

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:

BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

**Estudio de las propiedades físico-químicas y biológicas en cinco mieles de abeja
(*Apis mellifera. L.*) distribuidas en la red de supermercados del Distrito
Metropolitano de Quito**

AUTORAS:

JOHANNA PATRICIA ÁLVAREZ MESÍAS

ESTEFANIA RAQUEL SÁNCHEZ CASAMEN

TUTORA:

MARÍA ELENA MALDONADO RODRÍGUEZ

Quito, Diciembre de 2016

Cesión de derechos de autor

Nosotras, Johanna Patricia Álvarez Mesías y Estefanía Raquel Sánchez Casamen con documentos de identificación N° 1725413247 y 1723451090 respectivamente, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo de titulación intitulado: “Estudio de las propiedades físico-químicas y biológicas en cinco mieles de abeja (*Apis mellifera. L.*) distribuidas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieras en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

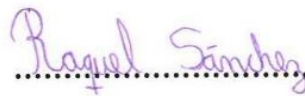
En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autoras nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento en que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



.....
Nombre: Johanna Álvarez Mesías

Cédula: 1725413247

Fecha: 21 de diciembre de 2016



.....
Nombre: Raquel Sánchez Casamen

Cédula: 1723451090

Fecha: 21 de diciembre de 2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Estudio de las propiedades físico-químicas y biológicas en cinco mieles de abeja (*Apis mellifera. L.*) distribuidas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito” realizado por Johanna Álvarez y Raquel Sánchez, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, diciembre de 2016



María Elena Maldonado Rodríguez

CI: 170774315-7

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico a Dios por la salud, bendiciones, y sabiduría brindada para superar los obstáculos a lo largo de esta etapa. A mis padres Gladys y Edison por ser mi apoyo incondicional e impulso para alcanzar mis metas. A mi hermana Jenifer por brindarme su amor. A mi familia y novio por su paciencia y preocupación. A mis amigos que estuvieron presentes y pendientes a lo largo de este camino.

Johanna Álvarez

Dedico este trabajo a Dios guía espiritual en mi camino, a mi familia, pilar fundamental de mi vida, dentro de esta, gracias a mis cuatro madres guías y compañeras, a mi padre figura a seguir, a mi hermano compañero a la distancia.

Raquel Sánchez

Agradecimientos

Agradecemos a nuestro tutor Lcdo. Luis Alberto Valdés S. MSc. por su apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos. A la PhD. María Elena Maldonado por confiar en nosotras para sacar adelante el presente proyecto; al Dr. José Álvarez por su valiosa colaboración.

A los laboratorios del área de Ciencias de la Vida y a todos sus funcionarios por la paciencia y apoyo durante esta etapa.

A la Universidad Politécnica Salesiana por los conocimientos transmitidos durante estos cinco años para formarnos como buenas personas y excelentes profesionales.

Johanna Patricia Álvarez Mesías

Estefanía Raquel Sánchez Casamen

Índice

Introducción	1
1. Marco conceptual.....	4
1.1. Miel	4
1.1.1. Características Generales	4
1.1.2. Componentes de la miel	5
1.1.3. Tipos de miel.....	6
1.1.4. Formas de obtención	8
1.1.5. Importancia económica	10
1.1.6. Producción de miel de abeja en el Ecuador	11
1.2. Propiedades físico-químicas y biológicas de la miel.....	15
1.2.1 Propiedades físicas.....	15
1.2.1.1. Contenido de humedad:	15
1.2.1.2. Contenido de cenizas o sustancias minerales:	15
1.2.1.3. Contenido de sacarosa:	15
1.2.1.4. Densidad y densidad relativa:	16
1.2.1.5. Color:	16
1.2.1.6. Conductividad eléctrica:	16
1.2.1.7. pH:	17
1.2.1.8. Acidez:	17
1.2.1.9. Índice de refracción:	17
1.2.1.10. Grados Brix:.....	17
1.2.2 Propiedades químicas	18
1.2.2.1. Carbohidratos:	18
1.2.2.2. Ácidos:	18

1.2.2.3. Las enzimas:.....	19
1.2.2.4. Proteínas y aminoácidos.....	19
1.2.2.5. Flavonoides	19
1.2.2.6. Polifenoles.....	20
1.2.2.7. Capacidad Antioxidante	20
1.2.2.8. Metales pesados y minerales:.....	20
1.2.3. Propiedades biológicas.....	21
1.2.3.1. Actividad antimicrobiana.....	21
1.2.3.2. Actividad astringente y suavizante	24
1.2.3.3. Valor nutritivo.....	24
1.3. Red de supermercados	25
2. MÉTODOS Y MATERIALES.....	27
2.1. Materia Prima	27
2.2. Propiedades físicas	27
Materiales y Equipos:	27
2.2.2. Contenido de Cenizas	28
2.2.3. Densidad.....	29
2.2.4. Conductividad eléctrica.....	29
2.2.5. pH.....	29
2.2.6. Grados Brix e Índice de refracción	30
2.2.7. Color.....	30
2.3. Propiedades químicas	31
2.3.1. Determinación de Fenoles Totales	31
2.3.2. Flavonoides	31
2.3.3. Actividad antioxidante	32

2.3.4.	Cuantificación de oligoelementos y metales pesados	33
2.4.	Propiedades biológicas	34
2.4.1.	Actividad Antimicrobiana.....	34
3.	RESULTADOS Y DISCUSION	37
3.1.	Propiedades físicas	37
3.1.1.	pH.....	37
3.1.2.	Conductividad	38
3.1.3.	Acidez total	38
3.1.4.	Índice de refracción.....	38
3.1.5.	Grados Brix	39
3.1.6.	Porcentaje de Humedad.....	39
3.1.7.	Porcentaje de Cenizas	39
3.1.8.	Color.....	40
3.2.	Propiedades Químicas	42
3.2.1.	Polifenoles.....	42
3.2.2.	Flavonoides	43
3.2.3.	Capacidad Antioxidante	43
3.2.4.	Metales pesados y Oligoelementos	43
3.2.4.1.	Curvas de calibración.....	43
3.2.4.2.	Oligoelementos	48
3.2.4.3.	Metales Pesados	48
3.3.	Propiedades Biológicas	49
3.3.1.	Capacidad Antimicrobiana:.....	49
3.3.1.1	Análisis Cualitativo	49
3.3.1.2.	Análisis Cuantitativo:	51

Conclusiones	58
Recomendaciones.....	61
Referencias.....	62

Índice de tablas

Tabla 1. Composición de la miel de abeja	6
Tabla 2. Protocolo de Cosecha de miel de abeja.....	9
Tabla 3. Producción histórica de miel de abeja en Ecuador.....	12
Tabla 4. Producción de miel de abeja en Ecuador desde 2001 hasta 2012	13
Tabla 5. Producción de miel de abeja en Ecuador por provincia.....	14
Tabla 6. Porcentaje de los principales azúcares presentes en la miel	18
Tabla 7. Cantidad de minerales necesarios en la dieta diaria.....	21
Tabla 8. Cantidad de metales pesados sugeridos en la dieta diaria.....	21
Tabla 9. Aplicaciones de las Cepas ATCC	23
Tabla 10. Valor nutritivo de la miel	24
Tabla 11. Participación de Mercadeo del Sector de Supermercados en el año 2012	25
Tabla 12. Códigos asignados a las muestras de miel comercial.....	27
Tabla 13. Tabla de color.....	30
Tabla 14. Estándares para la curva de calibración en el ensayo de determinación de fenoles totales.....	31
Tabla 15. Estándares para la curva de calibración en ensayo de determinación de flavonoides	32
Tabla 16. Longitud de onda en ensayo de cuantificación de metales pesados.....	33
Tabla 17. Longitud de onda en ensayo de cuantificación de oligoelementos	33
Tabla 18. Cepas ATCC en ensayo de actividad antimicrobiana	34
Tabla 19. Medios de cultivo óptimos para cepas ATCC.....	35
Tabla 20. Resultados de las propiedades físicas estudiadas en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito....	37

Tabla 21. Resultados del estudio de color en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito	40
Tabla 22. Resultados de las propiedades químicas estudiadas en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito	42
Tabla 23. Estándares para cura de calibración de oligoelementos	44
Tabla 24. Estándares para curva de calibración de metales pesados	44
Tabla 25. Presencia de halos de inhibición en las distintas concentraciones de miel frente a las cepas ATCC.....	50

Índice de figuras

Figura 1. Valor en dólares de miel expendida por los principales vendedores entre 2009 y 2013.....	10
Figura 2. Valor en dólares de la adquisición de miel de los 10 principales países compradores entre el 2009 y 2013.	11
Figura 3. Distribución Geográfica de Supermercados en el Ecuador en el año 2013	26
Figura 4. Distribución de las concentraciones de miel en las Cajas Petri para el ensayo de actividad antimicrobiana	36
Figura 5. Color de las cinco muestras de mieles comerciales: A: miel I.1; B: miel I.2; C: miel I.3; D: miel I.4; E: miel 1.5	41
Figura 6. Curvas estándares de las concentraciones (ppm) de oligoelementos en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del DMQ: A: Sodio; B: Potasio; C: Calcio; D: Manganeso; E: Magnesio	45
Figura 7. Curvas estándares de las concentraciones (ppm) de metales pesados en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del DMQ: A: Plomo; B: Cobre; C: Plata; D: Cromo; E: Níquel	46
Figura 8. Cuantificación de A: oligoelementos gr/100gr de miel; B: metales pesados gr/100gr de miel	47
Figura 9. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a: A: <i>Clostridium perfringes</i> , B.- <i>Staphylococcus epidermidis</i> , C.- <i>Bacillus spizizenii</i> , D.- <i>Staphylococcus aureus</i>	51

Figura 10. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a: A.- *Pseudomona aeruginosa* B.- *Salmonella typhimurium*; C.- *Klebsiella pneumoniae*; D.- *Escheaichia coli*..... 54

Figura 11. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a *Kloeckera apiculata var apis* 56

Resumen

El presente trabajo de investigación estudia las propiedades físico-químicas y biológicas de cinco muestras de miel de abeja (*Apis mellifera. L.*) que son comercializadas regularmente en los supermercados de Quito, a fin de demostrar sus amplias aplicaciones, tanto en la industria de los alimentos, en el campo de la medicina, así como el cumplimiento de los parámetros de calidad establecidos por organismos la FAO y por el INEN

Las propiedades físico-químicas analizadas en este estudio fueron: pH, conductividad, acidez total, grados Brix, índice de refracción, porcentaje de humedad, porcentaje de cenizas, metales pesados, capacidad antioxidante, polifenoles y flavonoides; mientras que, la propiedad biológica evaluada fue la actividad antimicrobiana que presenta la miel a diferentes concentraciones frente a diferentes cepas ATCC que incluyen bacterias Gram positivas, Gram negativas, hongos y levaduras.

Los resultados obtenidos en la investigación permiten observar que la mayoría de muestras cumplen las normativas establecidas para cada uno de los parámetros analizados, así como la posibilidad de utilizar la miel con fines terapéuticos contra aquellas bacterias y levaduras que han demostrado resistencia a antibióticos, esto gracias a ciertas propiedades de la miel como pH y acidez. Sin embargo, los hongos seleccionados para la evaluación de la actividad antimicrobiana no generaron halos de inhibición, por lo tanto, la miel no podría considerarse un tratamiento natural apropiado para afecciones fúngicas debido al gran contenido de azúcares que posee y que los hongos utilizan para su crecimiento.

Palabras clave: miel de abeja, actividad antimicrobiana, antioxidantes naturales

Abstract

This research work shows the studies physicochemical and biological properties of five samples of honey bee (*Apis mellifera. L.*) they are regularly sold in the Quito's supermarkets in order to show its wide applications in both industry food in the field of medicine, as well as compliance with the quality parameters set by bodies FAO and the INEN.

The physicochemical properties analyzed in this study were: pH, conductivity, total acidity, Brix, Refractive index, percentage of moisture content, ash content, heavy metals, antioxidant, polyphenols and flavonoids; whereas, the biological property was evaluate antimicrobial activity that have honey at different concentrations versus different strains including ATCC; Gram-positive bacteria and negative, fungi and yeasts.

The results of the research allow us to observe that most samples meet the standards established for each of the parameters analyzed, as well as the possibility of using honey for therapeutic purposes against those bacteria and yeasts that have demonstrated resistance to antibiotics this thanks to certain properties of honey such as pH and acidity. However, fungi selected for evaluation of antimicrobial activity did not generate halos, therefore the honey could not be considered an appropriate natural treatment for fungal conditions due to the high content of sugars that have it and fungi used for their growth.

Key words: honey, antimicrobial activity, natural antioxidants

Introducción

Dentro de todos los supermercados del Distrito Metropolitano de Quito es fácil conseguir ciertos productos naturales como la miel de abeja, la cual ha adquirido gran popularidad debido a su bajo aporte de calorías siendo este de 3,3 kcal/gr al ser utilizada como endulzante, para tratamientos cosméticos caseros y para combatir ciertas afecciones leves como resfriados. Para el “Estudio de las propiedades fisico-químicas y biológicas de cinco muestras de miel (*Apis mellifera. L.*)”, se ha tomado en cuenta varios locales de la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito. En el Distrito Metropolitano de Quito, el mercado se encuentra liderado con un 48,02% por Corporación La Favorita C.A (Borja & Reyes, 2015), la cual cuenta con varios locales para satisfacer la demanda de varios productos. Dentro de los locales dedicados a expender víveres y productos de la canasta básica se puede mencionar: Supermaxi, Megamaxi, Akí, entre otros. A continuación, se encuentra Corporación El Rosado S.A. con una participación en el mercado de 28,69% (Borja & Reyes, 2015); dentro de la cual, los locales dedicados al expendio de alimentos son: Hipermarket y Mi Comisariato.

La miel de abeja es una sustancia de origen natural producida a partir de secreciones de partes vivas de plantas o néctares florales (Soto Vargas, 2008). Para los bromatólogos, la miel es el alimento que contiene todas las vitaminas indispensables para la salud entre las que se encuentran: vitaminas del grupo B, niacina, ácido pantoténico, ácido ascórbico, biotina, entre otros. Sin embargo, a pesar de contener una cantidad considerable de vitaminas, la cantidad de minerales dependerá de los recursos minerales del suelo. También es considerada una importante fuente de energía

ya que contiene alrededor de 70% de azúcares asimilables (Lavandera Rodríguez, 2011).

En cuanto a la composición de la miel, Félix Herrero (2004) expone que dicha composición varía ampliamente, por lo que no existen dos mieles con características iguales respecto a densidad, viscosidad, sabor, etc. El color de la miel se ve influido por varias características; por ejemplo, en las mieles oscuras la acidez y el contenido de minerales es mayor que en las mieles blancas (Herrero García, 2004).

La miel en su composición presenta polifenoles, los cuales están estrechamente relacionados con su apariencia y propiedades funcionales. Los estudios sobre la composición y propiedades biológicas de la miel de abeja son relativamente recientes, y dichas investigaciones se han centrado fundamentalmente en su composición polifenólica. Dichos estudios se han enfocado en compuestos polifenólicos debido a que, los flavonoides, polifenoles y ácidos fenólicos junto con ciertos compuestos nitrogenados, confieren actividad antioxidante a la miel (Cauich , Ruiz, Ortíz, & Segura, 2015).

Desde épocas muy antiguas se ha atribuido a la miel una alta capacidad antimicrobiana ya que era utilizado para curaciones y como antiséptico. Es así que, el peróxido de hidrógeno es el principal agente antimicrobiano, seguido de características físico-químicas como elevada cantidad de azúcar y pH ácido (Montenegro, Salas, Peña, & Pizarro, 2009). Otros factores no basados en peróxido como Metilglioxal, péptido antimicrobiano de abeja defensina-1, Hidroximetifufural (HMF) y compuestos fenólicos (Schencke, Vásquez, Sandoval, & Del Sol, 2016). Por lo tanto, la miel es un producto valorado debido a sus propiedades antiinflamatorias y antibacterianas, siendo útil para el tratamiento de ciertas afecciones como quemaduras, úlceras y heridas (Zamora & Arias , 2011).

