 54.50 ± 0.12 en la concentración más alta, evidenciando que el extracto de cacao también contribuye a mejorar la actividad antioxidante de la miel. Estos resultados indican que, aunque la miel enriquecida con té verde partía de un valor inicial más bajo en la muestra control, su aumento fue el más pronunciado, lo que sugiere que los compuestos presentes en el té verde pueden ser altamente efectivos en la neutralización de radicales libres en este método.

En el ensayo DPPH, también se observó un incremento significativo en la capacidad antioxidante de la miel con la adición de los extractos, aunque con un comportamiento ligeramente diferente. La miel con arándano mostró una mejora menos pronunciada, pasando de 22.29 ± 0.27 en la muestra control a 24.79 ± 0.07 en la concentración más alta. La miel enriquecida con té verde presentó un aumento más marcado, partiendo de 21.08 ± 0.06 en la muestra sin tratamiento y alcanzando 25.41 ± 0.06 con 1.5% de extracto. Sin embargo, la mayor variabilidad se observó en la miel con cacao, cuyo valor inicial fue considerablemente más bajo (14.84 ± 0.38 en la muestra control), pero que

experimentó el mayor incremento, alcanzando 24.90 ± 0.10 en la concentración más alta.

Las diferencias en la respuesta de los extractos en cada ensayo pueden atribuirse a la naturaleza de los compuestos fenólicos y su interacción con los radicales libres específicos detectados en cada método. El ensayo ABTS, que mide la capacidad de los antioxidantes para neutralizar radicales catiónicos, mostró que todos los extractos son altamente efectivos en aumentar la actividad antioxidante de la miel, con valores finales muy similares en la concentración más alta. En cambio, en el ensayo DPPH, que evalúa la capacidad de los antioxidantes para donar electrones y estabilizar radicales libres, la respuesta fue más variable. La miel con cacao, que inicialmente tenía la menor capacidad antioxidante en DPPH, experimentó un incremento notable, lo que sugiere que los compuestos específicos del cacao podrían ser particularmente efectivos en este tipo de interacción.

El enriquecimiento con extractos de arándano, té verde y cacao demostró ser una estrategia efectiva para mejorar la actividad antioxidante de la miel. El té verde se destacó en el ensayo ABTS, mientras que en DPPH la miel con cacao mostró el mayor incremento. Estas diferencias refuerzan la idea de que la composición química de cada extracto influye en su comportamiento antioxidante y su interacción con los distintos tipos de radicales libres, lo que podría tener implicaciones importantes para su aplicación en productos funcionales y su potencial beneficio para la salud.

De manera general los tres extractos lograron mejorar significativamente el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de la miel, aunque con algunas diferencias. La miel con té verde mostró el mayor incremento en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante mediante el método ABTS, lo que confirma que este extracto es una fuente excepcional de compuestos bioactivos con alta reactividad frente a radicales libres. La miel con arándano también presentó un incremento significativo, lo que puede estar relacionado con la presencia de antocianinas en el extracto de arándano. En el caso de la miel con cacao, aunque mostró un incremento menor en comparación con el té verde y el arándano, obtuvo una mejora notable en la actividad

antioxidante por el método DPPH, lo que indica que su perfil de compuestos fenólicos contribuye significativamente a la neutralización de radicales libres.

Este incremento se debe directamente a la transferencia de los compuestos bioactivos presentes en estos ingredientes. La miel, por sí misma, contiene una variedad de compuestos fenólicos y flavonoides que le otorgan propiedades antioxidantes, sin embargo, su concentración depende en gran medida del origen floral y las condiciones ambientales (Ahmed et al., 2018). Al incorporar los extractos en polvo de alimentos con alta concentración de polifenoles, se incrementa significativamente la presencia de estos compuestos en la miel enriquecida.

Cada uno de los extractos incorporados en la fortificación de la miel representa una fuente natural de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes ampliamente reconocidas. Estos compuestos desempeñan un papel fundamental en la neutralización de radicales libres, contribuyendo a la estabilidad y funcionalidad del producto enriquecido. El té verde se distingue por su alto contenido de catequinas, compuestos fenólicos con una actividad antioxidante destacable. Entre ellas, la epigallocatequina galato (EGCG) es una de las más potentes debido a su capacidad para captar y desactivar especies reactivas de oxígeno (Eng et al., 2017; Tian et al., 2021). La adición de este extracto a la miel no solo elevó significativamente la actividad antioxidante del producto, sino que también confirmó el alto potencial del té verde para mejorar las propiedades bioactivas de la miel fortificada. En particular, su efecto fue más notorio en la prueba ABTS, lo que indica una mayor eficiencia en la neutralización de radicales.

Por su parte, el arándano es una excelente fuente de antocianinas y otros flavonoides, que son pigmentos naturales con potente acción antioxidante. La estructura química de las antocianinas las hace altamente reactivas frente a los radicales libres, permitiendo que intervengan en la reducción del estrés oxidativo (Mattioli et al., 2020). Este extracto mostró un incremento significativo en la capacidad antioxidante de la miel, lo que sugiere que su riqueza en polifenoles contribuye de manera importante a la mejora del perfil bioactivo de la miel.

En cuanto al cacao, este se caracteriza por su abundancia en proantocianidinas y flavanoles, como la epicatequina, compuestos que han sido ampliamente estudiados por su capacidad para modular el estrés oxidativo y ofrecer beneficios para la salud (Yoo & Kim, 2021). Aunque la miel enriquecida con cacao presentó un incremento relativamente menor en el contenido de fenoles y flavonoides en comparación con las formulaciones con té verde y arándano, su actividad antioxidante medida por el método DPPH fue superior a la de los otros extractos. Este resultado sugiere que los polifenoles específicos del cacao poseen una capacidad altamente efectiva para neutralizar los radicales libres en este sistema de evaluación, lo que refuerza su potencial como un ingrediente funcional.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que el enriquecimiento de la miel con extractos en polvo de té verde, arándano y cacao es una estrategia efectiva para mejorar tanto su contenido de compuestos bioactivos como su capacidad antioxidante. Entre los extractos evaluados, el té verde tuvo el impacto más significativo en estos parámetros, seguido del cacao y, en menor medida, el de arándano. Esto sugiere que el enriquecimiento de la miel con extractos ricos en polifenoles puede potenciar su funcionalidad, abriendo nuevas posibilidades para su uso en la industria alimentaria como un alimento funcional con beneficios antioxidantes.

