UNIVERSIDAD POLITÈCNICA SALESIANA SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

"RELACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS
Y MICROBIOLÒGICAS DE TRES MUESTRAS DE MIELES (Apis mellifera.

L.) COMERCIALES, DISTRIBUIDAS EN SUPERMERCADOS DEL

DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO"

AUTORA DIANA STEFANÌA GUTIÈRREZ PALLO

TUTOR

Ing. RAMIRO DANIEL ACURIO VÀSCONEZ MSC.

Quito, diciembre 2016

Cesión de derechos de autor

Yo, Diana Stefanía Gutiérrez Pallo, con documento de identificación Nº 172063177,

manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad

sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy/somos autor/es del trabajo de

grado/titulación intitulado: "Relación estadística de las propiedades químicas, físicas

y microbiológicas de tres muestras de mieles (Apis mellifera L.) comerciales,

distribuidas en supermercados del Distrito Metropolitano de Quito", mismo que ha

sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera 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 mi condición de

autor/es me/nos reservó/reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En

concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo

final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica

Salesiana.

Diana Stefanía Gutiérrez Pallo

C.I: 1720631777

Quito, diciembre del 2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación

"Relación estadística de las propiedades químicas, físicas y microbiológicas de tres

muestras de mieles (Apis mellifera L.) comerciales, distribuidas en supermercados

del Distrito Metropolitano de Quito" realizado por Diana Stefanía Gutiérrez Pallo,

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 2016

Ing. Ramiro Daniel Acurio Vásconez MSC

Cédula de identidad: 1714819495

Dedicatoria

El presente trabajo de titulación está dedicado a Dios por permitirme culminar con éxitos mi carrera universitaria.

A mis padres y hermano, porque ellos han sido un pilar fundamental en mi formación académica, brindándome constantemente apoyo y consejos en cada etapa de mi vida estudiantil hasta convertirme en un profesional.

A mis amigos y amigas que han contribuido con su tiempo, dedicación y consejos para llevar a cabo el desarrollo de mi trabajo de titulación formando mi perfil profesional que me permite culminar una meta.

Agradecimientos

A mi director de tesis Ing. Ramiro Daniel Acurio Vásconez MSC. por su comprensión y tiempo dedicado a la revisión del contenido tanto bibliográfico como estadístico del presente trabajo a través de una guía oportuna para la interpretación y análisis de datos.

Mis sinceros agradecimientos al PhD, José Miguel Álvarez de Universidad de las Américas por los conocimientos y técnicas impartidas en el desarrollo de cada uno de los análisis así como la colaboración en el análisis e interpretación de resultados.

A todos los ayudantes del Laboratorio de Ciencia de la Vida (Universidad Politécnica Salesiana Campus El Girón- Sede Quito) que mediante su orientación, enseñanzas y conocimientos mi trabajo de titulación fue desarrollado de manera profesional y confiable hasta culminar la parte experimental con éxito.

Finalmente a mis amigas Natali Arguello y Raquel Sánchez que aportaron significativamente con ideas y consejos para la correcta estructuración del presente trabajo de titulación así como el tiempo y esfuerzo para desarrollar la parte experimental del mismo.

Índice

Capítulo 1	4
Marco Conceptual	4
1.1. Miel	4
1.1.1. Características generales	5
1.1.2. Propiedades Fisico - Químicas de la miel	7
1.1.2.1. Propiedades físicas	7
1.1.2.2. Propiedades químicas	8
1.1.3. Propiedades Biológicas	9
1.1.4. Composición química	10
1.1.5. Importancia Económica	13
1.2. Producción de miel de abejas en el Ecuador	14
1.3. Formas de obtención de miel de abejas	15
Capítulo 2	17
Metodología	17
2.1. Asignación de códigos a las mieles	17
2.2. Determinación de cenizas totales	17
2.3. Determinación de fenoles totales	18
2.4. Determinación de densidad	18
2.5. Determinación de acidez total	19
2.6. Determinación de oligoelementos y metales pesados	19
2.7. Determinación de flavonoides	20
2.8. Determinación del color	21
2.9. Determinación Grados Brix	22
2.10. Capacidad Antioxidante	22
2.11. Determinación de pH	22
2.13. Determinación de humedad	23
2.14. Análisis Microbiológico	23
2.14.1. Siembra	23
2.14.2. Determinación capacidad antimicrobiana	25
2.14 Análisis Estadístico	26
2.14.1 ANOVA	26