Existen estudios en los cuales se ha demostrado alta efectividad de la actividad antimicrobiana de la miel frente a ciertos microorganismos, que en la actualidad la mayoría de especialistas los tratan únicamente mediante fármacos. Dichos microorganismos son: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escheaichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* (Estrada , Gamboa, Chaves, & Arias, 2005).

El presente trabajo busca determinar la composición química, propiedades físicas, capacidad antioxidante y antimicrobiana de cinco mieles de abejas (*Apis mellifera. L.*) distribuidas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito; para lo cual, se establecieron objetivos puntuales como: determinar las características físico-químico de las mieles; identificar los principales grupos bioactivos presentes en las mieles de abejas y finalmente establecer la relación entre las propiedades biológicas y características físico-químicas en estudio.

1. Marco conceptual

1.1.Miel

1.1.1. Características Generales

La miel es considerada un producto que es de origen natural, la cual se obtiene por la unión del néctar floral y de sustancias propias de las abejas; dicha sustancia es colocada y deshidratada en un panal para su posterior maduración. (CODEX, 2001).

La miel, constituye uno de los alimentos más primitivos consumidos por el ser humano a lo largo de la historia. Existe evidencia de la gran importancia y de los varios usos que se le han atribuido, convirtiéndose incluso en un producto de primera necesidad. A su vez, posee grandes propiedades alimentarias, antimicrobianas y terapéuticas lo que la convierte en un alimento saludable para el hombre (Ulloa & Mondregón, 2010).

Las características organolépticas y fisicoquímicas de la miel están muy asociadas con su origen geográfico y botánico; el color puede variar desde blanca agua, pasando por ámbar hasta llegar a oscura; su olor y sabor deben ser los característicos. Su consistencia puede variar desde líquida hasta totalmente cristalizada, ya que habitualmente cristaliza con el tiempo; este proceso es directamente proporcional a la composición de azúcares por lo que las mieles con mayor contenido de glucosa, cristalizarán en forma más rápida. (Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2015)

Por otro lado, la miel es un líquido viscoso que posee carácter higroscópico ya que absorbe agua del medio ambiente; su densidad es mayor que la del agua y su tensión superficial es baja, por lo tanto, estas tensiones junto con una viscosidad alta serán responsables de las características espumosas de la miel (Agencia de Cooperación Internacional de Japón, 2012).

1.1.2. Componentes de la miel

La miel de abeja se caracteriza por poseer una composición acuosa de partículas de tamaños muy variados, estas se pueden evidenciar en la Tabla 1 (Instituto Nacional de tecnología Industrial, 2011).

Tabla 1. Composición de la miel de abeja

Composición de la miel de abeja	
Compuesto	Porcentaje
Hidratos de carbono	Aproximadamente 80%
Fructosa	La fructosa hasta 40% y glucosa (aprox. 30-35%)
Glucosa	Aproximadamente del 5 al 10%
Sacarosa	Entre el 5 y 10%
Agua	del 15 al 20 %
Proteínas	máximo 0,40%
Sustancias Minerales	Hasta 1%:
Oligoelementos	Sodio, Potasio, Magnesio, Calcio y Manganeso
Vitaminas	Vitamina A, C, D, K, Ácido Fólico, Vitamina B2, B6, B12, biotina, niacina, tiamina y Ácido Pantoténico.
Calorías	3,3 kcal/gr

Elaborado por: Las autoras

Fuente: (Instituto Nacional de tecnología Industrial, 2011).

1.1.3. Tipos de miel

Para hacer mención a los diferentes tipos o formas de clasificación de las mieles hay que tomar en cuenta varias consideraciones, entre las que se encuentran según el tipo

de materia prima, origen geográfico, estacionalidad y según su proceso de obtención y presentación (Rodríguez Rivera & Magro, 2008).

a. Según el tipo de materia prima: haciendo referencia al tipo de sustrato que las abejas emplean para elaborar la miel.

- Miel de flores.- estas pueden ser monoflorales o multiflorales, en las monoflorales predomina el néctar de una especie, mientras que en las multiflorales existe néctar de varias especies (Gobierno de Guatemala, 2014).
- Miel de mielada.- es obtenida a partir de las partes vivas de las plantas en específico, de las secreciones dulces (Gobierno de Guatemala, 2014).

b. Según su origen geográfico: Refiriéndose al lugar o ubicación geográfica del cual la miel procede (Rodríguez Rivera & Magro, 2008).

c. Según su estacionalidad: Estación del año en la cual la miel ha sido producida (Rodríguez Rivera & Magro, 2008).

d. Según su proceso de obtención y presentación: Según Rodríguez *et. al* (2008), es la manera en la cual la miel es procesada para llegar al consumidor:

- Miel en panal
- Miel en trozos de panal
- Miel centrifugada
- Miel prensada
- Miel filtrada

(Rodríguez Rivera & Magro, 2008)

1.1.4. Formas de obtención

La principal forma de obtención de la miel y de otros elementos producidos por las abejas, es la apicultura que se define como un proceso donde el cuidado de las abejas permite al hombre obtener productos para el consumo humano tales como; miel, cera y polen; así como otros beneficios que incluye la polinización de las plantas (Fundación Educación para el Desarrollo, 2014).

La producción apícola puede llegar a ser una excelente fuente de ingresos en el área rural agropecuaria, sin embargo, dentro del territorio ecuatoriano se ha minimizado la importancia de la apicultura en el desarrollo de las comunidades y en el crecimiento económico de pequeños y medianos productores, ya que la actividad apícola en esta zona se realiza de forma rudimentaria (Reina Pineda, 2010).

La producción de la cantidad y calidad de miel dependerá de la relación del medio ambiente con la producción de miel, esta relación posee dos conceptos que deben ser entendidos: la afluencia de néctar y la afluencia de la miel, ya que la cantidad y la calidad de miel producida dependerá del néctar secretado por la planta, esto a su vez depende de los factores climáticos y la especie de planta ya que esto condicionara a la planta en la producción de la cantidad de néctar. (Cadena Agroindustrial de la Miel de Abeja, 2004).

Para llevar a cabo el proceso de cosecha de miel es necesario considerar el protocolo propuesto en la tabla 2.

Tabla 2. Protocolo de Cosecha de miel de abeja

SELECCIÓN, CARGA Y TRANSPORTE DE MARCOS CON MIEL	Para seleccionar los panales es necesario identificar los que contengan miel madura; para el desalojo de las abejas es recomendable hacerlo mediante un cepillo, agitación manual o aire a presión. Para el transporte de las cámaras es necesario el empleo de bandejas de acero inoxidable para garantizar la inocuidad de la miel
LOCAL DE COSECHA	Debe ser un lugar cerrado y fácil de limpiar, el cual garantice que la miel no será contaminada por polvo, roedores o cualquier tipo de plaga
DESPERCULADO	Las cámaras deben ser llevadas de inmediato a la desoperculadora una vez que se hayan eliminado todas las crías y la miel de los opérculos deberá ser obtenida mediante centrifugado o gravedad para garantizar su calidad
EXTRACCIÓN	Se lo hace mediante el empleo de una centrífuga fija y con un sistema de frenado y para evitar la ruptura de panales es aconsejable iniciar con una velocidad moderada
FILTRADO	Se lleva a cabo al finalizar la extracción y antes de colocarlo en un envase intermedio o depósito primario; este puede ser de acero inoxidable de grado alimenticio o de vidrio.
ALMACENAMIENTO	Los depósitos primarios deben ser almacenados en un lugar limpio, seco y resguardado de los rayos del sol. No se debe almacenar por tiempos prolongados ni en envases que hayan contenido aceites, plaguicidas u otras sustancias químicas y que presenten signos de oxidación. Estas medidas se toman a fin de evitar cambios físicos y químicos en la miel a comercializarse

Elaborado por: Las autoras

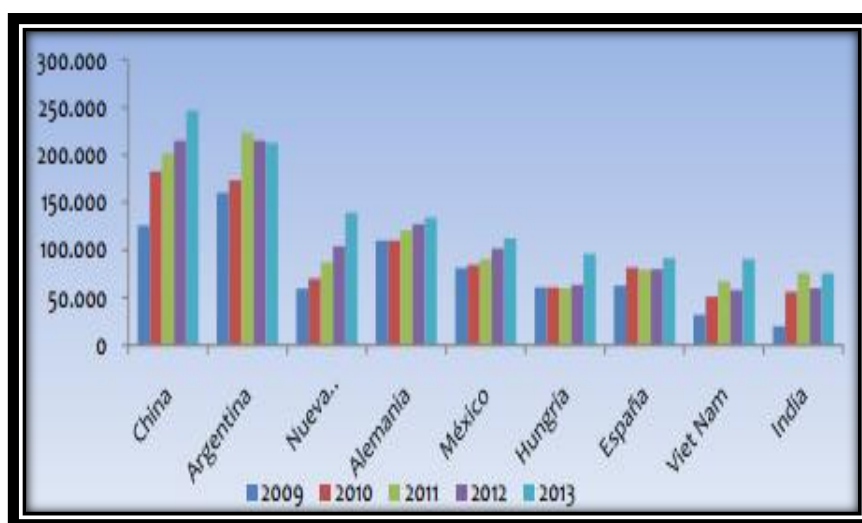
Fuente: (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, 2004)

1.1.5. Importancia económica

A nivel nacional, la importancia de este producto radica en que en ciertos lugares del país se ha convertido en una estrategia frente al desempleo. Por ejemplo, para el año 2013 permitió a 360 familias lojanas obtener ingresos económicos gracias a las 800 colmenas de las cuales extraen miel de abeja, de las cuales se puede alcanzar un ingreso de \$420 por cada 30 litros de miel; a pesar de que Loja se conoce por ser una zona productora de maíz y café (Instituto de Fomento Empresarial, 2014).

La importancia económica de la miel de abeja va en crecimiento, lo cual se puede evidenciar en la figura 1 y figura 2.

Figura 1. Valor en dólares de miel expendida por los principales países vendedores entre 2009 y 2013

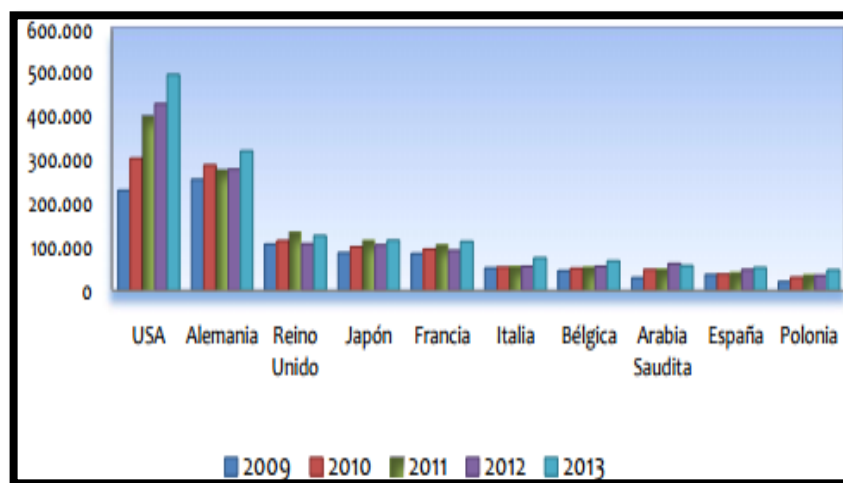


Fuente: (Instituto de Fomento Empresarial, 2014)

El sector ha adquirido una importancia considerable en términos de volúmenes producidos y de calidad de los productos. Su papel preponderante en el mercado

mundial radica en la evolución de la calidad y confiabilidad, habiendo aprobado estándares internacionales cada vez más exigentes.

Figura 2. Valor en dólares de la adquisición de miel de los 10 principales países compradores entre el 2009 y 2013.



Fuente: (Instituto de Fomento Empresarial, 2014).

1.1.6. Producción de miel de abeja en el Ecuador

La miel de abejas desde tiempos antiguos, ha sido uno de los alimentos más completos debido a sus propiedades, por lo que su comercialización se ha venido incrementando con los años, convirtiéndose en un producto muy apreciado en los mercados de varios países. (Palacios, 2013).

Los primeros apicultores en el Ecuador fueron los Hermanos Cristianos de la Salle, que dedicaban parte de su tiempo a la explotación de la miel como un producto para el consumo al interior de sus conventos y el excedente para la venta al público. Es a partir de esta etapa de la historia apícola, que hay una cierta proliferación de contados aficionados de la Apicultura bajo condiciones muy precarias que han logrado capturar los enjambres y ponerlos en cajones rústicos. (Mina Mero & Sánchez Orellana, 2013)

La realidad de la Apicultura ecuatoriana nos indica que es una actividad demasiado restringida, es decir, limitada a un porcentaje mínimo de la población a pesar de la "exuberante vegetación de las regiones del país." (Novoa & Pijal, 2007)

En la tabla 3 mostrada a continuación, según Tatiana Reina (2010), se evidencia el incremento en la producción de miel en el Ecuador desde el año 1975 hasta el año 1997, mostrando el aumento tanto en el número de apicultores, número de colmenas como en la producción expresada en toneladas. En aproximadamente 22 años la producción ha aumentado de 20 toneladas a 1457 toneladas, lo cual pone en evidencia un incremento en el interés del producto tanto de parte de los consumidores como de los productores (Reina Pineda, 2010).

Tabla 3. Producción histórica de miel de abeja en Ecuador

AÑO	Nº APICULTORES	Nº COLMENAS	PRODUCCIÓN (ton)
1975	100	1025	20
1983	326	6424	128
1987	1837	22000	440
1984	2837	37000	795
1994	4282	55849	1200
1997	4983	70000	1457

Fuente: (Reina Pineda, 2010)

Por otro lado, la tabla 4, tomada de Sánchez (2013), muestra la producción de miel en años mas actuales desde el 2001 hasta el 2012 evidenciando el incremento en el número de toneladas de producción , este incremento es de un promedio de 118 toneladas al año , con lo que se constata un constatante desarrollo en el sector apícola.

Tabla 4. Producción de miel de abeja en Ecuador desde 2001 hasta 2012

Año	Toneladas Métricas
2001	1638
2002	1727
2003	1821
2004	1921
2005	2025
2006	2136
2007	2252
2008	2375
2009	2504
2010	2641
2011	2785
2012	2936

Fuente: (Sánchez Coronel, 2013)

Dentro del Ecuador, la mayoría de productores de miel se encuentran en la región Andina. Se ha estimado que aproximadamente 6000 personas se dedican a esta actividad, en la cual más del 90% lo realiza de forma artesanal. En Carchi, por ejemplo, las mieles de mayor aceptación en el mercado son de aguacate, mandarina, café, eucalipto; las cuales son exportadas a países como Estados Unidos, Canadá, España, Francia y Bélgica (El Comercio, 2012).

En la tabla 5 se recalca las provincias con mayor producción en el país, destacándose Pichincha con una producción de 202,50 toneladas.

Tabla 5. Producción de miel de abeja en Ecuador por provincia

PROVINCIA	Nº APICULTORES	Nº COLMENAS	PRODUCCIÓN (ton)
Azuay	70	1300	44,5
Bolívar	70	1600	58
Chimborazo	130	2300	80
Cotopaxi	100	2200	77,5
Imbabura	89	1350	48,75
Loja	57	1010	35,15
Manabí	90	1950	66,75
Pichincha	189	5400	202,5
Tungurahua	163	3820	139,3
TOTAL	949	20930	752,45

Fuente: (Reina Pineda, 2010)

Según Chávez (2014), la producción de miel se encuentra distribuida en las tres regiones de Ecuador; en la Sierra se destacan: Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Azuay, Bolívar y Loja; en la Costa son: Esmeraldas, Manabí, Guayas y en la Amazonía es Zamora Chinchipe. Dentro del mercado nacional existen tres tipos de apicultores, el primero es el apicultor que se dedica a la venta de miel informal sin estar legalizado en el S.R.I.; este apicultor obtiene el producto de panales y no de colmenas elaboradas por el hombre, la miel extraída es 100 % natural, en ocasiones la misma puede ser adulterada con melaza o azúcar para poder satisfacer la demanda, este proceso es ilícito y perjudicial para el consumo. El segundo tipo de apicultor es aquel que posee su microempresa o empresa legalizada y que cumple con las pocas leyes que el Estado exige, dentro de este campo, este tipo de productor está interesado en el desarrollo de esta industria debido a que su objetivo es el posicionamiento como marca dentro del mercado nacional o internacional por medio de la captación de inversionistas o productores. El tercer apicultor es aquel que lo realiza por pasatiempo, este tipo de apicultor pertenece a la clase alta o media alta, no muestra ningún interés en formar una empresa que se dedique a la comercialización de miel de abeja en el

país debido a que realiza esta actividad simplemente por gusto (Falquez Chávez, 2014).