10.3 Actividad antibacteriana

Tabla 5. Diámetro del halo de inhibición (mm) de miel enriquecida con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*

Muestra	Concentración	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Miel con arándano	Control	3.38 ± 0.18 ^a	11.79 ± 0.63 ^a	3.67 ± 0.28 ^a
	0.5%	6.39 ± 0.25 ^b	12.50 ± 0.73 ^a	5.60 ± 0.37 ^b
	1%	8.97 ± 0.04 ^c	13.45 ± 0.25 ^a	6.39 ± 0.46 ^{bc}
	1.5%	9.82 ± 0.17 ^d	17.06 ± 0.68 ^b	7.33 ± 0.30 ^c
	control positivo	32.91 ± 0.29 ^e	36.12 ± 0.41 ^c	27.74 ± 0.35 ^d
Miel con cacao	Control	7.8 ± 0.30 ^a	9.84 ± 0.50 ^a	6.77 ± 0.34 ^a
	0.5%	9.54 ± 0.57 ^{ab}	12.22 ± 0.44 ^b	7.50 ± 0.56 ^{ab}
	1%	11.20 ± 0.01 ^b	17.27 ± 0.27 ^c	8.17 ± 0.08 ^b

	1.5%	15.50 ± 0.42 ^c	18.72 ± 0.31 ^c	11.13 ± 0.16 ^c
	control positivo	33.20 ± 0.62 ^d	39.75 ± 0.50 ^d	31.14 ± 0.10 ^d
Miel con té verde	Control	5.59 ± 0.20 ^a	10.93 ± 0.21 ^a	4.80 ± 0.39 ^a
	0.5%	6.90 ± 0.28 ^a	15.22 ± 0.45 ^b	5.60 ± 0.21 ^a
	1%	9.97 ± 0.50 ^b	17.32 ± 0.28 ^c	7.00 ± 0.08 ^b
	1.5%	18.13 ± 0.31 ^c	18.92 ± 0.33 ^d	9.60 ± 0.01 ^c
	control positivo	31.10 ± 0.28 ^d	30.02 ± 0.52 ^e	28.10 ± 0.41 ^d

Las muestras se analizaron por duplicado, los resultados se muestran como la media ± desviación estándar. Los valores en las columnas con letras diferentes son estadísticamente diferentes $p < 0.05$

La capacidad antibacteriana de la miel enriquecida con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao fue evaluada mediante la técnica de difusión por pozo, determinando el diámetro del halo de inhibición frente a las tres bacterias de interés: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella spp.* Esta metodología permite observar de manera directa la efectividad de una sustancia en inhibir el crecimiento bacteriano en condiciones controladas.

Los resultados obtenidos (Tabla 5) evidenciaron un aumento progresivo y significativo en la actividad antibacteriana conforme se incrementó la concentración del extracto incorporado en la miel. Este comportamiento sugiere que la presencia de compuestos bioactivos en los extractos vegetales potencia el efecto antimicrobiano natural de la miel, especialmente cuando se utilizan en mayores concentraciones.

10.3.1 Frente a *Salmonella spp.*

Al comparar el efecto de los distintos extractos frente a *Salmonella spp.*, un bacilo gramnegativo, se observó una notable variabilidad en la capacidad de inhibición. La miel enriquecida con té verde al 1.5% mostró el mayor halo de inhibición, con un valor promedio de 18.13 ± 0.31 mm, seguida por la miel con cacao (15.50 ± 0.42 mm) y la miel con arándano (9.82 ± 0.17 mm) en la misma concentración. Además de presentar el valor más alto, la miel con té verde también mostró el mayor incremento respecto a su muestra control, pasando de 5.59 ± 0.20 mm a

18.13 $\pm$ 0.31 mm, lo que refuerza su eficacia como agente antibacteriano. Estos resultados respaldan la hipótesis de que el extracto de té verde aporta compuestos bioactivos con marcada actividad antibacteriana, superando el efecto de los otros extractos evaluados en la inhibición de *Salmonella spp.*

10.3.2 Frente a *Staphylococcus aureus*

En el caso de *S. aureus*, una bacteria grampositiva, se observó una mejora significativa en la capacidad antibacteriana de la miel tras la adición de los extractos. La miel con té verde al 1.5% presentó el halo de inhibición más alto (18.92 $\pm$ 0.33 mm), seguida muy de cerca por la miel con cacao (18.72 $\pm$ 0.31 mm) y finalmente por la miel con arándano (17.06 $\pm$ 0.68 mm). No obstante, al analizar el incremento respecto a sus respectivos controles, la miel con extracto de cacao fue la que mostró el mayor aumento, pasando de 9.84 $\pm$ 0.50 mm a 18.72 $\pm$ 0.31mm, lo que representa un crecimiento más notable en su efecto inhibidor. Esto sugiere que, si bien el extracto de té verde presentó el valor final más elevado, el extracto de cacao generó un cambio más marcado en la capacidad antibacteriana de la miel frente a *S. aureus*. En conjunto, los tres extractos resultaron efectivos contra esta bacteria, lo que refuerza su potencial como agentes de fortificación con propiedades antibacterianas.

10.3.3 Frente a *Escherichia coli*

En cuanto a *E. coli*, una bacteria gramnegativa, se observó también un aumento en la actividad antibacteriana conforme se incrementó la concentración de los extractos. La miel enriquecida con extracto de cacao al 1.5% presentó el mayor halo de inhibición en términos absolutos (11.13 $\pm$ 0.16 mm), seguida por la miel con té verde (9.60 $\pm$ 0.01 mm) y la miel con arándano (7.33 $\pm$ 0.30 mm). Sin embargo, al analizar el incremento respecto al valor de la miel sin tratamiento, la miel con té verde fue la que presentó el mayor aumento en su capacidad inhibidora, duplicando su halo de 4.80 $\pm$ 0.39 mm a 9.60 $\pm$ 0.01mm, lo que sugiere

un efecto más pronunciado del extracto sobre esta bacteria. Esto indica que, aunque el cacao mostró mayor capacidad final de inhibición, el té verde fue más efectivo en potenciar el efecto antibacteriano de la miel frente a *E. coli*.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que la miel enriquecida con extractos naturales en polvo presenta una actividad antibacteriana mejorada frente a las tres bacterias evaluadas. Esta mejora fue más evidente conforme se incrementó la concentración de los extractos, especialmente al 1.5%. Al analizar el desempeño de cada extracto considerando el incremento respecto a sus respectivas muestras control, se observa que el té verde fue el más efectivo de manera general, mostrando no solo los mayores halos de inhibición frente a *Salmonella spp.* y *S. aureus*, sino también el mayor aumento en su capacidad de inhibición frente a *E. coli*, lo que refuerza su potencial como agente antibacteriano natural. El extracto de cacao ocupó el segundo lugar en efectividad, con el mayor incremento en comparación al control para *S. aureus* y un buen desempeño frente a *E. coli*, aunque su incremento fue ligeramente menor en comparación con el té verde. Por último, el arándano, si bien contribuyó al aumento de la actividad antibacteriana en todas las muestras, presentó tanto los valores absolutos como los incrementos más bajos frente a las tres cepas analizadas.

Estos resultados sugieren que la composición específica de cada extracto influye en su capacidad antibacteriana y que su incorporación a la miel puede potenciar significativamente esta propiedad, dependiendo del tipo de microorganismo objetivo.

Los efectos observados pueden atribuirse a la interacción entre los compuestos presentes de forma natural en la miel y aquellos incorporados a través de los extractos. La miel, por sí sola, posee una reconocida actividad antimicrobiana gracias a factores como su bajo pH, la elevada concentración de azúcares que genera presión osmótica, la producción de peróxido de hidrógeno mediante la acción de la enzima glucosa oxidasa y la presencia de compuestos fenólicos (Israili, 2013). Dentro de estos últimos destacan flavonoides como la quercetina y la apigenina, así como ácidos fenólicos como el ferúlico y el cafeico, capaces de alterar las membranas bacterianas e interferir con procesos metabólicos

esenciales (Borges et al., 2013; Nayaka et al., 2014; Kępa et al., 2018; Qi et al., 2022).

La incorporación de extractos en polvo enriqueció aún más la capacidad antibacteriana de la miel al añadir una variedad de polifenoles, flavonoides y otros compuestos bioactivos con mecanismos de acción específicos sobre las bacterias.