2	2.14.2	Correlación de Pearson	27
2	2.14.3	Clúster Análisis	27
2	2.14.4	Análisis de Componentes Principales	27
Capít	tulo 3:		28
Resu	ltados y	discusión	28
3.1	l. Pro	piedades Físico-químicas	28
3.2	2. Res	ultados de metales pesados y oligoelementos	42
3.3	3. Res	ultados de los análisis microbiológicos	52
Conc	clusiones	S	65
Reco	mendac	iones	66
Bibli	ografía .		67

Índice de Tablas

Tabla 1. Principales Características de la Miel. 5
Tabla 2. Propiedades físicas de la miel
Tabla 3. Propiedades químicas de la miel
Tabla 4. Composición de la miel (datos en g/100g)
Tabla 5. Principales constituyentes de los azucares de la miel. 12
Tabla 6. Asignación de códigos mieles comerciales 17
Tabla 7. Solución Madre 6mM para fenoles totales: 18
Tabla 8. Longitud de onda para detección de metales pesados y oligoelementos
medidos por EAA en tres muestras de mieles comerciales, distribuidas er
supermercados del DMQ
Tabla 9. Solución Madre 1mM para flavonoides 21
Tabla 10. Escala de colores determinadas 21
Tabla 11. Cepas de Microorganismos ATTC provenientes de UPS
Tabla 12. Medio de cultivo específico para cada microorganismo
Tabla 13. Valores de propiedades físico-químicas para tres muestras de mieles
comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada 100g 28
Tabla 14. ANOVA de propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles
comerciales, distribuidas en $$ supermercados del DMQ expresada por cada $100g \dots 28$
Tabla 15. Correlación entre las propiedades fisicoquímicas para tres muestras de
mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada 100g
Tabla 16. Escala para establecer la relación existente entre cada una de las variables
en estudio
Tabla 17. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades
fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales, distribuidas er
supermercados del DMQ
Tabla 18. Valores de metales pesados para tres muestras de mieles comerciales
distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada gr/100g
Tabla 19. Valores de oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales
distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada gr/100g
Tabla 20. ANOVA de metales pesados y oligoelementos para 3 muestras de mieles
comerciales en supermercados del DMQ expresada en g/100g
Tabla 21. Correlación de las propiedades fisicoquímicas vs. metales pesados y
oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales, distribuidas er
supermercados del DMQ expresado por 100g
Tabla 22. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades
fisicoquímicas vs metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles
comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ
Tabla 23 . Bacterias que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles
comerciales, distribuidas en supermercados del DMO

Tabla 24. Hongos que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles
comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ53
Tabla 25. Levaduras que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles
comerciales distribuidas en supermercados del DMQ53
Tabla 26. Valores de halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres
muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresado
en cm
Tabla 27. Valores de halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres
muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresado en
cm
Tabla 28. ANOVA de halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres
muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresado
en cm
Tabla 29. ANOVA de halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres
muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ expresado
en cm
Tabla 30. Correlación de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición de
bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales, distribuidas en
supermercados del DMQ expresado por cm
Tabla 31. Correlación de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición de
bacterias gram negativas para tres muestras de mieles comerciales, distribuidas en
supermercados del DMQ expresado por cm
Tabla 32. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades
fisicoquímicas vs halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres muestras
de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ61
Tabla 33. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades
fisicoquímicas vs halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres
muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del DMQ