1.2. Propiedades físico-químicas y biológicas de la miel

1.2.1 Propiedades físicas

Debido a que los azúcares son el componente más importante de la miel las características físicas son atribuidas a los tipos y concentraciones de carbohidratos. Por este motivo dichas características son expresadas en rangos o intervalos y no como valores constantes, dependiendo de la metodología empleada para su determinación (Crane, 1979).

1.2.1.1. Contenido de humedad: Éste es considerado como un factor indispensable, ya que es el determinante de una posible contaminación o procesos fermentativos, por lo cual se ha establecido que el porcentaje debe oscilar entre un 17 y 20% (López, Juan, & Escriche, 2015).

1.2.1.2. Contenido de cenizas o sustancias minerales: Según la Norma INEN 1572 el contenido de cenizas tanto de la miel de abeja para el consumo humano directo como la miel de abeja para uso industrial es un máximo de 0,5% en masa (INEN 1572, 1988). Sin embargo, según Morales en el 2016, expone que el porcentaje de cenizas puede alcanzar el 1,5% (Morales, 2016).

1.2.1.3. Contenido de sacarosa: La sacarosa resulta de la unión de la fructosa y glucosa, constituyendo alrededor del 3% de la composición de la miel

(Mendieta, 2002) . A pesar de lo expuesto, según la Norma INEN 1572 (1988) se establece un máximo que, en mieles para consumo humano es de 5% y para las mieles de uso comercial es de 7% (INEN 1572, 1988). Sin embargo, las mieles de citrus, alfalfa, y romero pueden alcanzar un porcentaje máximo de 10% (CODEX ALIMENTARIUS, 2000).

1.2.1.4.Densidad y densidad relativa: La densidad relativa a una temperatura de 27°C debe tener un valor mínimo de 1,39 para las mieles de clase I o mieles de consumo humano y de 1,37 para las mieles de clase II o mieles para uso industrial (INEN 1572, 1988).

1.2.1.5. Color: Según Crane, no existe evidencia de un compuesto específico que determine el color de la miel (Crane, 1979). Ya que el color depende de varios factores como origen botánico, almacenamiento y temperatura los colores de la miel pueden estar en un amplio rango que abarca desde casi incoloro, amarillos, marrones hasta rojos oscuros (Zandamela, 2008).

1.2.1.6. Conductividad eléctrica: Se ha descrito que la conductividad se encuentra estrechamente relacionada con otros parámetros fisicoquímicos de la miel como son proteínas, ácidos orgánicos y sales minerales. De igual manera, se ha descrito que el valor máximo de la conductividad eléctrica debe ser 0,8mS/cm (López, Juan, & Escriche, 2015).

1.2.1.7.pH: El pH hace referencia la alcalinidad o acidez de una solución, la cual se basa en la cantidad de moléculas de H⁺ (Velázquez Monroy & Ordorica Vargas, 2009). Según lo expuesto por Justo en 2015, el pH de la miel debe oscilar alrededor de 3,9; ya que al ser un producto ácido permite la inhibición del crecimiento de microorganismos (Justo, 2015). Sin embargo, otros autores exponen que el rango de pH se encuentra entre 3,0 y 4,5 (Suescún & Vit, 2008).

1.2.1.8.Acidez: Se ve involucrada en el otorgamiento de aroma a la miel, así como evitar su contaminación por microorganismos. También se encuentra asociada al contenido de glucosa, ya que al convertirse de glucosa en ácido glucónico se forma peróxido de Hidrógeno que es responsable de la actividad antimicrobiana de la miel (Zandamela, 2008). Por dichas razones se ha establecido en la norma INEN 1572 (1988) el valor máximo de acidez en la miel es de 40 meq/Kg (INEN 1572, 1988).

1.2.1.9. Índice de refracción: Es aquel que permite determinar rápidamente la humedad de la miel; para lo cual el contenido de agua se encuentra inversamente proporcional al índice de refracción (Suescún & Vit, 2008).

1.2.1.10. Grados Brix: Corresponde a al porcentaje de sólidos solubles presentes en la miel y dicho valor debe estar alrededor de 78°B (Quezada Moreno, 2007).

1.2.2 Propiedades químicas

1.2.2.1. Carbohidratos: son el componente mayoritario de la miel; dentro de estos, la fructosa y glucosa representan el 85% de sus sólidos. Los otros sólidos de la miel incluyen a los menos otros 25 hidratos de carbono complejos, pero algunos de ellos están presentes en baja cantidad (Ulloa & Mondregón, 2010).

Los azúcares son responsables de la resistencia al crecimiento microbiano y del sabor dulce de la miel; este sabor no será igual para todas ya que la composición varía como podemos observar en la Tabla 6. (Soto Vargas, 2008).

Tabla 6. Porcentaje de los principales azúcares presentes en la miel

Componente	Promedio	Rango
Fructosa	38,2	27,2 - 44,3
Glucosa	31,3	22 - 40,7
Maltosa y otros disacáridos superiores	7,31	2,7 - 16,2
Azúcares superiores	1,5	0,1 - 8,5

Fuente: (Soto Vargas, 2008)

1.2.2.2. Ácidos: Soto Vargas (2008), afirma: “La acidez de la miel se valora en unidades de reacción química, cantidad de ácido en una cierta cantidad de miel que está disponible para reaccionar: mili-equivalentes de ácido glucónico por kilo de miel. Este ácido proviene de la transformación de la glucosa” (Soto Vargas, 2008). Es decir, el proceso de transformación de la glucosa incidirá fuertemente en la cantidad de ácido disponible en la miel.

1.2.2.3. Las enzimas: Pueden proceder de las abejas o de ciertas plantas. Las enzimas que son añadidas por las abejas permiten que se lleve a cabo el proceso maduración del néctar, de las cuales una de las más importantes es la α -glucosidasa, otra enzima de importancia es la glucosa oxidasa responsable de la propiedad antimicrobiana ya que genera peróxido de hidrógeno, la catalasa que es responsable de convertir el peróxido de hidrógeno tanto en oxígeno como en agua y la ácido fosfatasa que degrada el almidón (Ulloa & Mondregón, 2010).

1.2.2.4. Proteínas y aminoácidos: El contenido de Nitrógeno indica la presencia de aminoácidos por lo tanto de proteínas. Es así que, del 40 al 80% del nitrógeno presente en la miel corresponde a dichas proteínas. Cerca de 20 proteínas no enzimáticas se han identificado en la miel, muchas de la cuales son comunes a distintas mieles. (Ulloa & Mondregón, 2010).

García *et al* (1986), señalan que el contenido de aminoácidos es constante para todos los tipos de mieles estudiados, dentro de los cuales se destacan prolina y fenilalanina. La prolina se caracteriza por originarse en el polen consumido por las abejas (García, Soto, & Romo , 1986).

1.2.2.5. Flavonoides: Son polifenoles que poseen la actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres. Su actividad antioxidante se debe principalmente a su estructura individual que posee al menos dos subunidades fenólicas y el número de oxidrilos sustituyentes (Hernández, 2013). Los valores deben estar entre 11,46 – 116,67 mg CAT/kg (Cauich , Ruiz, Ortíz, & Segura, 2015).

1.2.2.6. Polifenoles: Tiene la capacidad de interferir en la actividad de ciertas enzimas, así como en distintos procesos celulares; así como en la participación de distintas reacciones metabólicas celulares de óxido reducción, es decir tiene un efecto benéfico como antioxidante (Quiñonez, Miguel , & Aleixandre , 2012). Los límites que se han establecido para polifenoles son un mínimo de 38,1 y un máximo de 173,1 mg EAG/100gr (mg equivalentes de Ácido Gálico por cada 100gr de miel) (Apigal, s.f).

1.2.2.7. Capacidad Antioxidante: Se refiere a que, en un sistema oxidativo controlado se puede cuantificar analíticamente las concentraciones de radicales de diferente naturaleza (Ciappini, Stoppani, Martinet, & Alvarez, 2013). La capacidad antioxidante de la miel se lleva a cabo por la participación de polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos, compuestos nitrogenados, vitamina C, carotenoides, etc. (Cauich , Ruiz, Ortiz, & Segura, 2015). Los rangos óptimos en los que se encuentra este parámetro son 10,2 y 49 $\mu\text{mol ET}/100\text{gr}$ (micromoles equivalentes de Trolox por cada 100gr de miel) (Apigal, s.f).

1.2.2.8. Metales pesados y minerales:

Los minerales son elementos químicos que participan en funciones como construcción de tejidos, así como desarrollo y regulación del metabolismo al asociarse con enzimas y proteínas. Dichos minerales se clasifican en macrominerales y microminerales dependiendo de la cantidad en la que se encuentran en el cuerpo (Ramírez, Bonete, & Martínez, 2015). La cantidad que dichos minerales deben ser ingeridos diariamente se muestran a continuación en la tabla 7.

Tabla 7. Cantidad de minerales necesarios en la dieta diaria

Minerales principales	Consumo Diario
Calcio	0,9 g
Fósforo	1,5 g
Potasio	3,2 g
Sodio	3,4 g
Cloro	5,2 g
Magnesio	0,3 g
Hierro	14 mg
Zinc	11,4 mg

Fuente: (Vives, s.f)

Los metales pesados son aquellos que han demostrado poseer efectos tóxicos sobre las células, a pesar de haberse demostrado que muchos de ellos son esenciales en el crecimiento. Por otro lado, se caracterizan porque su densidad es igual o supera los 5 gr/cm³ (Cañizares, 2000). Sus valores de ingesta se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Cantidad de metales pesados sugeridos en la dieta diaria

Elementos traza	Consumo Diario
Fluoruro	1,82 mg
Cobre	1,63 mg
Selenio	0,06mg
Yodo	0,024 mg
Manganeso	5 mg
Cromo	0,09 mg
Cobalto	0,3 mg

Fuente: (Vives, s.f)

1.2.3. Propiedades biológicas

1.2.3.1. Actividad antimicrobiana: Dicha propiedad es atribuida por la acidez propia de la miel. Sackett en 1919 demostró que la miel poseía actividad antibacteriana al revelar que varias bacterias sucumbían en diluciones de miel esterilizada. Por otro lado, estudios manifiestan que la miel pura sin calentar actúa frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. También se encontró

que la miel de mielada, conocida como miel de secreciones de partes vivas, presenta mayor efecto bactericida que las mieles florales. Así también, Plachy en 1944, reportó que las mieles cultivadas en altitudes sobre los 1000msnm poseen el doble de eficiencia que las cultivadas bajo dicha altitud (Contreras Ruiz, 2014).

La selección de las cepas microbianas se realiza de acuerdo a las aplicaciones especificadas por “American Type Culture Collection”, tal como se observa en la tabla 9 mostrada a continuación.

Tabla 9. Aplicaciones de las Cepas ATCC

Gram positivos	<i>Clostridium perfringes</i> (ATCC 13124)	Cepa de control de calidad.
	<i>Lactobacillus Casei</i> (ATCC 393)	Cepa de control de calidad.
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 14990)	Pruebas de inhibición. Cepa de control de calidad.
	<i>Bacillus spizizenii</i> (ATCC 6633)	Ensayo frente a diferentes antibióticos como: frameticina, kanamicina, penicilina, neomicina. Pruebas de actividad antimicrobiana. Pruebas de sensibilidad de disco.
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538P)	Ensayo frente a diferentes antibióticos como: penicilina, gentamicina, tetraciclina, vancomicina.
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 314)	Cepa de control de calidad
Gram negativos	<i>Pseudomona aeruginosa</i> (ATCC 27853)	Pruebas de susceptibilidad de discos.
	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 13311)	Investigación de enfermedades infecciosas emergentes. Prueba de bactericidas.
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 10031)	Pruebas de inhibición.
	<i>Escheharichia coli</i> (ATCC 9637)	Farmacéutico y cuidado personal.
Hongos	<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 28188)	Investigación Biomédica y Desarrollo de materiales.
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)	Análisis de productos alimenticios.
Levaduras	<i>Kloeckera apiculata var apis</i> (ATCC 32857)	Cepa de control de calidad.
	<i>Candida kefyr</i> (ATCC 204093)	Cepa de control de calidad.
	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	Ensayo de fungicida nistatina. Cepa de control para la identificación.
	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	Cepa de control de calidad. Análisis de productos alimenticios. Farmacéutico y cuidado personal.

Elaborado por: Las autoras

Fuente: (American Type Culture Collection, 2016)

1.2.3.2. Actividad astringente y suavizante: Debido a las características anteriormente mencionadas son una materia prima muy conocida en el mundo de la cosmética principalmente en la preparación de productos faciales como mascarillas de limpieza facial (Gutiérrez, Rodríguez, & Vit, 2008).

1.2.3.3. Valor nutritivo: Al ser un producto de origen natural es consumido sin restricción por la mayoría de los consumidores. Esto se debe a que es reconocido por su poder edulcorante y energético; así como también por su fácil asimilación (Instituto Nacional de tecnología Industrial, 2011).

A continuación, en la tabla 10 Se muestra el valor nutritivo de la miel

Tabla 10. Valor nutritivo de la miel

Humedad	17,2 g
Hidratos de Carbono	78g
Grasa	0,0g
Valor energético	302 Kcal
Porción comestible	100%
MINERALES	
Calcio	20,0 mg
Fósforo	16,0 mg
Hierro	0,8 mg
Magnesio	3,0 mg
Sodio	5,0 mg
Potasio	51,0 mg
VITAMINAS	
Ácido ascórbico	4,00 mg
Tiamina	0,01 mg
Riboflavina	0,07 mg
Niacina	0,20 mg

Fuente (Silva Arcos & Toapanta Oña, 2011)

1.3. Red de supermercados

La red de supermercados en el país está conformada por 11 empresas, de las cuales, 3 lideran el mercado nacional entre las cuales se encuentran Corporación La Favorita C.A liderando el mercado; a continuación se encuentra Corporación El Rosado y finalmente Tiendas Industriales Asociadas S.A. Dicho liderazgo se puede observar en la tabla 11, en la cual se proporciona información sobre el porcentaje de participación de mercado de las empresas con su respectivo valor en dólares de sus ventas realizadas en el año 2012 (Borja & Reyes, 2015).