Además de su reconocida concentración de antocianinas, el extracto de arándano aporta una amplia gama de compuestos fenólicos como proantocianidinas y taninos, que juegan un papel clave en su efecto antimicrobiano. Las antocianinas, en particular, han demostrado afectar la estructura y funcionalidad de las células bacterianas, ya que pueden dañar la membrana celular e interferir con enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano, como la fosfatasa alcalina (AKP), la ATPasa y la superóxido dismutasa (SOD). Estas enzimas son fundamentales para el transporte de nutrientes, la generación de energía y la defensa celular. Además, se ha reportado que las antocianinas pueden disminuir la actividad del ciclo del ácido tricarboxílico (ATC), una vía metabólica crucial para la producción de energía en las bacterias, lo que afecta su crecimiento y viabilidad celular (Sun et al., 2018). Por otro lado, los compuestos fenólicos del arándano también actúan sobre la estructura de la membrana externa de bacterias gramnegativas como *E. coli* y *Salmonella spp.* Se ha observado que estos compuestos pueden desorganizar dicha membrana, provocando la liberación de lipopolisacáridos y aumentando su permeabilidad, lo que facilita la entrada de otros agentes antimicrobianos presentes en la miel (Park et al., 2011). Aunque su efecto fue más moderado en comparación con los otros extractos, contribuyó significativamente a la inhibición de todas las bacterias en comparación de la miel sin tratamiento.

En el caso del cacao, su eficacia antimicrobiana se atribuye a su contenido de compuestos fenólicos, particularmente proantocianidinas y flavanoles como la epicatequina, los cuales han demostrado una notable capacidad inhibidora frente a diversas bacterias. Estos compuestos actúan a través de múltiples mecanismos que afectan procesos vitales para la supervivencia bacteriana. Uno de los más relevantes es su capacidad para quelar el hierro, un mineral esencial para numerosas funciones enzimáticas bacterianas; al limitar su disponibilidad,

se interfiere de manera directa con el crecimiento y metabolismo de la bacteria. Además, los polifenoles del cacao pueden desestabilizar la estructura de la pared celular bacteriana y alterar la permeabilidad de la membrana, favoreciendo la filtración del contenido citoplasmático y provocando la liberación de lipopolisacáridos, esta acción compromete la integridad celular y puede llevar a la lisis bacteriana (Rahayu et al., 2023). Este conjunto de mecanismos permite que los compuestos del cacao actúen eficazmente incluso contra bacterias gramnegativas, conocidas por su resistencia debido a la presencia de una membrana externa protectora. En este estudio, esta acción se reflejó en el incremento de la actividad antibacteriana, especialmente frente a *E.coli*, donde la miel con cacao mostró un incremento similar al de la miel con té verde.

En particular, el té verde se distinguió en el ensayo, debido a su alta concentración de catequinas, especialmente epigallocatequina galato (EGCG), se ha propuesto que esta, actúa mediante distintos mecanismos según el tipo de bacteria. Uno de ellos es su capacidad para interferir con la integridad de la pared celular bacteriana. En el caso de bacterias Gram positivas, se ha sugerido que la EGCG puede unirse al peptidoglicano, principal componente estructural de su pared celular. Esta interacción puede inducir la precipitación del peptidoglucano, lo que significa que el polímero pierde su solubilidad y funcionalidad, provocando su desorganización. Como consecuencia, la estructura celular se ve comprometida, afectando la estabilidad de la bacteria y llevándola potencialmente a su descomposición celular. Por otro lado, en bacterias Gram negativas, cuya pared celular posee una membrana externa que actúa como barrera adicional, la EGCG parece ejercer su efecto principalmente a través de la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y otras especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas especies pueden inducir daño oxidativo sobre lípidos, proteínas y ADN bacteriano, contribuyendo a la muerte celular (Zhang et al., 2023). Esta composición explica la destacada eficacia de la miel con té verde frente a *Salmonella spp.* y *E.Coli*.

Las diferencias en la estructura celular entre microorganismos explican la variación observada en su sensibilidad a los tratamientos. Las bacterias grampositivas, como *S. aureus*, poseen una pared celular compuesta principalmente por una capa gruesa de peptidoglucano, lo que las hace

generalmente más susceptibles a la acción de los compuestos fenólicos. Por el contrario, las gramnegativas, como *E. coli* y *Salmonella spp.*, cuentan con una membrana externa rica en lipopolisacáridos que actúa como una barrera adicional frente a agentes antimicrobianos (Indrianingsih et al., 2021). Este comportamiento se vio reflejado en los resultados del presente estudio, donde *S. aureus* presentó, en términos generales, los mayores halos de inhibición. Aun así, se observó una actividad considerable también contra las bacterias gramnegativas, especialmente *Salmonella spp.*, lo cual sugiere que la combinación de miel con extractos permitió superar parcialmente dicha barrera.

Cada uno de los extractos aportó mecanismos antibacterianos específicos: el arándano mostró eficacia mediante la disrupción de la membrana celular y la inhibición de enzimas bacterianas esenciales, afectando el metabolismo microbiano. El cacao, por otro lado, ejerció su acción a través de la quelación de hierro y la inducción de estrés oxidativo, interfiriendo en procesos vitales para el crecimiento bacteriano. Finalmente, el extracto de té verde se destacó por su alto contenido de catequinas, como la EGCG, capaces de comprometer la integridad de la pared celular en bacterias grampositivas y de inducir la formación de especies reactivas de oxígeno en bacterias gramnegativas, favoreciendo así su acción antibacteriana.

Como era de esperarse, los controles positivos (antibióticos comerciales) mostraron zonas de inhibición más amplias frente a las bacterias analizadas. Esto se debe a que los antibióticos están diseñados específicamente para atacar estructuras o funciones clave de las bacterias, como la síntesis de la pared celular o la replicación del ADN, lo que genera una respuesta más rápida y potente. Sin embargo, la actividad observada en las mieles enriquecidas con extractos naturales también fue significativa, ya que evidencia un potencial antibacteriano importante, especialmente si se considera que proviene de ingredientes naturales. Esto resulta relevante ante el aumento de la resistencia a los antibióticos, ya que refuerza la necesidad de explorar alternativas naturales complementarias. Además, la combinación de los compuestos bioactivos de la miel y los extractos sugiere una posible acción sinérgica, capaz de potenciar el efecto antibacteriano sin generar los efectos adversos comunes de los fármacos sintéticos. En conjunto, estos hallazgos confirman que la fortificación de la miel

con extractos de té verde, cacao y arándano mejora su actividad antibacteriana, siendo especialmente notable frente a *S. aureus* y *Salmonella spp.* Lo que contribuye a potenciar el valor funcional de la miel, aumentando su contenido de compuestos bioactivos con posibles beneficios para la salud.

11. Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio permitieron demostrar que el enriquecimiento de miel de *A. mellifera* con extractos en polvo de arándano, té verde y cacao fue una estrategia efectiva para incrementar tanto el contenido de compuestos bioactivos como su actividad antioxidante y antibacteriana. Se comprobó que cada extracto aportó compuestos fenólicos con mecanismos de acción diferenciados, lo que se tradujo en una mejora significativa de las propiedades funcionales de la miel.

Durante la primera etapa del trabajo, se caracterizaron 19 muestras de miel provenientes de distintas regiones, en las cuales se observó una amplia variabilidad en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, en los distintos parámetros evaluados, asimismo, se observó una correlación positiva entre el color de la miel y su contenido fenólico, lo que refuerza la posibilidad de utilizar el color como un indicador preliminar de calidad funcional.