Índice de Figuras

Figura 1 . Producción de miel a nivel mundial -2012
Figura 2. Distribución de Ponches
Figura 3. Representación de propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles
comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 4. Representación de propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles
comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 5. Representación de propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles
comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
31
Figura 6 . PCA de las propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles
comerciales distribuidas en supermercados del DMQ
Figura 7 . Dendrograma de las propiedades fisicoquímicas para tres muestras de
mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ
Figura 8. Representación de metales pesados de tres muestras de mieles comerciales
distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 9. Representación de oligoelementos de tres muestras de mieles comerciales
distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 10. PCA de las propiedades fisicoquímicas vs metales pesados y
oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en
supermercados del DMQ
Figura 11. Ampliación de metales pesados y oligoelementos presentes en los
cuadrantes F1 y F2 de la Figura 8
Figura 12. Dendrograma de las propiedades fisicoquímica vs metales pesados y
oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en
supermercados del DMQ
Figura 13. Dendrograma de las propiedades fisicoquímica vs oligoelementos para
tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ 51
Figura 14. Representación de halos de inhibición (cm) para bacterias gram
positivas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del
DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 15. Representación de halos de inhibición (cm) para bacterias gram
positivas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del
DMQ mediante prueba Tukey 0,05%
Figura 16. PCA de halos de inhibición para bacterias gram positivas vs
propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales en
supermercados del DMQ
Figura 17. PCA de halos de inhibición para bacterias gram negativas vs
propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en
supermercados del DMQ

Resumen

La miel es un producto biológico muy complejo, cuya composición físico-química y organoléptica varia notablemente dependiendo de la flora visitada y de las condiciones climáticas. Debido a que en Ecuador existen escasos estudios acerca de las mieles de abeja comerciales asociadas a sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas es importante dar a conocer estos datos para garantizar la calidad de este producto y poder explicar los diferentes mecanismos de acción de los compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, flavonoides dentro de cada una de las propiedades antes mencionadas. El objetivo general del presente trabajo es determinar la relación estadística de las propiedades químicas, físicas y microbiológicas de tres muestras de mieles (Apis mellifera L.) comerciales, distribuidas en supermercados del Distrito Metropolitano de Quito. Para los análisis se utilizaron tres marcas de mieles comerciales codificadas, para cada una de las pruebas realizadas se llevaron a cabo metodologías ya establecidas. Para los resultados estadísticos se aplicó el software InfoStat "versión 2008" y Community Analysis Package "versión 1.52". Se realizó ANOVA en donde se obtuvieron valores p < 0,01 que determino alta significancia para las variables analizadas, correlaciones de Pearson y finalmente un análisis de componentes principales PCA en el que se observaron algunos grupos tanto de propiedades físicas, químicas y microbiológicas en función de la variabilidad. Determinando que algunas propiedades muestran coeficientes de relación altos con las variables analizadas en consecuencia se encuentran formando parte de la mayoría de reacciones bioquímicas y enzimáticas que condicionan ciertas propiedades biológicas atribuidas a la miel de abeja.

Palabras Clave: relación estadística, miel de abeja, propiedades fisicoquímicas y microbiológicas

Abstract

Honey is a very complex biological product, whose physico-chemical and organoleptic composition varies considerably depending on the flora visited and the climatic conditions. Due to the fact that in Ecuador there are few studies about commercial bee honey associated with its physical, chemical and microbiological properties, it is important to make known these data to guarantee the quality of this product and to be able to explain the different mechanisms of action of phenolic compounds, phenolic acids, flavonoids within each of the aforementioned properties. The general objective of the present work is to determine the statistical relationship of the chemical, physical and microbiological properties of three commercial honey samples (Apis mellifera L.), distributed in supermarkets of the Metropolitan District of Quito. Three brands of coded commercial honeys were used for the analysis, for each of the tests carried out; already established methodologies were carried out. For the statistical results, the software InfoStat "version 2008" and Community Analysis Package "version 1.52" were applied. We performed ANOVA, where p values <0.01 were obtained, which determined high significance for the analyzed variables, Pearson's correlations and finally an analysis of PCA main components in which some groups of physical, chemical and microbiological properties were observed Of variability. Determining that some properties show high coefficients of relationship with the analyzed variables are consequently part of the majority of biochemical and enzymatic reactions that condition certain biological properties attributed to the bee honey.

Keywords: statistical relationship, bee honey, physicochemical and microbiological properties.

Introducción

Desde la antigüedad la miel de abeja fue recolectada por el ser humano siendo este el primer animal domesticado, esto afirma las evidencias encontradas en pinturas rupestres en cuevas hasta jeroglíficos señalan a las miel de abeja como producto alimenticio de origen natural utilizado como edulcorante natural para la fabricación de bebidas alcohólicas mediante procesos de fermentación, además de sus propiedades terapéuticas que le atribuyen amplios usos en la medicina para aliviar afecciones en la piel, úlceras, cortes, quemaduras y llagas.