Tabla 11. Participación de Mercadeo del Sector de Supermercados en el año 2012

Nombre de la Empresa	Ventas (millones de USD)	Participación de mercado (%)
Corporación La Favorita C.A	1647	48,02
Corporación El Rosado S.A.	983,93	28,69
Tiendas Industriales Asociadas (TÍA) S.A.	478,46	13,95
Dávila Corral Claybert & Asociados Cía. Ltada	70,72	2,06
Multiservicios Juan de la Cruz S.A.	55,54	1,62
Comisariato de las Fuerzas Armadas	41,04	1,2
Comercial Norman Quezada Cía. Ltada	36,37	1,06
Repartos Alimenticios Reparti S.A.	36,11	1,06
CORDIALSA	31,02	0,9
Distribuidores del Oriente Cía. Ltada.	27,45	0,8
Magda Espinosa S.A.	22,24	0,65
TOTAL VENTAS	3429,88	100

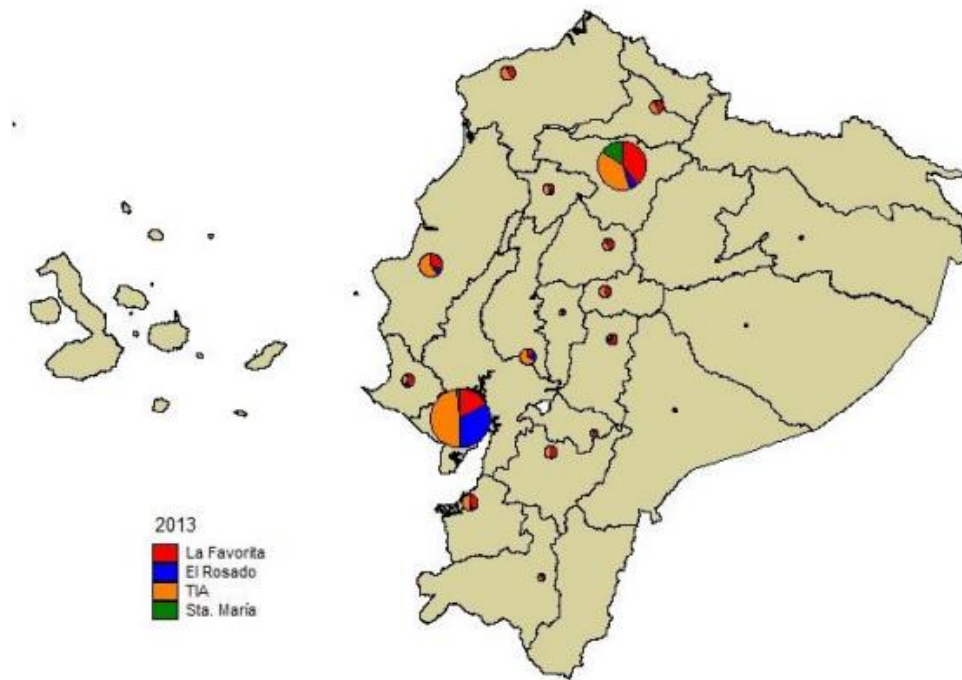
Fuente: (Borja & Reyes, 2015)

A pesar de ser un número significativo de empresas, éstas no se encuentran distribuidas de forma equitativa en todo el Ecuador. Esto puede deberse a las distintas necesidades que presenta cada provincia, así como la extensión territorial de cada provincia y el tamaño de su población.

Dentro de Ecuador, Pichincha y Guayaquil destacan debido al número significativo de supermercados que presentan, a fin de saciar la demanda de todos sus habitantes. Para

ratificar lo mencionado anteriormente, la gráfica 3 indica la distribución de supermercados en todo el Ecuador (Borja & Reyes, 2015).

Figura 3. Distribución Geográfica de Supermercados en el Ecuador en el año 2013



Fuente: (Borja & Reyes, 2015)

2. MÉTODOS Y MATERIALES

2.1. Materia Prima: Para todos los ensayos se emplearon 5 muestras de mieles comercializadas en diversos supermercados de la ciudad de Quito, a las cuales se les asignó un código específico (Tabla 12).

Tabla 12. Códigos asignados a las muestras de miel comercial

CÓDIGO
I.1
I.2
I.3
I.4
I.5

Elaborado por: Las autoras

2.2. Propiedades físicas

2.2.1. Contenido de humedad

Materiales y Equipos: Balanza analítica “METTLER TOLEDO-NL204/01”, Mufla “THERMO LYNE-F48010”, Crisoles de porcelana, Desecador, Espátula, Piseta, Vaso de precipitación de 50mL.

Reactivos: Miel, Agua destilada.

Método. - Para la determinación del contenido de humedad se empleó la metodología propuesta por INEN 1632, (1989), se realizaron tres registros para cada muestra de miel. El contenido de humedad se cuantificó mediante la siguiente fórmula:

$$Hg = \frac{M2 - M1}{M2 - M} * 100$$

Dónde:

Hg= Porcentaje de pérdida de peso por desecación (%)

M= Masa de la capsula vacía con peso constante

M1= Masa de la capsula con la porción de ensayo desecada (g)

M2=Masa de la capsula con la muestra de ensayo (g)

2.2.2. Contenido de Cenizas

Materiales y equipos: Espátula, Desecador, Balanza analítica “METTLER TOLEDO-NL204/01”, Crisoles de porcelana, Mufla “THERMO LYNE-F48010”.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, agua destilada.

Método. - Para la determinación del contenido de cenizas totales se empleó la metodología propuesta en la normativa INEN 1572, (1988), se realizaron tres repeticiones por cada muestra de miel. El valor de cenizas totales se determinó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Ceniza Total} = \frac{P1 - P2}{M} * 100\%$$

Dónde:

P1: Peso de ceniza registrado (gr)

P2: Peso del crisol constante registrado (gr)

M: Peso de la muestra registrado (gr).

2.2.3. Densidad

Materiales y equipos: Densímetro “METTLER TOLEDO-DM 40”, Baño maría “SHEL LAB-CORNELIUS OR 97113”, Balanza analítica “METTLER TOLEDO-NL204/01”, Balón de 50mL.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, agua destilada, acetona.

Método. - En el balón de 50mL se pesó 1gr de miel y se la diluyó con 40mL de agua destilada. Una vez homogenizado se llevó al densímetro para su medición por triplicado

2.2.4. Conductividad eléctrica

Materiales y equipos: Conductímetro “OAKTON-PC700”, Agitador magnético “THERMO SCIENTIFIC-SP131015”, Vasos de precipitación de 250mL.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, Agua destilada.

Método. - Para la determinación de la conductividad se empleó la metodología propuesta por International Honey Commission, (2009), donde se realizaron seis mediciones por cada muestra de miel.

2.2.5. pH

Materiales y equipos: pH metro “OAKTON-PC700”, Agitador magnético “THERMO SCIENTIFIC-SP131015”, Vasos de precipitación de 250mL.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, agua destilada, soluciones de calibración del pH metro.

Método Para la determinación del pH se empleó la metodología propuesta por International Honey Commission, (2009), donde se realizaron 6 registros de medición de pH para cada una de las muestras de mieles.

2.2.6. Grados Brix e Índice de refracción

Materiales y equipos: Refractómetro “ATAGO-NAR-1T LIQUID”.

Reactivos: Muestras de miel de abeja.

Método. - Se empleó el refractómetro para las mediciones, las cuales se realizaron por triplicado para cada muestra de miel (KRÜSS, 2016).

2.2.7. Color

Materiales y equipos: Turbidímetro “Lovoibond-TurbiDirect”, Balanza analítica “METTLER TOLEDO- NL204/01”, Vaso de precipitación.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, Agua destilada.

Método. - Se diluyó 2,5gr de miel y se aforó a 10mL con agua destilada. Homogenizar y leer en el colorímetro por triplicado. Comparar con la tabla 13 propuesta por Montenegro *et al* (2005), para establecer tono de miel.

Tabla 13. Tabla de color

MIEL	Escala de Pfund en mm	ABSORBANCIA
Blanco Agua	0 - 8	0,104 - 0,125
Extra Blanco	8 - 16,5	0,125 - 0,148
Blanco	16,5 - 34	0,148 - 0,195
Ámbar Extra Claro	34 - 50	0,195 - 0,238
Ámbar Claro	50 - 85	0,238 - 0,333
Ámbar	85 - 114	0,333 0,411
Oscuro	Más de 114	0,411 o más

Fuente: (Montenegro, Avallone, Crazov, & Aztarbe, 2005)

2.3. Propiedades químicas

2.3.1. Determinación de Fenoles Totales

Materiales y equipos: Espectrofotómetro, Celdas de medición, Espátula, Micropipetas, Puntas para micropipeta, Piseta, Balanza analítica, Tubos ependorf, Balones de 50mL.

Reactivos: Miel, agua destilada, reactivo Folin-Ciocateu, ácido gálico, carbonato de Sodio.

Método. - Para la determinación de fenoles totales se aplicó el método de Folin-Ciocateu propuesto por García, Fernández & Fuentes, (2015). Los estándares utilizados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Estándares para la curva de calibración en el ensayo de determinación de fenoles totales

Nº de estándar (STD)	Componentes	Molaridad del estándar (mM)
STD ₁	500µL de solución Madre + 500µL de agua destilada	3
STD ₂	300µL de solución madre + 600µL de agua destilada	2
STD ₃	500µL de STD ₁ + 500µL de agua destilada	1,5
STD ₄	500µL de STD ₂ + 500µL de agua destilada	1
STD ₅	500µL de STD ₃ + 500µL de agua destilada	0,75
STD ₆	500µL de STD ₄ + 500µL de agua destilada	0,5

Elaborado por: Las autoras

2.3.2. Flavonoides

Para este experimento se basó en la metodología propuesta por (Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, & Legret, 1994). Los estándares utilizados para la curva de calibración se muestran en la tabla 15.

Tabla 15. Estándares para la curva de calibración en ensayo de determinación de flavonoides

Nº de estándar (STD)	Componentes	Molaridad del estándar (mM)
STD ₁	500µL de solución Madre + 500µL de agua destilada	0,5
STD ₂	300µL de solución Madre + 600µL de agua destilada	0,3
STD ₃	500µL de STD ₁ + 500µL de agua destilada	0,25
STD ₄	500µL de STD ₂ + 500µL de agua destilada	0,15
STD ₅	500µL de STD ₃ + 500µL de agua destilada	0,125
STD ₆	500µL de STD ₄ + 500µL de agua destilada	0,075
STD ₇	500µL de STD ₅ + 500µL de agua destilada	0,0625
STD ₈	500µL de STD ₆ + 500µL de agua destilada	0,0375

Elaborado por: Las autoras

2.3.3. Actividad antioxidante

Materiales y equipos: Espectrofotómetro, Celdas de medición, Espátula, Micropipetas, Puntas para micropipeta, Piseta, Balanza analítica, Tubos ependorf, Balones de 50mL.

Reactivos: Miel, Agua destilada, ABTS, Trolox, Peroxo Sulfato de Potasio.

Método. - Se preparó con 16 horas de anterioridad ABTS 7mM y Peroxo Sulfato de Potasio 2,45 mM y conservar en oscuridad. Para la curva de calibración de Trolox, pesar 16,3 mg de Trolox en 25mL de etanol para generar la solución madre al 100%, se diluyó la solución madre para conseguir soluciones al 75%, 50%, 25%, y 12,5%. Para la lectura en el espectrofotómetro a 734nm se colocó en una celda 1mL de ABTS y 10µL de Trolox. Por otro lado, para las muestras se diluyó 1gr de miel en 10mL de agua destilada, de lo cual, para su lectura se colocó en la celda 10µL de la dilución de miel con 1mL de ABTS.

2.3.4. Cuantificación de oligoelementos y metales pesados

Materiales y equipos: Balanza analítica, Baño maría, Pipeta, Balón de 50mL, Espectrofotómetro de absorción atómica.

Reactivos: Miel, Agua destilada, Ácido Nítrico.

Método. - Se llevó a cabo mediante lo expuesto por (González , Ahumada, Medina, Neira, & González, 2004) La longitud de onda a la que debe ser leída cada metal se presenta en las tablas 16 y 17.

Tabla 16. Longitud de onda en ensayo de cuantificación de metales pesados

METALES PESADOS	LONGITUD DE ONDA (nm)
Ni	232
Cu	324,7
Cr	357,9
Pb	217
Ag	328,1

Elaborado por: Las autoras

Tabla 17. Longitud de onda en ensayo de cuantificación de oligoelementos

OLIGOELEMENTO	LONGITUD DE ONDA (nm)
K	769,9
Ca	422,7
Na	589
Mn	279,5
Mg	202,6

Elaborado por: Las autoras

2.4. Propiedades biológicas

2.4.1. Actividad Antimicrobiana

Materiales y equipos: Incubadora, Cámara de flujo, Plancha de agitación, Mecheros de alcohol, Cajas Petri, Asas de vidrio y metálicas, Vasos de precipitación de 50mL, Gradillas, Parafilm, Tubos de ensayo, Micropipetas, Puntas para micropipetas.

Reactivos: Muestras de miel de abeja, Agua destilada, PDA, SDA, TSA, MRS, YPD.

Método. - La actividad antimicrobiana se midió frente a varias cepas de microorganismos ATCC (tabla 18).

Tabla 18. Cepas ATCC en ensayo de actividad antimicrobiana

Gram positivos	<i>Clostridium perfringes</i> (ATCC 13124)
	<i>Lactobacillus Casei</i> (ATCC 393)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 14990)
	<i>Bacillus spizizenii</i> (ATCC 6633)
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538P)
	<i>Lactobacillus achidophilus</i> (ATCC 314)
Gram negativos	<i>Pseudomona aeruginosa</i> (ATCC 27853)
	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 13311)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 10031)
	<i>Escheaichia coli</i> (ATCC 9637)
Hongos	<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 28188)
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)
Levaduras	<i>Kloeckera apiculata var apis</i> (ATCC 32857)
	<i>Candida kefyri</i> (ATCC 204093)
	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)
	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)

Elaborado por: Las autoras

Se tomó un tubo de ensayo con 10mL de agua estéril, se añadieron 4 asadas del microorganismo y se homogenizó de manera manual. Para comprobar la concentración

del inóculo se empleó el método de Mac Farland con una concentración de 10^6 UFC/ml. Posterior, se tomó 500µL y se resembró en una caja Petri con un medio de cultivo específico para cada microorganismo, tal como se observa en la tabla 19. Incubar a 24°C por 24 horas las bacterias y 120 horas los hongos y levaduras.

Tabla 19. Medios de cultivo óptimos para cepas ATCC

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO
<i>Clostridium perfringes</i>	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	TSA
<i>Bacillus spizizenii</i>	AN
<i>Staphylococcus aureus</i>	TSA
<i>Lactobacillus Casei</i>	MRS
<i>Lactobacillus achidophilus</i>	MRS
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	TSA
<i>Salmonella typhimurium</i>	TSA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TSA
<i>Eschea richia coli</i>	TSA
<i>Trichophyton rubrum</i>	PDA
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	PDA
<i>Kloeckera apiculata var apis</i>	TSA
<i>Candida kefyri</i>	PDA
<i>Candida tropicalis</i>	SDA
<i>Candida albicans</i>	PDA

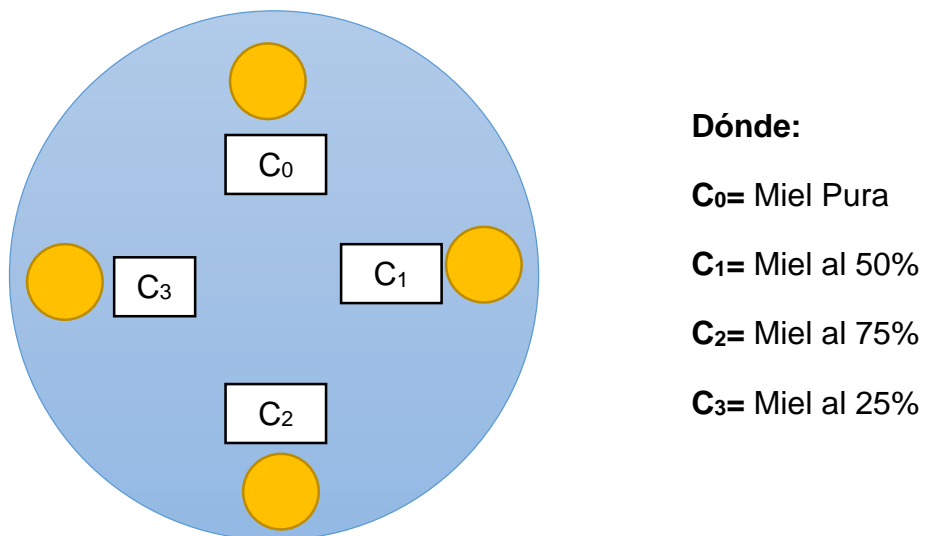
Elaborado por: Las autoras

Para el ensayo de potencial antimicrobiano, se realizaron 4 orificios de 7mm de diámetro en cada placa Petri con la ayuda de la parte posterior de puntas plásticas estériles para micropipeta de 1mL. En los orificios, colocar las distintas

concentraciones de mieles diluidas en agua destilada, tal como se muestra en la figura 4. La medición de los halos de inhibición se realizó dos veces al día, con un intervalo de 8 horas entre la primera y la segunda medición, durante 72 horas.