A partir de los resultados de la caracterización se seleccionaron las tres muestras, las cuales fueron utilizadas para el enriquecimiento. En la segunda etapa, se evaluó el efecto de la incorporación de los extractos vegetales, observándose un aumento significativo en la concentración de compuestos bioactivos, así como en la capacidad antioxidante, determinada por los métodos ABTS y DPPH.

Entre los extractos utilizados, el té verde mostró el mayor impacto sobre el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante en el ensayo ABTS, mientras que el cacao presentó un mayor efecto en DPPH. Estos resultados reflejaron la influencia del tipo y perfil de polifenoles presentes en cada extracto, así como su distinta reactividad frente a los radicales libres. El arándano, aunque presentó un incremento menor, también mejoró significativamente los parámetros funcionales evaluados, efecto atribuido a su contenido de antocianinas.

En cuanto a la actividad antibacteriana, se determinó que la miel enriquecida fue más efectiva contra *S. aureus* y *Salmonella spp.*, con halos de inhibición mayores conforme aumentó la concentración del extracto. El extracto de té verde fue el más efectivo frente a ambas bacterias, mientras que el cacao presentó el mayor

incremento frente a *E. coli*. Estas diferencias se atribuyeron a los mecanismos de acción particulares de los compuestos fenólicos presentes en cada extracto, los cuales pudieron interferir con la estructura de la membrana celular, bloquear funciones enzimáticas esenciales o inducir estrés oxidativo en las células bacterianas. Como era de esperarse, los controles positivos con antibióticos comerciales mostraron mayores zonas de inhibición, debido a su acción específica y directa. Sin embargo, la actividad observada en las mieles fortificadas resultó significativa, destacando por su origen natural y por representar una alternativa frente al creciente desafío de la resistencia bacteriana.

Los objetivos planteados fueron cumplidos y los resultados respaldaron la hipótesis inicial: que la incorporación de extractos naturales ricos en polifenoles incrementaría la capacidad antioxidante y antibacteriana de la miel. Esta investigación proporcionó evidencia sobre el potencial de la miel enriquecida como alimento funcional, al mejorar significativamente su perfil bioactivo. Estos resultados sugieren que su consumo podría favorecer efectos positivos sobre la salud, abriendo así nuevas oportunidades para su aplicación en el desarrollo de productos innovadores con valor agregado en la industria alimentaria y nutracéutica.

Referencias

- Abubakar, M., Abdullah, W., Sulaiman, S., & Suen, A. (2012). A review of molecular mechanisms of the anti-leukemic effects of phenolic compounds in honey. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 15054–15073. <https://doi.org/10.3390/ijms131115054>
- Ahmed, S., Sulaiman, S. A., Baig, A. A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S., Jabeen, S., Shamim, N., & Othman, N. H. (2018). Honey as a potential natural antioxidant medicine: An insight into its molecular mechanisms of action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018(1). <https://doi.org/10.1155/2018/8367846>
- Alaerjani, W. M. A., Abu-Melha, S., Alshareef, R. M. H., Al-Farhan, B. S., Ghramh, H. A., Al-Shehri, B. M. A., Bajaber, M. A., Khan, K. A., Alrooqi, M. M., Modawe, G. A., & Mohammed, M. E. A. (2022). Biochemical reactions and their biological contributions in honey. *Molecules*, 27(15), 4719. <https://doi.org/10.3390/molecules27154719>
- Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrani, A., & Al-Belushi, S. (2018). Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*, 4(10), e00874. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00874>
- Al-Kafaween, M. A., Alwahsh, M., Hilmi, A. B. M., & Abulebdah, D. H. (2023). Physicochemical characteristics and bioactive compounds of different types of honey and their biological and therapeutic properties: A comprehensive review. *Antibiotics*, 12(2), 337. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020337>

- Allsop, K. A., & Miller, J. B. (1996). Honey revisited: a reappraisal of honey in pre-industrial diets. *British Journal of Nutrition*, 75(4), 513–520.
<https://doi.org/10.1079/bjn19960155>
- Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2188–2196.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- Alqarni, A. S., Owayss, A. A., & Mahmoud, A. A. (2012). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1), 114–120.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.11.013>
- 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(5), 621–638. <https://doi.org/10.2174/092986713804999358>
- Amariei, S., Norocel, L., & Scripcă, L. A. (2020). An innovative method for preventing honey crystallization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102481. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102481>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 Suppl 1, 5–16.
https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
- Andújar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Ríos, J. L. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2012/906252>
- Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in powder of cranberry (*Vaccinium*

corymbosum) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, 7, 191–200.

<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05>

Association of Official Analytical Chemists (2000). Official method 920.183: Sugars (Reducing) in Honey. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (17th ed.). AOAC International.

Association of Official Analytical Chemists (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International.

Association of Official Analytical Chemists (2005). Official method 981.10. Nitrogen (total) in food: Kjeldahl method. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. (2022). *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM)*. Autoridad Europea De Seguridad Alimentaria. <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/meticillin-resistant-staphylococcus-aureus-mrsa>

Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S., & Kim, Y. (2020). Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology*, 4(1).
<https://doi.org/10.1186/s41702-020-0057-8>

Baena-Díaz, F., Chévez, E., De La Merced, F. R., & Porter-Bolland, L. (2022). *Apis mellifera* en México: producción de miel, flora melífera y aspectos de polinización. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 13(2), 525–548. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i2.5960>

Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus*

- religiosa. *Molecules*, 27(4), 1326.
<https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Baloš, M. Ž., Popov, N., Vidaković, S., Pelić, D. L., Pelić, M., Mihaljev, Ž., & Jakšić, S. (2018). Electrical conductivity and acidity of honey. *Archives of Veterinary Medicine*, 11(1), 91–101. <https://doi.org/10.46784/e-avm.v11i1.20>
- Baranowska, M., & Bartoszek, A. (2016). Antioxidant and antimicrobial properties of bioactive phytochemicals from cranberry. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70, 1460–1468.
<https://doi.org/10.5604/17322693.1227896>
- Becerril-Sánchez, A. L., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O., & Escalona-Buendía, H. B. (2021). Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. *Antioxidants*, 10(11), 1700. <https://doi.org/10.3390/antiox10111700>
- Bedoya-Cataño, J. F., Ramón-Palacio, C., Gil-Garzón, M. A., & Ramírez-Sánchez, C. (2022). Extracción de antioxidantes de los arándanos (*Vaccinium corymbosum*): efecto de solventes verdes sobre polifenoles totales, capacidad antioxidante y comportamiento electroquímico. *TecnoLógicas*, 25(53), e2277. <https://doi.org/10.22430/22565337.2277>
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677–689.
<https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2013). Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic

bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256–265.

<https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>

Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228–237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>

Brudzynski, K. (2023). Unexpected value of honey color for prediction of a non-enzymatic H₂O₂ production and honey antibacterial activity: A perspective. *Metabolites*, 13(4), 526.

<https://doi.org/10.3390/metabo13040526>

Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2006). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100(4), 1728–1733. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.019>

Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R., & Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine*, 5(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-13>

Chan-Chi, J. R., Caamal-Cauich, I., Pat-Fernández, V. G., Martínez-Luis, D., & Pérez-Fernández, A. (2018). Caracterización social y económica de la producción de miel de abeja en el norte del estado de Campeche, México. *Textual*, 72, 103–124.