Se consideró positiva la prueba de inhibición al obtener halos superiores a 7mm

Figura 4. Distribución de las concentraciones de miel en las Cajas Petri para el ensayo de actividad antimicrobiana



Elaborado por: Las autoras

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Propiedades físicas

La tabla 20 pone en evidencia los resultados referentes a los experimentos realizados para el análisis de las propiedades físicas propuestas para éste estudio.

Tabla 20. Resultados de las propiedades físicas estudiadas en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito

	pH	Conductividad (mS/cm)	Acidez total (meq/kg)	Índice de refracción	Grados Brix	% humedad	% ceniza
I.1	4,46	0,48	19	1,489	83,50	11,65	0,17
I.2	3,68	0,24	28	1,487	80,00	14,45	0,03
I.3	4,54	0,48	29	1,492	82,50	11,78	0,18
I.4	3,64	0,22	27	1,485	81,00	13,62	0,03
I.5	4,04	0,41	38	1,491	81,75	12,31	0,20
Media	4,07	0,37	28,20	1,49	81,75	12,76	0,12
Desviación estándar	0,42 2	0,13	6,773	0,003	1,346	1,224	0,084
Máximo	4,54	0,48	38	1,492	83,50	14,45	0,20
Mínimo	3,64	0,22	19	1,485	80,00	11,65	0,03

Elaborado por: Las autoras

3.1.1. pH: Los valores obtenidos en este parámetro oscilan entre 3,64 correspondiente a la miel I.4 y 4,54 correspondiente a la miel I.3; con un valor medio de $4,07 \pm 0,422$. Según Suescún & Vit (2008), el pH debe estar entre 3,0 y 4,5 por lo cual los valores obtenidos experimentalmente son considerados idóneos ya que se encuentran dentro de los límites sugeridos (Suescún & Vit, 2008) Y de acuerdo al ANOVA realizado no se encontró diferencia significativa.

3.1.2. Conductividad: Los datos registrados en este experimento se encuentran en un rango de 0,22 hasta 0,48mS/cm; en el cual el valor mínimo corresponde a la miel I.4 y el valor máximo corresponde a la miel I.3; con una media de $0,37 \pm 0,13$. Estos valores son normales ya que se encuentran registrados dentro de lo expuesto por (López, Juan, & Escriche, 2015); en donde se propone que la conductividad de la miel debe oscilar alrededor de 0,8mS/cm ya que este parámetro se encuentra relacionado con la presencia de ácidos orgánicos, proteínas y sales (López, Juan, & Escriche, 2015).

3.1.3. Acidez total: Para este parámetro, el valor mínimo corresponde a la miel I.1 y es de 19meq/kg, mientras que el valor máximo obtenido correspondiente a la miel I.5 es de 38meq/kg; por lo que la media es de $28,20 \pm 6,77$ meq/kg. De acuerdo a la norma (INEN 1572, 1988) se establece que la acidez total debe tener un máximo de 40meq/kg por lo que los datos experimentales están dentro del rango dado en la normativa INEN 1572; sin embargo, al ser valores bajos pueden influir de manera directa sobre la actividad antimicrobiana presente en la miel (Zandamela, 2008).

3.1.4. Índice de refracción: Los valores conseguidos en el experimento oscilan entre 1,485 y 1,492; por lo cual los datos están dentro lo establecido en la norma INEN 1632 (1989), en donde, el rango a una temperatura de 20°C, varía entre 1,4740 y 1,5044 (INEN 1632, 1989). Al ser éste parámetro inversamente proporcional al porcentaje de humedad corroboramos que el valor mínimo de índice de refracción que corresponde a la miel I.4 coincide con el valor más alto de porcentaje de humedad. Por otro lado, el valor más alto del índice de

refracción no coincide con el menor porcentaje de humedad; esto puede deberse a que los valores citados fueron obtenidos a diferente temperatura (Suescún & Vit, 2008).

3.1.5. Grados Brix: Se puede observar que los valores obtenidos fluctúan entre 80 y 83,5°B, lo cual no se coincide a lo descrito, en donde se propone que los Grados Brix deben hallarse alrededor de 78°B (Quezada Moreno, 2007); es decir, los sólidos solubles presentes en las muestras de miel están en mayor cantidad de lo previsto, evidenciando un alto contenido de glucosa que pudo haber sido adicionada externamente durante todo el proceso de obtención del producto.

3.1.6. Porcentaje de Humedad: En cuanto al porcentaje de humedad, se obtuvieron valores por debajo de lo establecido por López et al (2015) en donde el rango fijado es entre 17 y 20%; dicho rango se debe a que, a porcentajes menores del 17% entorpece el proceso fermentativo de la miel y por encima del 20% beneficia el crecimiento de levaduras osmófilas (López, Juan, & Escriche, 2015). Experimentalmente el valor inferior obtenido fue de 11,65% correspondiente a la miel I.1 mientras que el valor superior correspondiente a la miel I.2 es de 14,45%. Por otro lado, el ANOVA realizado puso en evidencia que no existe diferencia significativa entre las muestras analizadas.

3.1.7. Porcentaje de Cenizas: En la determinación de porcentaje de Cenizas se obtuvieron datos por debajo al rango establecido en la Norma INEN 1572, en la cual, tanto para miel de consumo directo como para fines industriales debe alcanzar un valor máximo de 0,5% (INEN 1572, 1988). De este experimento

se obtuvo un valor mínimo de 0,03% y un valor máximo de 0,20%, con una media de $0,12\% \pm 0,084\%$. Es decir, al presentar valores inferiores a lo planteado, se evidencia en las muestras de miel una carencia de minerales requeridos en la dieta diaria

3.1.8. Color

Junto con los datos obtenidos para el experimento de color, se presenta también, los datos obtenidos para la densidad óptica de las cinco muestras comerciales, tal como se visualiza en la tabla 21.

Tabla 21. Resultados del estudio de color en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito

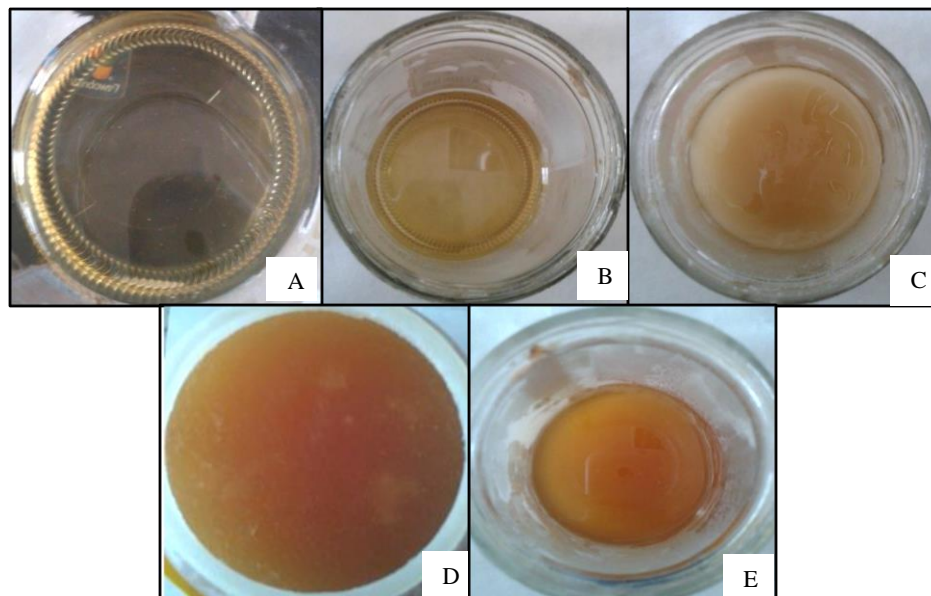
Muestra	Color	Escala de Pfund en mm	Densidad Óptica
I.1	Blanco Agua	7,9000	1,0118
I.2	Ámbar extra Claro	42,4000	1,0055
I.3	Blanco	21,1000	1,0056
I.4	Blanco	29,6000	1,0077
I.5	Ámbar claro	76,8000	1,0070

Elaborado por: Las autoras

Las mediciones para la determinación de color en las muestras de miel, se encuentran dentro de los rangos establecidos en la tabla 13 propuesta por Montenegro *et al* (2005), en el capítulo de materiales y métodos. De este experimento se obtuvo que el 40% de las mieles estudiadas son color blanco; el 20% son blanco agua, 20% ámbar extra blanco y 20% ámbar claro (Montenegro, Avallone, Crazov, & Aztarbe, 2005).

A pesar de que, las mieles estudiadas se encuentran dentro de los rangos establecidos en la escala de Pfund en mm; propuesto por Montenegro *et al* (2005), los colores expresados en la tabla 19 no corresponden al color percibido por el ojo humano. El color de cada una de las mieles se puede observar en fotografías capturadas al inicio de este trabajo experimental que se encuentran en la figura 5.

Figura 5. Color de las cinco muestras de mieles comerciales: A: miel I.1; B: miel I.2; C: miel I.3; D: miel I.4; E: miel I.5



Elaborado por: Las autoras

A pesar de que el color de la miel depende principalmente del origen del néctar floral hay un hecho muy importante y es que, ciertas mieles son más oscuras, esto se debe a que presentan mayor cantidad Fosfato de Calcio, Hierro, vitamina B y C. Por otro lado, aquellas mieles que son claras contienen cantidades importantes de vitamina A (Montenegro, Avallone, Crazov, & Aztarbe, 2005).

3.2. Propiedades Químicas

Los resultados obtenidos en capacidad antioxidante, polifenoles y flavonoides, correspondientes a las propiedades químicas estudiadas en esta investigación hacen referencia a la tabla 22 mostrada a continuación.

Tabla 22. Resultados de las propiedades químicas estudiadas en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del Distrito Metropolitano de Quito

Muestra	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100\text{gr}$)	Polifenoles (mg EAG/100gr)	Flavonoides (mg CAT/kg)
I.1	0,00	26,66	6,54
I.2	42,18+	86,14	6,48
I.3	12,42	101,39+	27,48+
I.4	14,18	0,00	10,86
I.5	25,20	53,20	22,11
Media	18,80	53,48	14,69
Desviación estándar	14,16	37,26	8,57
Máximo	42,18	101,39	27,48
Mínimo	0,00	0,00	6,48

Elaborado por: Las autoras

3.2.1. Polifenoles: Se observa presencia de polifenoles en cuatro de las cinco muestras de miel, a excepción de la miel I.4 en la cual se evidencia una ausencia total de éstos. Para este experimento se obtuvo un valor medio de $53,48 \pm 37,26$; donde el valor máximo es de 101,39 mg EAG/100gr perteneciente a la miel I.3 y el valor mínimo correspondiente a la miel I.4 es de 0,00 mg EAG/100gr. Por lo cual las mieles I.1 y I.4 presentan valores fuera de los rangos establecidos en este parámetro, donde los límites establecidos para polifenoles están entre 38,1 y 173,1 mg EAG/100gr (Apigal, s.f).

3.2.2. Flavonoides: Se puede observar que los valores experimentales obtenidos se encuentran entre 6,48 y 27,48 mg CAT/kg; valores que se encuentran dentro del rango citado por Cauich *et al* (2015); el cual sugiere que los valores deben estar entre 11,46 – 116,67 mg CAT/kg (Cauich , Ruiz, Ortíz, & Segura, 2015).

3.2.3. Capacidad Antioxidante: En cuanto a la capacidad antioxidante de las muestras de miel, se puede ver que los valores obtenidos se encuentran entre 0,0 para la miel I.1 y 42,18 $\mu\text{mol ET}/100\text{gr}$ correspondiente a la miel I.2. Con dichos valores se generó una media de $18,80 \pm 14,16 \mu\text{mol ET}/100\text{gr}$. A partir de éstos datos se puede indicar que de todas las muestras de miel en estudio, solo la miel I.1 se encuentra por debajo del rango propuesto, que es de 10,2 a 49 $\mu\text{mol ET}/100\text{gr}$ (Apigal, s.f)

3.2.4. Metales pesados y Oligoelementos

Para la cuantificación de metales pesados y de oligoelementos, primero se realizó una curva de calibración y posterior a esto se realizó la cuantificación en las muestras de miel.

3.2.4.1. Curvas de calibración: Se elaboró las curvas de calibración a partir de los estándares registrados en la tabla 23 y tabla 24 de los cuales se obtuvieron las ecuaciones de la recta y los valores de R^2 , los cuales son cercanos a 1, lo que indica que los datos del experimento son confiables.

Tabla 23.- Estándares para cura de calibración de oligoelementos

Sodio	Potasio	Calcio	Manganeso	Magnesio
ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)
0	0	0	0	0
0,3	1	0,5	0,5	0,5
0,5	1,5	1	1	1
0,7	3	2	2	2
1	6	3	4	4

Elaborado por: Las autoras

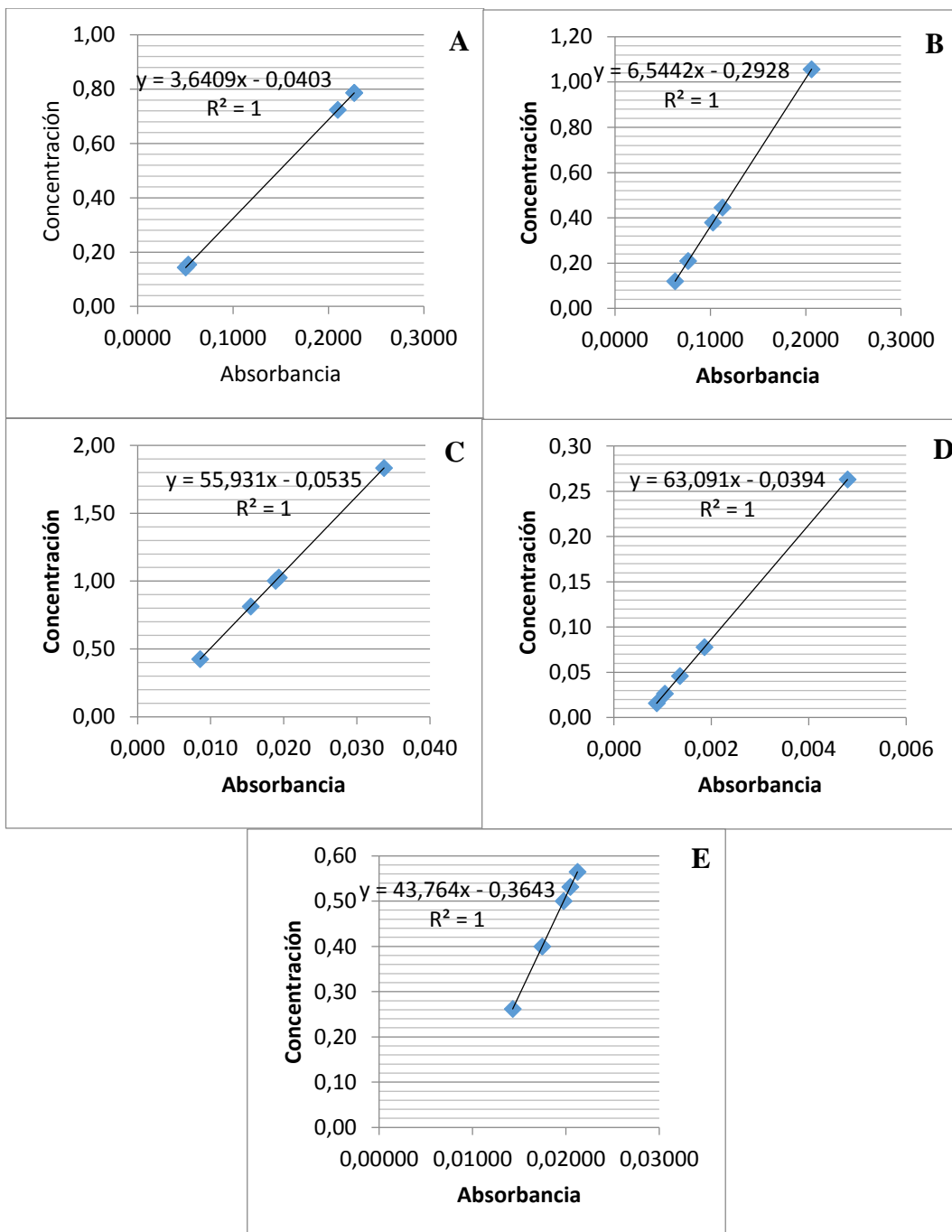
Tabla 24.- Estándares para curva de calibración de metales pesados

Plomo	Cobre	Plata	Cromo	Níquel
ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)	ppm (mg/L)
0	0	0	0	0
0,5	0,5	0,2	0,5	0,5
1	1	0,8	1	1
2	2	1,5	2	2
4	4	3	4	4

Elaborado por: Las autoras

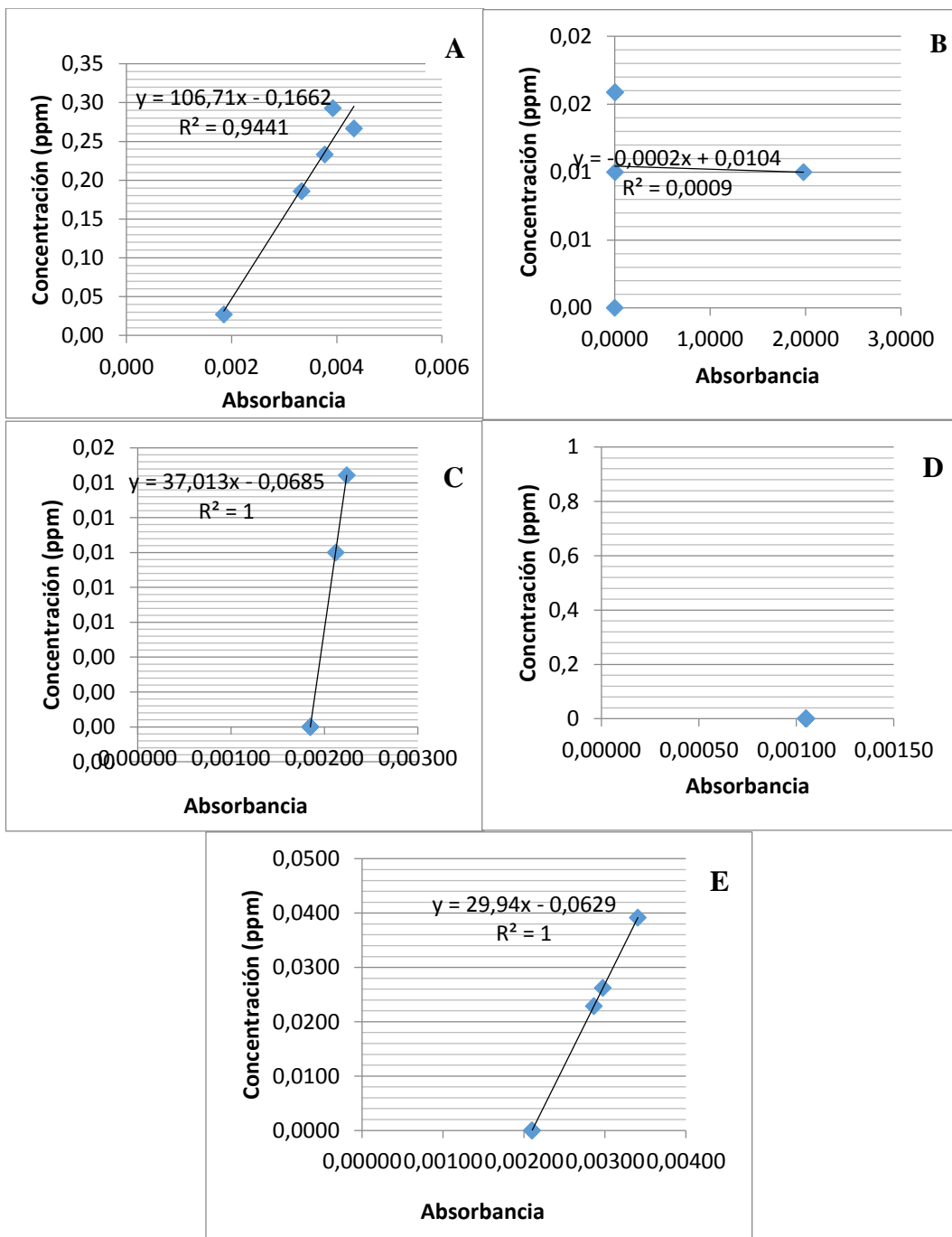
Al interpolar los datos obtenidos de las muestras de las mieles en la curva de calibración se corroboró la presencia de oligoelementos (figura 6) y de metales pesados (figura 7)

Figura 6. Curvas estándares de las concentraciones (ppm) de oligoelementos en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del DMQ: A: Sodio; B: Potasio; C: Calcio; D: Manganeso; E: Magnesio



Elaborado por: Las autoras

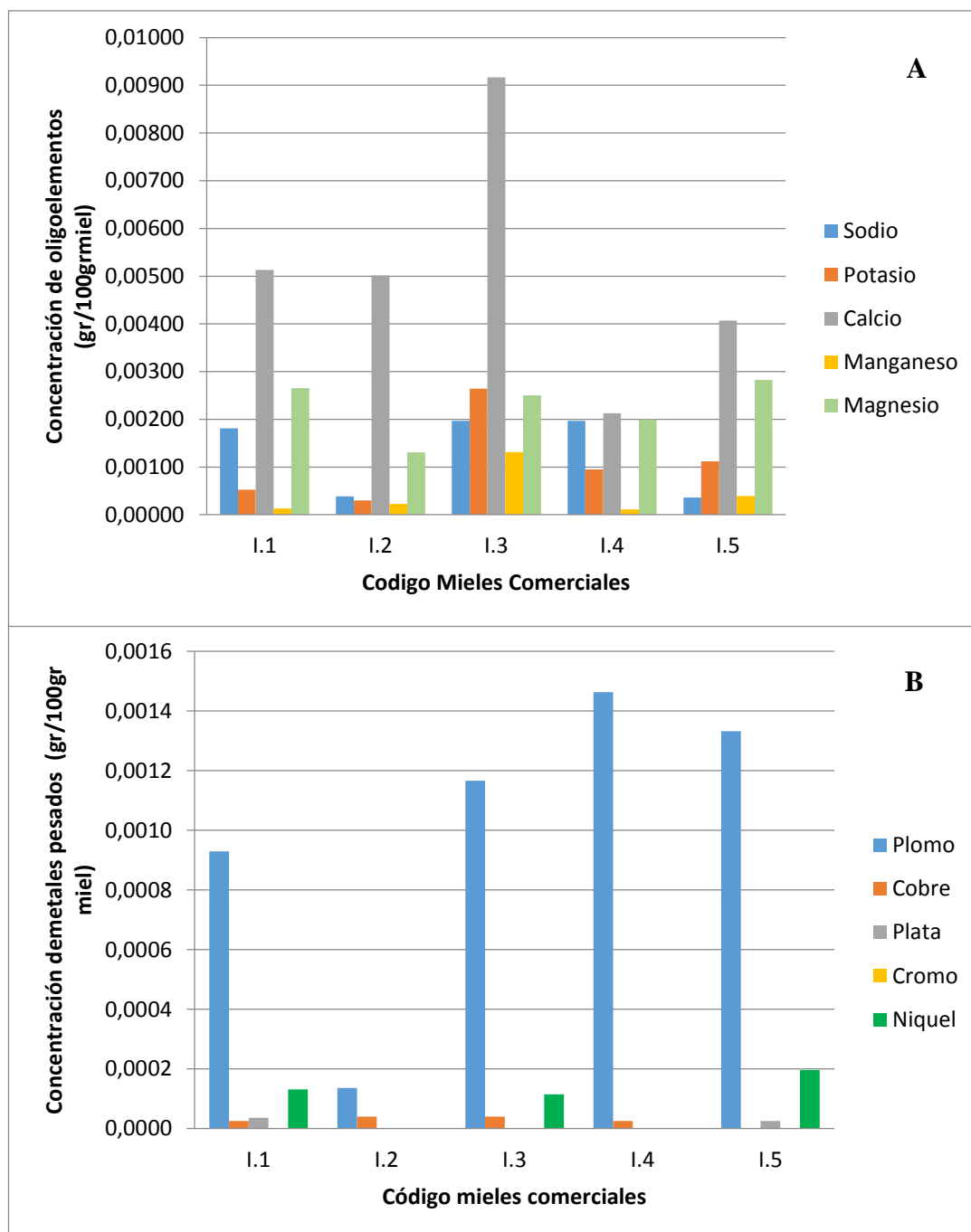
Figura 7. Curvas estándares de las concentraciones (ppm) de metales pesados en cinco muestras de mieles comercializadas en la red de supermercados del DMQ: A: Plomo; B: Cobre; C: Plata; D: Cromo; E: Níquel



Elaborado por: Las autoras

Los valores obtenidos en el ensayo realizado por triplicado para el contenido de oligoelementos y metales pesados en cada una de las muestras de mieles comerciales se observan en la figura 8.

Figura 8. Cuantificación de A: oligoelementos gr/100gr de miel; B: metales pesados gr/100gr de miel.



Elaborado por: Las autoras

3.2.4.2. Oligoelementos: Son componentes indispensables en la dieta humana, por lo que, en la actualidad, la gran mayoría de productos comercializados en los supermercados, como la miel, presentan la cantidad por porción necesaria.

En la gráfica 9 (A) se puede observar que todas las muestras de mieles comerciales analizadas presentan oligoelementos en su composición; evidenciando claramente que, en todas las muestras, el Calcio se presenta en mayor cantidad seguido por el Magnesio. Los otros 3 oligoelementos se encuentran en cantidades menores.

Los resultados obtenidos se deben a que, la presencia y cantidad de estos elementos en la miel, en su gran mayoría son atribuidas al origen geográfico, por ende, a cambios climáticos, actividad volcánica en el área habitada por las abejas, entre otros (Chacín, 2010).

3.2.4.3. Metales Pesados: Los resultados vertidos en la figura 9(B) muestran la presencia de al menos un metal pesado de todos los analizados. En donde el metal predominante es el Plomo presentando altos valores en 4 de las 5 muestra de mieles analizadas. Seguido por el Níquel, Cobre y Plata; dejando en último al Cromo con una ausencia total en las 5 muestras de miel.

La cuantificación de metales pesados resultante podría deberse a los malos hábitos de procesamiento de la misma, ya que la acidez característica de la miel aumenta la posibilidad de liberar elementos como Cromo, Plomo y Zinc provenientes de las herramientas metálicas empleadas para su producción (Chacín, 2010).

3.3. Propiedades Biológicas

3.3.1. Capacidad Antimicrobiana: El uso desmedido de agentes antimicrobianos a resultado en el surgimiento de cepas resistentes a estos, por lo cual la miel con todas sus características y propiedades medicinales es una excelente opción para ser usada como alternativa en el combate de estas (Zamora & Arias , 2011)

3.3.1.1 Análisis Cualitativo: En la tabla 25 mostrada a continuación, se indica el grado de efectividad antimicrobiana tanto de la miel pura como de la miel diluida al 25, 50 y 75%, representadas como presencia o ausencia de halos de inhibición generados ante la exposición de los microorganismos seleccionados para este estudio.

Tabla 25. Presencia de halos de inhibición en las distintas concentraciones de miel frente a las cepas ATCC

	Microorganismo	I.1				I.2				I.3				I.4				I.5			
		C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃
Gram +	<i>Clostridium perfringes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	<i>Bacillus spizizenii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Lactobacillus Casei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus achidophilus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram -	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Salmonella typhimurium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Eschearechia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Hongos	<i>Trichophyton rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levaduras	<i>Kloeckera apiculata var apis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Candida kefyr</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

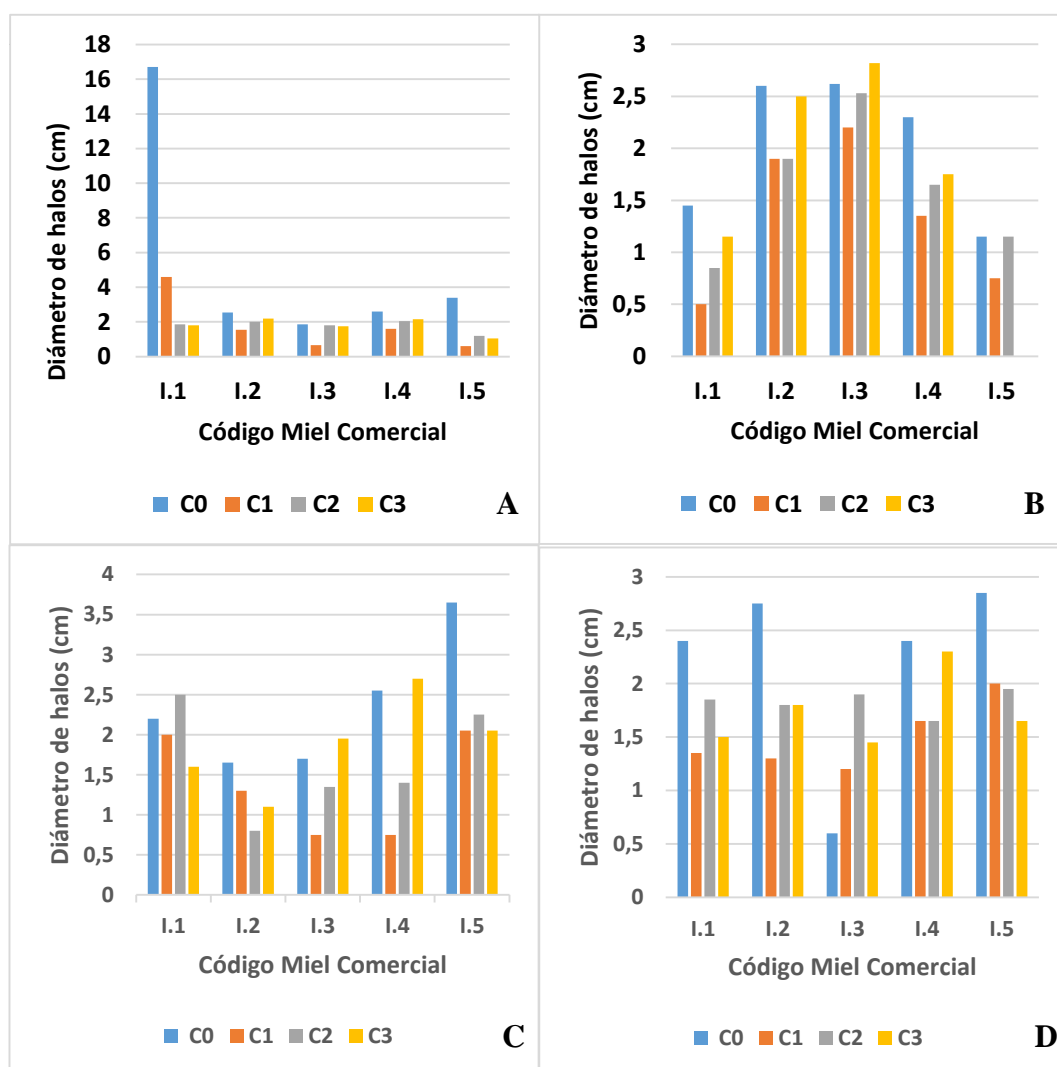
Nota: En cuanto a las concentraciones: C₀= miel pura, C₁=miel diluida al 50%, C₂=miel diluida al 75%, C₃=miel diluida al 25%; en cuanto a la presencia y ausencia de halos de inhibición: “+” presencia de halo de inhibición; “-” ausencia de halo de inhibición

Elaborado por: Las autoras

3.3.1.2. Análisis Cuantitativo: Las características propias de la miel al actuar frente a las cepas en estudio producirán la generación de halos de inhibición

3.3.1.2.1. Gram positivas

Figura 9. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a: A: *Clostridium perfringens*, B.- *Staphylococcus epidermidis*, C.- *Bacillus spizizenii*, D.- *Staphylococcus aureus*.



Elaborado por: Las autoras

En el caso de *Clostridium perfringens* la miel I.1 es la que generó halos de mayor diámetro frente a ésta cepa, donde la miel pura correspondiente a C₀ tiene mayor actividad, tal como se observa en la figura 9 (A).