<https://doi.org/10.5154/r.textual.2017.72.007>

Chandrasekaran, A., Del Pilar Sosa Idelchik, M., & Melendez, J. A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biology*, 11, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.005>

- Chontal, G. L., Peña, J. G. R., Echeverría, E. F., Mendoza, E. M., Zorrilla, U. a. D., & Lambert, G. F. (2019). Caracterización apícola en la región sierra centro-norte de Veracruz: contexto y trashumancia. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1339–1351.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1689>
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P., Zhang, J., Lamas, L. B., Flórez, S. M., Toyos, P. A., Quiles, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: a review. *Molecules*, 23(9), 2322. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Ciappini, M. C., Gatti, M. B., & Di Vito, M. V. (2013). El color como indicador del contenido de flavonoides en miel. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19(1), 59-63. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382679029005>
- Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., & Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3), 924–929.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.10.059>
- Cortés, L. E. U. C., García, A. V., Maya, E. M. A., & Rivas, J. M. (2020). Conocimiento de las abejas nativas sin aguijón y cambio generacional entre los mayas lacandones de Nahá, Chiapas. *Estudios De Cultura Maya*, 56(2), 205–225. <https://doi.org/10.19130/iifl.ecm.2020.56.2.0008>
- Crane, E., & Kirk Visscher, P. (2009). Honey. *Encyclopedia of Insects*, 459–461. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00130-2>
- De Araujo, Q. R., Gattward, J. N., Almoosawi, S., Silva, M. D. G. C. P. C., De Santana Dantas, P. A., & De Araujo Júnior, Q. R. (2013). Cocoa and

human health: From head to foot—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(1), 1–12.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.657921>

Del Carmen García-Rodríguez, M., Hernández-Cortés, L. M., & Arenas-Huertero, F. (2022). Catequinas del té verde: efectos antígenotóxicos y genotóxicos. Revisión sistemática. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, 72(3), 205–217. <https://doi.org/10.37527/2022.72.3.006>

Diario Oficial de la Federación. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2018). NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones.

El-Wahed, A. a. A., Rashwan, E. H., AlAjmi, M. F., Khalifa, S. a. M., Saeed, A., Zhao, C., Naggar, Y. A., Guo, Z., Musharraf, S. G., Wang, K., El-Seedi, H. R., & Yosri, N. (2023). Sidr honeys physical and chemical characterization, a comprehensive approach through LC-MS/MS, NMR, and GC-MS analysis. *Separations*, 10(7), 372.

<https://doi.org/10.3390/separations10070372>

Eng, Q. Y., Thanikachalam, P. V., & Ramamurthy, S. (2017). Molecular understanding of epigallocatechin gallate (EGCG) in cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 296–310.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.035>

Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Wahab, M. S. A. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules*, 17(4), 4400–4423.

<https://doi.org/10.3390/molecules17044400>

Escamilla, J.C.I., Cuevas, M.E.Y., & Guevara, F.J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*;52(2):73-75.

- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2013). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84–90.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.097>
- Eteraf-Oskoueï, T., & Najafi, M. (2013). Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 16(6), 731–742.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758027/>
- Farhan, M. (2022). Green Tea catechins: nature's way of preventing and treating cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10713. <https://doi.org/10.3390/ijms231810713>
- Faúndez, X., Báez, M. E., Martínez, J., Zúñiga-López, M. C., Espinoza, J., & Fuentes, E. (2023). Evaluation of the generation of reactive oxygen species and antibacterial activity of honey as a function of its phenolic and mineral composition. *Food Chemistry*, 426, 136561.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136561>
- Fernández, D., & Díaz, R. (1998). Determinación de algunos parámetros de calidad de la miel en la provincia de Huesca. *Lucas Mallada: Revista de Ciencias*, 10, 107-122.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1090577>
- García-Chaviano, M. E., Armenteros-Rodríguez, E., Del Carmen Escobar-Álvarez, M., García-Chaviano, J. A., Méndez-Martínez, J., & Ramos-Castro, G. (2022). Composición química de la miel de abeja y su relación con los beneficios a la salud. *Revista Médica Electrónica*, 44(1), 155-

167. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242022000100155&lng=es&tlng=es.
- Garzón, J. P., Martínez, S. R., & L, M. M. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *NOVA*, 17(32), 25-38. <https://doi.org/10.25058/24629448.3631>
- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm* 23, 80–84
- González Pedraza, J., Pereira Sanandrés, N., Soto Varela, Z., Hernández Aguirre, E., & Villarreal Camacho, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella spp.* y herramientas moleculares para su detección. *Revista Salud Uninorte*, 30(1), 73-94. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81730850009>
- González-Montemayor, Á., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., López-Pérez, M. G., Montañez-Sáenz, J. C., & Rodríguez-Herrera, R. (2019). Honey and syrups: Healthy and natural sweeteners with functional properties. *Elsevier eBooks* (pp. 143–177). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816689-5.00006-7>
- Grabek-Lejko, D., Miłek, M., Sidor, E., Puchalski, C., & Dżugan, M. (2022). Antiviral and antibacterial effect of honey enriched with *Rubus spp.* as a functional food with enhanced antioxidant properties. *Molecules*, 27(15), 4859. <https://doi.org/10.3390/molecules27154859>
- Grosso, G. (2019). Impact of nutritional risk factors on chronic non-communicable diseases. *European Journal of Public Health*, 29(Supplement_4). <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckz185.197>

- Guldas, M., Gurbuz, O., Cakmak, I., Yildiz, E., & Sen, H. (2021). Effects of honey enrichment with *Spirulina platensis* on phenolics, bioaccessibility, antioxidant capacity and fatty acids. *LWT- Food Science and Technology*, 153, 112461. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112461>
- Guzmán-Novoa, E., Espinosa Montaña, L. G., Correa Benítez, A., & Guzmán Novoa, G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Veterinaria México*, 42(2), 149-178.
- Hamdan, K. (2010). Crystallization of honey. *Bee World*, 87(4), 71–74. <https://doi.org/10.1080/0005772x.2010.11417371>
- Hanover, L., & White, J. (1993). Manufacturing, composition, and applications of fructose. *American Journal of Clinical Nutrition*, 58(5), 724S-732S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/58.5.724s>
- Hernández-Figueroa, T. T., Rodríguez-Rodríguez, E., & Sánchez-Muniz, F. J. (2004). El té verde ¿una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares? *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(4), 380-394.
- Hossain, M. L., Lim, L. Y., Hammer, K., Hettiarachchi, D., & Locher, C. (2022). A review of commonly used methodologies for assessing the antibacterial activity of honey and honey products. *Antibiotics*, 11(7), 975. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070975>
- Huang, Z., Liu, L., Li, G., Li, H., Ye, D., & Li, X. (2019). Nondestructive determination of diastase activity of honey based on visible and near-infrared spectroscopy. *Molecules*, 24(7), 1244. <https://doi.org/10.3390/molecules24071244>

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016).

Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us?

Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016(1).

<https://doi.org/10.1155/2016/7432797>

Indrianingsih, A. W., Wulanjati, M. P., Windarsih, A., Bhattacharjya, D. K.,

Suzuki, T., & Katayama, T. (2021). In vitro studies of antioxidant,

antidiabetic, and antibacterial activities of *Theobroma cacao*, *Annona*

muricata and *Clitoria ternatea*. *Biocatalysis and Agricultural*

Biotechnology, 33, 101995. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101995>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. (2024). *Noticia-*

estadísticas de defunciones registradas (EDR) de enero a junio de 2023

(preliminar).

<https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia.html?id=8771>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. (2024). *Noticia -*

actualización del atlas nacional de las abejas y derivados apícolas.

<https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia.html?id=8974>

Israili, Z. H. (2013). Antimicrobial properties of honey. *American Journal of*

Therapeutics, 21(4), 304–323.

<https://doi.org/10.1097/mjt.0b013e318293b09b>

Jalil, A., & Ismail, A. (2008). Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there

a link between antioxidant properties and health? *Molecules*, 13(9),

2190–2219. <https://doi.org/10.3390/molecules13092190>

Ji, P., Liu, X., Yang, C., Wu, F., Sun, J., Cao, W., & Zhao, H. (2022). Natural

crystallization properties of honey and seed crystals-induced

- crystallization process for honey performance enhancing. *Food Chemistry*, 405, 134972. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134972>
- Jibril, F. I., Hilmi, A. B. M., & Manivannan, L. (2019). Isolation and characterization of polyphenols in natural honey for the treatment of human diseases. *Bulletin of the National Research Centre/Bulletin of the National Research Center*, 43(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0044-7>
- Jorge, M. F. C., Luna, J. O., Lozano, M. B., & Díaz, T. C. (2019). Caracteres fisicoquímicos en mieles del ecosistema del Bajo Mayo, región San Martín, Perú. *Arnaldoa*, 26(2), 607–622. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26206>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Karabagias, V. K., Karabagias, I. K., & Gatzias, I. (2017). The impact of different heating temperatures on physicochemical, color attributes, and antioxidant activity parameters of Greek honeys. *Journal of Food Process Engineering*, 41(3). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12668>
- Kaurinovic, B., & Vastag, D. (2019). Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83731>
- Kępa, M., Mikłasińska-Majdanik, M., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., Korzeniowski, K., Smoleń-Dzirba, J., & Wąsik, T. J. (2018). Antimicrobial potential of caffeic acid against *Staphylococcus aureus* clinical strains. *BioMed Research International*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/7413504>

- Kowalczyk, T., Muskała, M., Merecz-Sadowska, A., Sikora, J., Picot, L., & Sitarek, P. (2024). Anti-inflammatory and anticancer effects of anthocyanins in in vitro and in vivo studies. *Antioxidants*, 13(9), 1143.
- Kuś, P. M., Congiu, F., Teper, D., Sroka, Z., Jerković, I., & Tuberoso, C. I. G. (2013). Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. *LWT - Food Science and Technology* 55(1), 124–130.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.016>
- Kwakman, P. H. S., & Zaat, S. a. J. (2011). Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 64(1), 48–55. <https://doi.org/10.1002/iub.578>
- Lang, E., Chemlal, L., Molin, P., Guyot, S., Alvarez-Martin, P., Perrier-Cornet, J., Dantigny, P., & Gervais, P. (2017). Modeling the heat inactivation of foodborne pathogens in milk powder: High relevance of the substrate water activity. *Food Research International*, 99, 577–585.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.028>
- Ma, Y., Zhang, B., Li, H., Li, Y., Hu, J., Li, J., Wang, H., & Deng, Z. (2016). Chemical and molecular dynamics analysis of crystallization properties of honey. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 725–733.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1178282>
- Mahmoodi-Khaledi, E., Lozano-Sánchez, J., Bakhouché, A., Habibi-Rezaei, M., Sadeghian, I., & Segura-Carretero, A. (2016). Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. *European Food Research and Technology*, 243(6), 1019–1030. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2811-0>

- Mahmoud, M. A., Kilic-Buyukkurt, O., Fotouh, M. M. A., & Selli, S. (2024). Aroma active compounds of honey: Analysis with GC-MS, GC-O, and molecular sensory techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106545. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106545>
- Manyi-Loh, C. E., Ndip, R. N., & Clarke, A. M. (2011). Volatile compounds in honey: A review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(12), 9514–9532. <https://doi.org/10.3390/ijms12129514>
- Marcano, D. (2008). El lado positivo de las bacterias. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 39(2), 63-65. Dic. 2008. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/%20es/lil-631759>
- Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., & Sancho, M. T. (2006). Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1541–1550. <https://doi.org/10.1021/jf051757i>
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(17), 3809. <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>

- Meléndez-Sosa, M. F., García-Barrales, A. M., & Ventura-García, N. A. (2020).
Perspectivas e impacto en la salud del consumo de los alimentos
funcionales y nutraceuticos en México. *RD-ICUAP*, 6(1), 114-136.
<https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2020.16.264>
- Milek, M., Ciszakowicz, E., Sidor, E., Hęclik, J., Lecka-Szlachta, K., & Dżugan, M. (2023). The antioxidant, antibacterial and anti-biofilm properties of rapeseed creamed honey enriched with selected plant superfoods. *Antibiotics*, 12(2), 235. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020235>
- Milek, M., Grabek-Lejko, D., Stępień, K., Sidor, E., Mołoń, M., & Dżugan, M. (2021). The enrichment of honey with *Aronia melanocarpa* fruits enhances its in vitro and in vivo antioxidant potential and intensifies its antibacterial and antiviral properties. *Food & Function*, 12(19), 8920–8931. <https://doi.org/10.1039/d1fo02248b>
- Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey. *Bee World*, 73(1), 5–28. <https://doi.org/10.1080/0005772x.1992.11099109>
- Moyano Sanchez, R. A., Abril Carvajal, L. M., Enríquez Pico, J. M., & Inga Aguagallo, C. F. (2023). Características organolépticas de la miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en apiarios de Ambato, provincia del Tungurahua. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(2), 2629-2641. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i2.5515
- Musial, C., Kuban-Jankowska, A., & Gorska-Ponikowska, M. (2020). Beneficial properties of green tea catechins. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1744. <https://doi.org/10.3390/ijms21051744>
- Nayaka, H. B., Londonkar, R. L., Umesh, M. K., & Tukappa, A. (2014). Antibacterial Attributes of apigenin, isolated from *Portulaca oleracea* L.

International Journal of Bacteriology, 2014, 1–8.

<https://doi.org/10.1155/2014/175851>

Nayaka, N. M. D., Fidrianny, I., Sukrasno, N., Hartati, R., & Singgih, M. (2020).

Antioxidant and antibacterial activities of multiflora honey extracts from the Indonesian *Apis cerana* bee. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 15(3), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2020.04.005>

Negrín Muñoz, E., & Sotelo Santos, L. E. (2016). Abejas nativas, señoras de la miel. Patrimonio cultural en el estado de Campeche / Native bees, honey ladies. Cultural heritage in the state of Campeche. *RICSH Revista Iberoamericana De Las Ciencias Sociales Y Humanísticas*, 5(9), 162-185. <https://www.ricsh.org.mx/index.php/RICSH/article/view/69>

Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African health sciences*, 7(3), 159–165. <https://doi.org/10.5555/afhs.2007.7.3.159>

Organización Panamericana De La Salud. (2021). *Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS*. <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>

Ortiz, C. Y. C., Culqui, P. L. M., & Quintana, S. G. C. (2021). Antioxidants and total polyphenols of a black chocolate whit incorporation of unroasted cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Revista De Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 23(4).