En cuanto a *Staphylococcus epidermidis* la figura 9(B) indica que, tanto la miel I.2 como I.3 presentaron halos de inhibición de mayor tamaño, donde la miel pura o C₀ es similar en ambas mieles, pero la concentración la miel diluida al 25% o C₃ presenta mayor inhibición en la miel I.3.

Las gráficas 9(C) y 9(D) que corresponden a *Bacillus spizizenii* y *Staphylococcus aureus*, revelan que la miel I.5 fue la muestra que presentó halos de inhibición de mayor tamaño en la concentración perteneciente a miel pura.

Por otro lado, *Lactobacillus acidophilus*, no presentó ningún tipo de inhibición frente a ninguna de las muestras empleadas.

Los resultados obtenidos evidencian que todas las muestras de miel, tanto puras como diluidas, presentan un efecto inhibitorio sobre 5 de las 6 cepas en estudio, este efecto se debe a las características propias de la miel pura tales como su pH, alta osmolaridad, actividad de agua baja, en el caso de la miel diluida este fenómeno se debe a otros factores tales como la producción de peróxido de hidrogeno, presencia de ácidos aromáticos entre otros (Zamora & Arias , 2011).

Las cepas más susceptibles al ataque de la miel fueron *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spizizenii*, *Staphylococcus aureus* presentando inhibición frente a todas las concentraciones de las muestras de miel, lo cual es un factor positivo ya que estas

cepas son responsables de varias patologías tales como infecciones nosocomiales, infecciones del tracto respiratorio (Wade, Schimpff, & Newman, 1982), un punto positivo del ataque de las mieles a la cepa *Staphylococcus aureus* es el hecho que esta cepa es resistente a varios antibióticos (Tsiodras, Gold, Eliopoulos, & Wennersten, 2001).

Las cepas que mostraron baja actividad inhibitoria frente a las muestras de mieles fueron *Lactobacillus Casei* y *Clostridium perfringes*. En el caso de *Lactobacillus Casei*. La presencia de halos de inhibición a C₀ y C₂ podría deberse al hecho de que es una bacteria ácido láctica por lo cual tiene afinidad a medios ácidos, este medio es proporcionado por la miel pura y la diluida al 75 % (Frizzo, y otros, 2006).

La cepa que mostró baja actividad inhibitoria frente a las muestras de mieles fue *Clostridium perfringes* esto podría deberse a que esta cepa fermenta el azúcar presente en el medio en el que se desarrolla, produciendo CO₂ para su crecimiento (Madigan, Martinko, Dunlap, & Clarck, 2009).

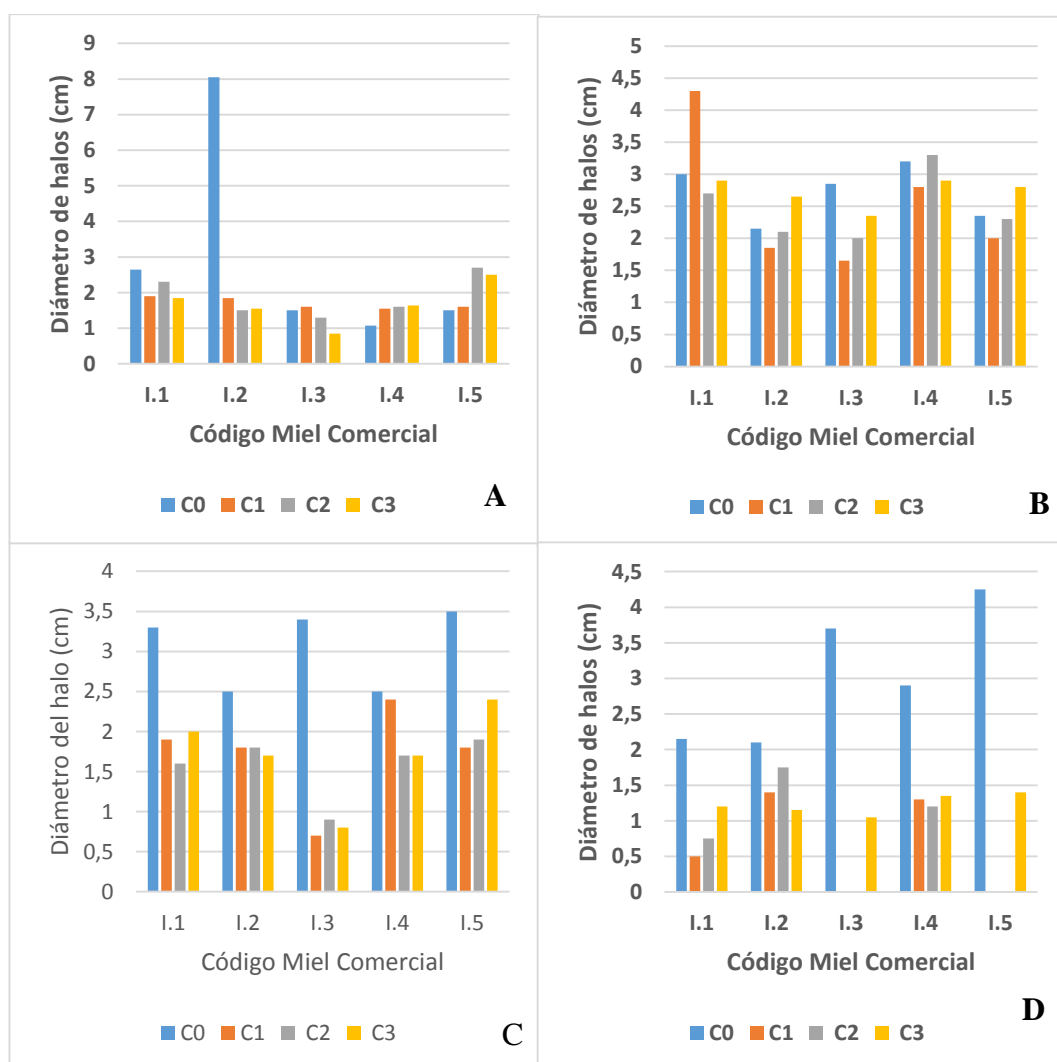
En el caso de *Lactobacillus Casei* la ausencia total de halos podría deberse al hecho de que es una bacteria ácido láctica por lo cual tiene afinidad a medios ácidos, este medio es proporcionado por la miel pura y la diluida al 75 %, permitiendo su total desarrollo (Frizzo, y otros, 2006).

Lactobacillus achidophilus no presentó actividad inhibitoria alguna, esto se debe a que es una bacteria que tiene afinidad por los medios ligeramente ácidos, pudiendo

desarrollarse en un pH desde 4,5 hasta 6,4 (Aguavil & Enriquez, 2011). Por esta razón la miel brinda el medio idóneo para su desarrollo.

3.3.1.2.2. Gram Negativas

Figura 10. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a: A.- *Pseudomona aeruginosa* B.- *Salmonella typhimurium*; C.- *Klebsiella pneumoniae*; D.- *Eschea richia coli*.



Elaborado por: Las autoras

En el caso de las bacterias Gram negativas tenemos el análisis de 4 cepas ATCC; en donde la gráfica 10(A) nos indica que la miel I.2 posee mayor capacidad antimicrobiana ante *Pseudomona aeruginosa*, debido a que la concentración C_0 generó un halo de inhibición de mayor diámetro.

Por otro lado, en el caso de *Salmonella typhimurium*, la gráfica 10(B) nos indica que todas las mieles tienen una capacidad antimicrobiana similar, a pesar de que la miel I.1 en su concentración C_1 produjo un halo de inhibición más grande que los otros ensayos.

Para *Klebsiella pneumoniae*, según la gráfica 10(C), las mieles I.1, I.2 y I.3 originaron halos de inhibición más amplios en la C_0 , sin embargo en las otras concentraciones también se generaron zonas de inhibición aunque de menor tamaño.

Al hablar de *Escheareichia coli*, la gráfica 10(D) nos indica que todas las mieles estudiadas presentan actividad antimicrobiana; sin embargo, en la concentración C_0 de todas las muestras existen halos de mayor diámetro. También se observa que en la miel I.3 y I.5 solo presentan inhibición en la concentración C_0 y C_3 .

El motivo de la efectividad de la miel como antimicrobiano, en este caso podría estar ligado al pH típico de la miel que oscila alrededor de 3,9. En el caso de *Klebsiella pneumoniae* se desarrolla habitualmente a un pH de 7 (CODEINEP, s.f); *Pseudomona aeruginosa* crece en un rango de pH que oscila entre 6,5 y 7,8 (Fitosanidad, 2005); el rango de pH para el crecimiento de *Salmonella typhimurium* varía entre 7 y 7,5 (Elika, 2013) y al hablar de pH para *Escheareichia coli*, Elika (2013), propone que el rango óptimo de pH se encuentra entre 6 y 7 (Elika, 2013). Por lo tanto, todas son bacterias que se desarrollan a alrededor de un pH neutro; es así que, al exponerlas a un medio ácido sus paredes se van a afectar observando efecto bacteriostático en el experimento.

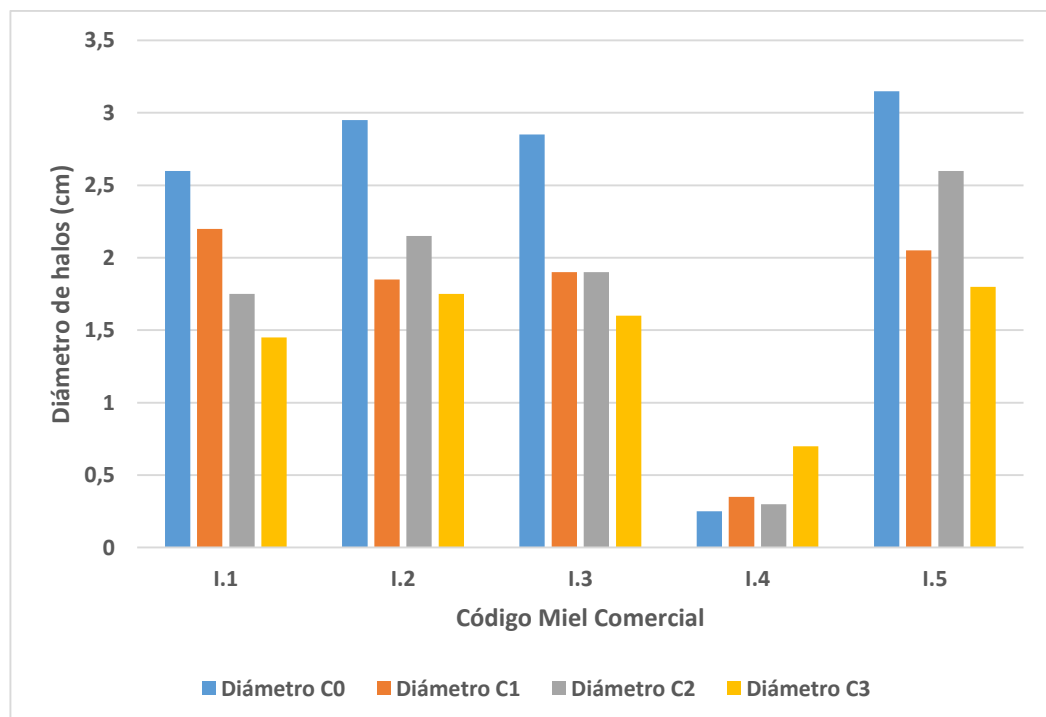
3.3.1.2.3. Hongos

La acción antimicrobiana de la miel frente a las cepas hongos *Trichophyton rubrum* y *Aspergillus brasiliensis*, no tuvo resultados favorables; ya que la evaluación frente a todas las concentraciones fue nula debido a que no se observaron halos de inhibición. Esto se debe a que los hongos utilizan la glucosa como fuente primaria para su metabolismo; aparte, la miel, posee los micronutrientes necesarios como el cobre, zinc, magnesio, etc (García T. , 2012).

A su vez el pH ácido de la miel, es otro factor importante para el crecimiento de hongos, ya que el rango óptimo para el desarrollo de estos es de 5,5 (García T. , 2012).

3.3.1.2.4. Levaduras

Figura 11. Diámetro de halos de inhibición en ensayo de actividad antimicrobiana de la miel frente a *Kloeckera apiculata var apis*



Elaborado por: Las autoras

La gráfica 11 nos permite observar que todas las mieles generaron halos de inhibición en todas sus concentraciones en donde, todas las muestras se caracterizan por presentar halos de mayor diámetro en la concentración C_0 . Dentro de los halos inhibitorios de la C_0 sobresale en la miel III.3.

Kloeckera apiculata var apis es una levadura que se caracteriza por desarrollarse en un rango de pH ácido y en elevadas concentraciones de carbohidratos, por lo que se la considera osmotolerante (Camacho , Giles, Palao, Serrano, & Velasquez, 2009). Sin embargo, existen ácidos orgánicos que pueden generar inhibición de las levaduras; estos ácidos son: sórbico, propiónico, acético, cítrico y láctico (Uribe, 2007). Por lo tanto, la miel afectará la estructura de la levadura al presentar en su composición ácido acético, cítrico y láctico (Vit, et al., 2011).

En el caso de todas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*; no se observaron halos de inhibición frente a las cuatro concentraciones de miel en el ensayo de evaluación de la actividad antimicrobiana. Dicho suceso pudo deberse a que el género *Candida* se caracteriza ser levaduras de importancia clínica que se caracteriza por asimilar fácilmente la glucosa, por lo tanto, este azúcar les servirá para crecer y desarrollarse; por lo tanto crecerán sobre la miel y no generarán zonas inhibitorias (Manual Práctico de Microbiología, 2005).

Conclusiones

1. De la investigación de caracterización física es posible concluir, que los parámetros como: pH, acidez total, conductividad, índice de refracción, porcentaje de humedad y porcentaje de cenizas, se encuentran dentro de los rangos propuestos por normativas como la INEN 1572 y la INEN 1632, entre otras; a excepción de los grados Brix, los cuales están por encima del valor fijado por Quezada Moreno que es de 80°B, lo que evidencia una alta cantidad de sólidos permitiendo suponer la alteración del producto a lo largo del proceso de producción.
2. Dentro de las propiedades físicas la miel I.3 es aquella que presenta valores que se encuentran dentro de los rangos establecidos pudiendo considerarse la mejor desde este punto de vista.
3. En cuanto a las propiedades químicas, la miel I.2 es aquella que muestra los mejores resultados en relación a capacidad antioxidante con un valor de 42,18 $\mu\text{mol ET}/100\text{gr}$. En esta miel se observa también un alto contenido de polifenoles de 86,14 mg EAG/100gr y una baja concentración flavonoides de 0,6476 mg EAG/100gr. Por lo tanto, se concluye que la baja concentración de flavonoides no es un impedimento para un alto potencial antioxidante, debido que todos compuestos polifenólicos se encuentran participando en ésta función.

4. Del análisis de la presencia de metales pesados y oligoelementos, se concluyó que la presencia de oligoelementos dentro de las muestras no representa un aporte energético idóneo, ya que se encuentran por debajo de los niveles requeridos para una ingesta diaria.
5. Por otro lado, la presencia de metales pesados tales como el plomo evidencia un manejo inapropiado de la miel debido al uso de indumentaria y utensilios en mal estado, así como, la zona geográfica en la que se ubica, ya que el suelo puede presentar contaminación, por lo tanto, ésta se verá reflejada en el néctar floral.
6. Por otro lado, del estudio de la capacidad antimicrobiana de la miel, se concluyó que esta puede ser utilizada como fuente alternativa en el tratamiento de afecciones menores tales como quemaduras y afecciones respiratorias, ya que las cinco muestras de mieles reaccionaron de igual manera frente a 9 de 16 cepas, es decir, el 56,25% de microorganismos fueron combatidos.
7. Dentro de las Gram positivas, las 5 muestras de miel reaccionaron frente a 4 cepas, entre las que se encuentran: *Clostridium perfringes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spizizenii* y *Staphylococcus aureus*; en cuanto a Gram negativas las mieles reaccionaron frente a 4 cepas que son: *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* y *Eschea richia coli*; en el caso de levaduras únicamente para *Kloeckera apiculata var apis* y frente a los hongos propuestos en el estudio no hubo ninguna respuesta.

8. Se concluye que en cuanto a la actividad antimicrobiana, la miel I.5 es la más efectiva, ya que presenta halos de mayor tamaño en 5 de las 9 cepas que generaron halos de inhibición; dichas cepas son: *Bacillus spizizenii*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escheaichia coli* y *Kloeckera apiculata var apis*.

9. Se evidencia una clara relación entre las características físico-químicas y biológicas ya que la miel es una sustancia que se identifica por poseer una estrecha relación entre todas sus propiedades dentro de estas sobresalen la capacidad antioxidante y la capacidad antimicrobiana, ambas características se relacionan tanto entre sí como con la cantidad de polifenoles, flavonoides, pH, conductividad, color entre otras.

Recomendaciones

- 1.** Llevar a cabo un estudio sobre las propiedades físico-químicas y biológicas de mieles que procedan directamente de un centro apícola para comparar con los resultados obtenidos en esta investigación y determinar si existe adición de ingredientes en la comercialización de miel a gran escala.
- 2.** Profundizar investigaciones sobre la capacidad antioxidante de la miel y todas las sustancias que le brindan este potencial, así como la interrelación de todas estas variables.

Referencias

- (2005). En C. Gamazo, I. López, & R. Díaz, *Manual Práctico de Microbiología* (pág. 63). Barcelona: MASSON, S.A.
- Agencia de Cooperación Internacional de Japón. (Diciembre de 2012). *Estudio de Miel de Abeja*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de Mercado de Japón: http://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/24_estudio_04.pdf
- Aguavil, J., & Enriquez, S. (2011). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO EN BASE A *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* EN POLLOS BROILER ROSS-308 EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS*. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/61718309/EVALUACION-DEL-EFECTO-DE-UN-PROBIOTICO-NATIVO-ELABORADOEN-BASE-A-Lactobacillus-acidophilus-y-Bacillus-subtilis-EN-POLLOS-BROILER-ROSS-308-EN-SANTO-D>
- Alvarez, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. En J. Alvarez, F. Giampieri, & M. Battino, *Current Medicinal Chemistry* (págs. 621-638).
- Alvarez, J., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. En J. Alvarez, S. Tulipani, S. Romandini, E. Bertoli, & M. Battino, *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* (págs. 3, 15-23).

- American Type Culture Collection. (2016). *Cells and microorganisms*. Obtenido de <https://www.atcc.org/Products>
- Apigal. (s.f). *Composición de la miel monofloral de eucalipto de Galicia*. Obtenido de <http://www.apigal.com/up/productos/ficha-tecnica-miel-de-eucalipto.pdf>
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d'Un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 462-168.
- Barberán, T. (2003). *Los Polifenoles de los Alimentos y la Salud*. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/18042/3/lecturaPDF.pdf>
- Borja, J., & Reyes, J. (Abril de 2015). *El Sector de Supermercados en el Ecuador*. Obtenido de <http://www.scpm.gob.ec/wp-content/uploads/2015/04/PONENCIA-3-Supermercados.pdf>
- Cadena Agroindustrial de la Miel de Abeja. (2004). *Miel de Abeja*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://repiica.iica.int/docs/B0018e/B0018e.pdf>
- Camacho , A., Giles, M., Palao, M., Serrano, B., & Velasquez, O. (2009). *Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos*. Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-mohos-levaduras_6530.pdf
- Cañizares, R. O. (2000). *Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi003f.pdf>
- Cauich , R., Ruiz, J., Ortíz, E., & Segura, M. (29 de Septiembre de 2015). *Potencial antioxidante de la miel de Melipona beechi y su relación con la salud: una revisión* . Obtenido de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/9312.pdf>

- Chacín, C. (12 de Febrero de 2010). *Estudio Cualitativo del Contenido de Metales en Muestras de Miel Mediante Espectroscopía de Plasma Inducido por Láser*. Obtenido de <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/304/2/133222.pdf>
- Ciappini, M., Stoppani, F., Martinet, R., & Alvarez, M. (2013). *Actividad Antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Cristina_Ciappini/publication/259263686_Actividad_antioxidante_y_contenido_de_compuestos_fenolicos_y_flavonoides_en_mieles_de_trboles_eucalipto_y_alfalfa/links/0deec52a9d6e35add800000.pdf
- CODEINEP. (s.f). Obtenido de http://www.codeinep.org/control/Klebsiella_pneumoniae_ii.pdf
- CODEX. (2001). *CODEX NORMA PARA LA MIEL*. Obtenido de CODEX STAN12-1981, Rev 1 (1987), Rev 2 (2001): <http://www.ihc-platform.net/codex2001.pdf>
- CODEX ALIMENTARIUS. (2000). *Norma para la miel*. Obtenido de Codex stan 12: ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCS/ccs7/S00_03s.pdf
- Contreras Ruiz, P. (2014). *Comparación del método de HPLC y método de infrarrojos para la determinación de azúcares en la miel*. Obtenido de http://biblioteca.unirioja.es/tfe_e/R000001910.pdf
- Crane, E. (1979). *Honey A Comprehensive Survey*. London: Morrison and Gibb Ltd.
- El Comercio. (7 de Julio de 2012). *La miel de Carchi van a 5 países*. Obtenido de <http://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/miel-de-carchi-a-cinco.html>
- Elika. (28 de Febrero de 2013). *Escherichia coli*. Obtenido de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf

- Elika. (Febrero 28 de 2013). *Salmonella* . Obtenido de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf
- Estrada , H., Gamboa, M., Chaves, C., & Arias, M. (2005). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa, E coli, S. enteritidis, L. monocytogenes y A. niger. Evaluación de su carga microbiológica.* Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200010
- Falquez Chávez, J. C. (2014). *Factibilidad de la actividad de producir y comercializar miel de abeja en la ciudad de Guayaquil.* Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/2826/1/T-UCSG-PRE-ESP-CFI-118.pdf>
- Fitosanidad. (3 de Septiembre de 2005). *Influencia del pH y la temperatura en la producción de las fitotoxinas producidas por las Pseudomonas aeruginosa Pss. Evaluación de su efectividad en el control de malezas.* Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209116189008.pdf>
- Frizzo, L., Soto, L., Bertozzi , E., Sequeira , G., Marti, L., & Rosmini, M. (2006). Obtenido de <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEveterinaria/article/viewFile/1426/2281>
- Fundación Educación para el Desarrollo. (Diciembre de 2014). *Producción de Miel de Abeja.* Recuperado el 19 de 3 de 2016, de https://www.eda.admin.ch/content/dam/countries/countries-content/bolivia/es/Texto_guia_Produccion_de_Miel_de_Abeja.pdf

- García , E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). *Determinación de Polifenoles Totales por el Método de Folin Ciocalteu*. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%A1nez%20et%20al.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- García, A., Soto, D., & Romo , C. (1986). La miel de abejas .Composición química , propiedades y usos industriales. *Revista Chilena de Nutrición*, 183-191.
- García, T. (Octubre de 2012). *Hongos*. Obtenido de <http://www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/10/HONGOS-Generalidades-metabolismo-reproduccion-clasificacion.pdf>
- Gobierno de Guatemala. (Septiembre de 2014). *Perfil Comercial: Miel*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://web.maga.gob.gt/download/Perfil%20miel.pdf>
- González , E., Ahumada, R., Medina, V., Neira, J., & González, U. (27 de Julio de 2004). *Espectrofotometría de Absorción Atómica con tubo en la llama: Aplicación en la determinación total de Cadmio, Plomo y Zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos*. Obtenido de <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v27n6/22272.pdf>
- Gutiérrez, M. G., Rodríguez, A., & Vit, P. (Enero de 2008). *Miel de Abejas: Una fuente de Antioxidantes*. Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16255/1/ff2008_gutierrez.pdf
- Hernández, L. (2013). *Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la empresa Apicare, Riobamba-Chimborazo*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3190/1/56T00428.pdf>

- Herrero García, F. (2004). *Las abejas y la miel*. Obtenido de http://www.proyectopandora.es/wp-content/uploads/Bibliografia/12131013_VD_saber.pdf
- INEN 1572. (Abril de 1988). *INEN 1572*. Obtenido de Miel de Abejas: Requisitos: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1572.1988.pdf>
- INEN 1632. (1989). *INEN 1632*. Obtenido de Determinación de la densidad relativa a 27°C y de la humedad: <https://law.resurse.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1632.1989.pdf>
- Instituto de Fomento Empresarial. (2014). *Informe Internacional de la miel Quinquenio 2009-2013*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <file:///E:/Downloads/informe%20internacional%20del%20comercio%20de%20miel%202014.pdf>
- Instituto Nacional de tecnología Industrial. (2011). *¿Por qué consumir miel?* Obtenido de http://www.inti.gob.ar/entrierios/pdf/Porque_consumir_miel.pdf
- International Honey Commision . (2009). *Harmonised methods of the International Honey Commision* . Recuperado el 8 de 5 de 2016, de <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Justo, E. (2015). *EFICACIA DE LA MIEL Y APÓSITOS DE LA MIEL EN UPP*. Obtenido de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/11873/1/TFG-H247.pdf>
- KRÜSS. (2016). *Refractómetro - Medición Brix en la Industria de bebidas y zumos*. Obtenido de http://www.kruess.com/documents/Applikationsberichte/AP130710_001_Medicion_Brix_en_la_industria_de_bebidas_ES.pdf
- Lavandera Rodríguez, I. (2011). *Curación de heridas sépticas con miel*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/cir/v50n2/cir06211.pdf>

- López, A., Juan, M., & Escriche, I. (9 de Noviembre de 2015). *CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE MIELES DE ESPLIEGO Y TOMILLO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA*. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/57240/TFM%20L%C3%93PEZ%20CANDEL,%20ALBERTO.pdf?sequence=1>
- Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., & Clarck, D. (2009). Biología de los microorganismos . En *Biología de los microorganismos* (pág. 499). España: Pearson Educacion S.A.
- Mendieta, J. (2002). *Comparación de la composición química de la miel de tres especies de abejas (Apis mellifera, Tetragonisca angustula y Melipona beecheii) de El Paraíso, Honduras*. Obtenido de <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2339/1/T1560.pdf>
- Mina Mero, W. D., & Sánchez Orellana, G. A. (4 de Enero de 2013). *Estudio de factibilidad para la implementación de una granja apícola extractora de apitoxina en la Finca "Dos Ríos", Sector Nanegalito, Provincia de Pichincha*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1830/1/T-UCE-0005-239.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica. (Septiembre de 2004). *Manual de Buenas Prácticas Apícolas para la Producción de Miel* . Obtenido de <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00010.pdf>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (2014). *Ecuador tiene potencial para la apicultura*. Obtenido de <http://www.agricultura.gob.ec/ecuador-tiene-potencial-para-la-apicultura>.
- Montenegro, G., Salas, F., Peña, R., & Pizarro, R. (2009). *Actividad antimicrobiana y antifúngica de mieles monoflorales de Quillaja saponaria, especie endémica*

- de Chile. Obtenido de http://www.revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol78/MONTENEGRO_Quillaja%20saponaria.pdf
- Montenegro, S., Avallone, C., Crazov, A., & Aztarbe, M. (Julio de 2005). *Variación del color en miel de abejas (Apis mellifera)*. Obtenido de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/7-Tecnologia/T-070.pdf>
- Morales, R. (15 de Abril de 2016). *"DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DE LA MIEL DE ABEJAS COMERCIALIZADA EN LA CIUDAD DE CUENCA, SEGUN LA NORMA NTE INEN 1572"*. Obtenido de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5469/1/11810.pdf>
- Novoa, R., & Pijal, B. (Octubre de 2007). *Diseño e Implementación de una Explotación Apícola en la Comunidad de Pijal, Cantón Otavalo*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/231/1/T71859.pdf>
- Palacios, S. R. (Febrero de 2013). *Producción y Comercialización de Miel de Abeja*. Recuperado el 19 de 3 de 2016, de <http://utic.edu.py/investigacion/attachments/article/73/Producci%C3%B3n%20y%20Comercializaci%C3%B3n%20de%20Miel%20de%20Abeja.pdf>
- Quezada Moreno, W. (2007). *Determinación de Parámetros Óptimos para la Producción y Aromatización de Miel Hidrolizada, Panela Soluble y Azúcar*. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/935/1/Miel,%20panela%20az%C3%BAcar.pdf>
- Quiñonez, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). *Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular*.

Obtenido de
<http://digital.csic.es/bitstream/10261/101372/1/Los%20polifenoles.pdf>

Ramírez, J., Bonete, M. J., & Martínez, R. M. (2015). *Propuesta de una nueva clasificación de los oligoelementos para su aplicación en nutrición, oligoterapia, y otras estrategias terapéuticas*. Obtenido de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/8325.pdf>

Reina Pineda, T. E. (Marzo de 2010). *Producción y Análisis Financiero de la Obtención de Jalea Real de Abejas (Apis mellifera) Por El Método Doolittle*. Recuperado el 15 de 3 de 2016, de <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1899/1/CD-2805.pdf>

Rodríguez Rivera, V. M., & Magro, E. (2008). La miel. En V. M. Rodríguez Rivera, & E. Magro, *Bases de la Alimentación Humana* (págs. 138-140). La Coruña: Netbiblio.

Sánchez Coronel, J. L. (2013). *Plan de negocios para la implementación de una microempresa apícola en la ciudad de Loja*. Obtenido de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/6789/1/S%C3%A1nchez%20Coronel%20Jos%C3%A9%20Luis%20.pdf>

Schencke, C., Vásquez, B., Sandoval, C., & Del Sol, M. (2016). *EL Rol de la Miel en los Procesos Morfofisiológicos de Reparación de Heridas*. Obtenido de <http://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v34n1/art56.pdf>

Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2015). *Manual de Buenas Prácticas de Producción de miel*. Recuperado el 15 de 3 de 2016, de <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20de%20Buenas%20Prcticas/Attachments/1/mbpp.pdf>

- Silva Arcos, B. M., & Toapanta Oña, D. S. (2011). *Elaboración de vino de remolacha a partir de dos variedades (beta vulgaris), conditiva y macrohiza, utilizando dos endulzantes naturales stevia (stevia rebaudiana) y miel de abeja*. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/905/1/T-UTC-1217.pdf>
- Soto Vargas, C. E. (2008). *Estudio de mieles monoflorales a través de análisis palinológico, físico, químico y sensorial*. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fas718e/doc/fas718e.pdf>
- Suescún, L., & Vit, P. (Enero de 2008). *Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio*. Obtenido de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16252/1/ff2008suescun.pdf>
- Tsiodras, S., Gold, H., Eliopoulos, G., & Wennersten, C. (21 de Julio de 2001). Obtenido de [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(01\)05410-1/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(01)05410-1/abstract)
- Ulloa, J. A., & Mondregón, P. (2010). La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente*, 11.
- Uribe, A. (2007). *Caracterización fisiológica de Levaduras aisladas de la Filósfera de mora*. Obtenido de <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis276.pdf>
- Velázquez Monroy, M., & Ordorica Vargas, M. Á. (Julio de 2009). *Ácidos, Bases, pH y Soluciones Reguladoras*. Obtenido de www.bioquimica.dogsleep.net/Teoria/archivos/Unidad24.pdf
- Vit, P., Rojas, L., Usubillaga, A., Aparicio, R., Meccia, R., Fernández, M., & Sancho, T. (Junio de 2011). *Presencia de ácido láctico y otros compuestos semivolátiles en mieles de Meliponini*. Obtenido de

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772011000100008

Vives, V. (s.f). *Fisiología Humana*. Obtenido de http://www.vicensvives.com/vvweb/view/webwidgets/ibextras/docs/15_IB_Bio_001-057.pdf?ext=.pdf

Wade, J., Schimpff, S., & Newman, K. (1 de Octubre de 1982). Obtenido de <http://annals.org/article.aspx?articleid=695930>

Zamora, G., & Arias, L. (2011). *Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abeja sin aguijón*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2011/bio112c.pdf>

Zandamela, E. (2008). *CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y EVALUACIÓN SANITARIA DE LA MIEL DE MOZAMBIQUE*. Obtenido de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf;jsessionid=F0F868A4B36203DD246DE86298D51C71.tdx1?sequence=1>