<https://doi.org/10.18271/ria.2021.331>

Park, Y. J., Biswas, R., Phillips, R. D., & Chen, J. (2011). Antibacterial activities of blueberry and muscadine phenolic extracts. *Journal of Food Science*, 76(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01974.x>

- Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., & Sancho, M. T. (2018). Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 38–74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411178>
- Pasupuleti, V. R., Arigela, C. S., Gan, S. H., Salam, S. K. N., Krishnan, K. T., Rahman, N. A., & Jeffree, M. S. (2020). A review on oxidative stress, diabetic complications, and the roles of honey polyphenols. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2020/8878172>
- Pataca, L., Neto, W., Marcucci, M., & Poppi, R. (2006). Determination of apparent reducing sugars, moisture and acidity in honey by attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry. *Talanta*, 71(5), 1926–1931. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.08.028>
- Pérez, R. A., Iglesias, M. T., Pueyo, E., González, M., & De Lorenzo, C. (2006). Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 360–365. <https://doi.org/10.1021/jf062055b>
- Qi, W., Qi, W., Xiong, D., & Long, M. (2022). Quercetin: its antioxidant mechanism, antibacterial properties and potential application in prevention and control of toxipathy. *Molecules*, 27(19), 6545. <https://doi.org/10.3390/molecules27196545>
- Qu, Z., Liu, A., Li, P., Liu, C., Xiao, W., Huang, J., Liu, Z., & Zhang, S. (2020). Advances in physiological functions and mechanisms of (–)-epicatechin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 211–233. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1723057>

- Rahayu, Y. C., Setiawatie, E. M., Rahayu, R. P., & Ramadan, D. E. (2023). Analysis of antioxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao* L.). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 56(4), 220–225. <https://doi.org/10.20473/j.djmkkg.v56.i4.p220-225>
- 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(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00434>
- Sak-Bosnar, M., & Sakač, N. (2012). Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chemistry*, 135(2), 827–831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.006>
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., & Samini, F. (2017). Honey and Health: A review of recent clinical research. *PubMed*, 9(2), 121–127. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>
- Santacruz, E. I., Benavides, J. M., & Gámez, H. J. (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. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)37-44](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)37-44)
- Scali, F., Camussone, C., Calvino, L. F., Cipolla, M., & Zecconi, A. (2015). Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine? *Research in Veterinary Science*, 100, 88–99. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.03.019>

- Secretaría De Agricultura Y Desarrollo Rural. (2015). *¿Qué es la apicultura?*
<https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/que-es-la-apicultura>
- Secretaria De Agricultura Y Desarrollo Rural. (2018). *Los mil y un usos del cacao*. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/los-mil-y-un-usos-del-cacao>
- Seif Eldin AM, Ahmed SK, Waleed SK, Khalid AK, Hamed AG, Mogbel AAE, Badria MS, Mohamed EA. (2024). Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of four types of honey as related to their phenolic and flavonoid contents. *Archives of Microbiology and Immunology*. 8, 265-27. <https://doi.org/10.20944/preprints202401.2236.v1>
- Shrivastava, R. R., Pateriya, P. P., & Singh, M. S. (2018). Green tea - A short review. *International Journal of Indigenous Herbs and Drugs*, 12-21.
<https://saapjournals.org/index.php/herbsanddrugs/article/view/70>
- Silva, B., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Fett, R., Dalmarco, E. M., Caon, T., & Costa, A. C. O. (2021). In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. *Food Research International*, 141, 110086.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110086>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*. 299, 152–178.
[https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1)
- Sohaimy, S. E., Masry, S., & Shehata, M. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.015>

- Sokolov, A. N., Pavlova, M. A., Klosterhalfen, S., & Enck, P. (2013). Chocolate and the brain: Neurobiological impact of cocoa flavanols on cognition and behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2445–2453. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.06.013>
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., & Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 28(4), R41–R55. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/28/4/r01>
- Suen, J., Thomas, J., Kranz, A., Vun, S., & Miller, M. (2016). Effect of flavonoids on oxidative stress and inflammation in adults at risk of cardiovascular disease: A systematic review. *Healthcare*, 4(3), 69. <https://doi.org/10.3390/healthcare4030069>
- Sun, X., Zhou, T., Wei, C., Lan, W., Zhao, Y., Pan, Y., & Wu, V. C. (2018). Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. *Food Control*, 94, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.012>
- Tan, T. Y. C., Lim, X. Y., Yeo, J. H. H., Lee, S. W. H., & Lai, N. M. (2021). The health effects of chocolate and cocoa: A systematic review. *Nutrients*, 13(9), 2909. <https://doi.org/10.3390/nu13092909>
- Tian, M., Chen, G., Xu, J., Lin, Y., Yi, Z., Chen, X., Li, X., & Chen, S. (2021). Epigallocatechin gallate-based nanoparticles with reactive oxygen species scavenging property for effective chronic periodontitis treatment. *Chemical Engineering Journal*, 433, 132197. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.132197>
- Truzzi, C., Annibaldi, A., Illuminati, S., Finale, C., & Scarponi, G. (2014). Determination of proline in honey: Comparison between official methods,

- optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chemistry*, 150, 477–481.
- <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.003>
- Tuberoso, C. I. G., Jerković, I., Sarais, G., Congiu, F., Marijanović, Z., & Kuš, P. M. (2013). Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE L*a*b*. *Food Chemistry*, 145, 284–291.
- <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.032>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A., & Jaremko, M. (2020). Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*, 25(22), 5243.
- <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. (2022). Antibiotic resistance in bacteria—A review. *Antibiotics*, 11(8), 1079.
- <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081079>
- Vandamme, L., Heyneman, A., Hoeksema, H., Verbelen, J., & Monstrey, S. (2013). Honey in modern wound care: A systematic review. *Burns*, 39(8), 1514–1525. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2013.06.014>
- Vargas, C. S., García, P. S., Volke-Haller, V., & León, M. T. B. C. (2018). Respuesta agronómica de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) al estrés osmótico. *Agrociencia*, 52(2), 231-239.
- http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000200231&lng=es&tlng=es.

- Villanueva-Gutiérrez, R., Roubik, D. W., & Porter-Bolland, L. (2015). Bee–plant interactions: competition and phenology of flowers visited by bees. *Springer eBooks* (pp. 131–152). https://doi.org/10.1007/978-3-319-06529-8_6
- Wang, X., Yan, S., Zhao, W., Wu, L., Tian, W., & Xue, X. (2023). Comprehensive study of volatile compounds of *rare Leucosceptrum canum* Smith honey: Aroma profiling and characteristic compound screening via GC–MS and GC–MS/MS. *Food Research International*, 169, 112799. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112799>
- World Health Organization WHO. (2014). *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014*. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>
- World Health Organization WHO. (2023). *Enfermedades no transmisibles*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- World Health Organization: WHO. (2018). *E. coli*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- Yang, Y., Bazhin, A. V., Werner, J., & Karakhanova, S. (2013). Reactive oxygen species in the immune system. *International Reviews of Immunology*, 32(3), 249–270. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>
- Yoo, H., & Kim, H. (2021). Cacao powder supplementation attenuates oxidative stress, cholinergic impairment, and apoptosis in d-galactose-induced aging rat brain. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96800-y>

- Zamora, M. C., Chirife, J., & Roldán, D. (2005). On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*, 17(8), 642–647. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.04.002>
- Zapata, L. M., Heredia, A. M., Quinteros, C. F., Malleret, A. D., Clemente, G., & Cárcel, J. A. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 25(49): 166-192. ISSN 1851-1716.
- Zhang, Y., Zhang, Y., Ma, R., Sun, W., & Ji, Z. (2023). Antibacterial activity of epigallocatechin gallate (EGCG) against *Shigella flexneri*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(6), 4676. <https://doi.org/10.330/ijerph20064676>

Anexos

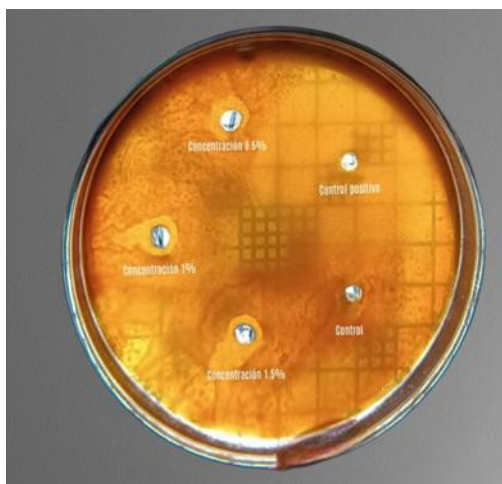


Figura A1. Halo de inhibición en Salmonella spp. tratado con miel enriquecida con extracto de arándano.

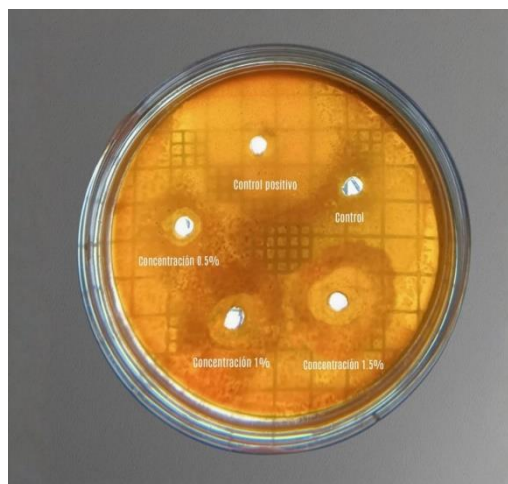


Figura A2. Halo de inhibición en Salmonella spp. tratado con miel enriquecida con extracto de cacao.

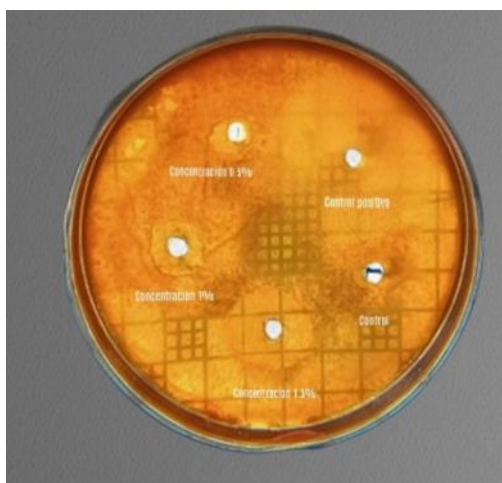


Figura A3. Halo de inhibición en Salmonella spp. tratado con miel enriquecida con extracto de té verde.

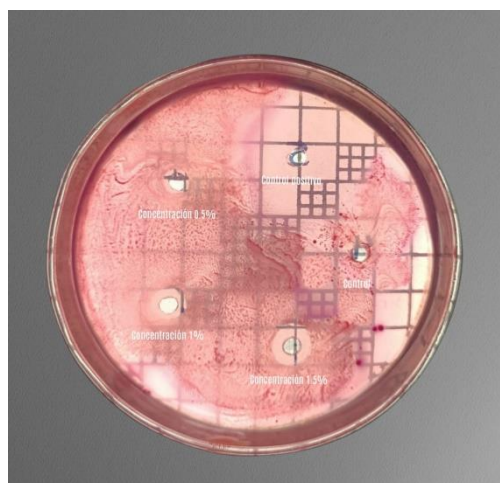


Figura A4. Halo de inhibición en Escherichia coli tratado con miel enriquecida con extracto de arándano.

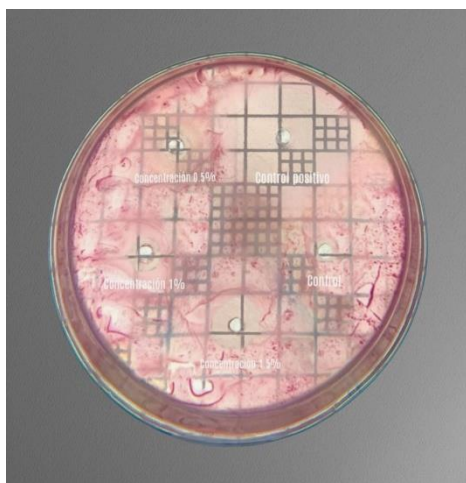


Figura A5. Halo de inhibición en Escherichia coli tratado con miel enriquecida con extracto de cacao.

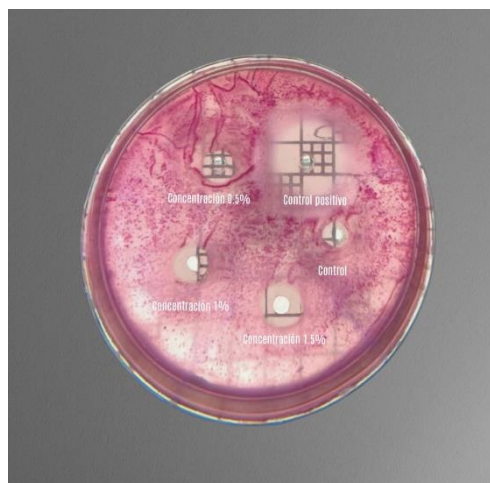


Figura A6. Halo de inhibición en Escherichia coli tratado con miel enriquecida con extracto de té verde.

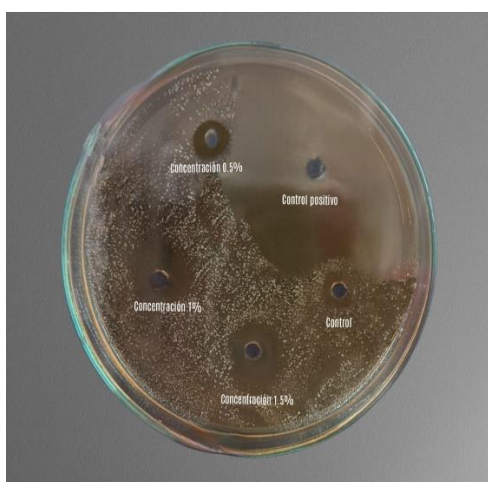


Figura A7. Halo de inhibición en Staphylococcus aureus tratado con miel enriquecida con extracto de arándano.

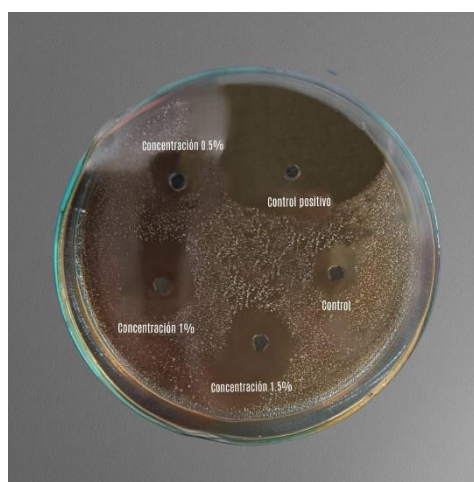


Figura A8. Halo de inhibición en Staphylococcus aureus tratado con miel enriquecida con extracto de cacao.