El origen de la miel es conocido por todo el mundo procede de las abejas, partiendo de la recolección del néctar floral mediante secreciones propias la concentran, evaporan y enriquecen. Su composición y propiedades han hecho que este producto destaque ampliamente a nivel mundial.

Al ser la miel de abeja considerada rica en contenido vitamínico, sales minerales y azucares de fácil digestión que proporcionan un alto aporte energético y balance adecuado, afirmando que mientras se consuma por dos meses 70 gr/día mejora las funciones en el organismo de manera general ya que normaliza la composición de la sangre mientras aumenta los niveles de hemoglobina, previene la gripe y otras afecciones de tipo respiratorio, además mejora el proceso de digestión de alimentos restableciendo la actividad normal del intestino.

En la actualidad la fabricación, comercialización e industrialización de la miel de abeja ha logrado ampliar su mercado nacional e internacional con una gran demanda en países como Francia, Alemania donde es cotizada por sus beneficios terapéuticos y medicinales rigiéndose a las normas estandarizadas por Codex Alimentarius para

garantizar la calidad de las mieles que se distribuyen día a día en cada en las diferentes cadenas comerciales alrededor del mundo.

El objetivo del presente trabajo es determinar la relación estadística de las propiedades químicas, físicas y microbiológicas de tres muestras de mieles de abeja (*Apis mellifera L.*) comerciales, distribuidas en supermercados del Distrito Metropolitano Quito. Dentro de los objetivos específicos está verificar el grado de influencia que presentan tanto las propiedades fisicoquímicas como microbiológicas en procesos biológicos, bioquímicos y enzimáticos, comparar los valores de correlación existentes entre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas, explicar los procesos biológicos asociados a partir de las propiedades y componentes de la miel de abeja.

Resaltando que en el Ecuador existen escasos estudios asociados a sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas de la miel de abeja comerciales es importante dar a conocer estos datos para garantizar la calidad de este producto que se encuentra al alcance de los consumidores y poder explicar los diferentes mecanismos de acción de los compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, flavonoides dentro de cada una de las propiedades antes mencionadas así se puede corroborar mediante los índices de correlación de Pearson entre cada uno de las variables en estudio el nivel de relación que servirá como indicativo de posibles adulteraciones en la composición de las mieles en estudio al existir altas relaciones con explicaciones biológicas inexistentes que desencadenaran el potenciar o inhibir las diferentes propiedades que se le atribuye a este producto. La parte experimental del presente trabajo de titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias de la Vida de Universidad Politécnica Salesiana- Sede Quito-Campus El Girón mientras el procesamiento estadístico se desarrolló mediante el programa InfoStat "versión 2008", así como el análisis de componentes principales PCA desarrollado mediante el programa Community Analysis Package "versión 1.52"

de los datos obtenidos a partir de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del Distrito Metropolitano de Quito.

Capítulo 1

Marco Conceptual

1.1. Miel

La miel según la FAO se entiende como:

"Sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje" (2000, pp. 84-96).

El sabor, color y el conjunto de todas las propiedades de este producto de amplio espectro de uso depende en gran mayoría de las fuentes nectaríferas, este el principal referente al que se le atribuye los diferentes cambios en cuanto a su composición y sabor dependiendo de las regiones y la aglomeración de néctar que exista en cada uno de ellas.

Desde el punto de vista alimenticio otro de los conceptos según la Direccion Nacional de Alimetacion:

"Como alimento, la miel es una fuente gustosa y digestible de carbohidratos. Es un alimento natural y un buen recurso de energía rápidamente disponible. Buen número de vitaminas se encuentran en la miel, pero ninguna en una concentración significativa. Las vitaminas identificadas en varios tipos de miel incluyen, vitamina C, vitamina B

y vitaminas del complejo B2 como riboflavina, ácido nicotínico y ácido pantoténico. En la miel se encuentran numerosos minerales por ejemplo, calcio, zinc, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, sodio y cobre" (2002).

Mientras (Diaz, 2003) puntualiza a la miel de abeja como sinónimo de producto biológico complejo con una composición físico química y organoléptica altamente variable que depende del origen botánico, las condiciones climáticas y edáficas del suelo asociado a países donde existe exuberante vegetación con periodos de floración presididos por estaciones. Esta definición es la más acertada cuando se enfatiza a la miel desde el estado de un producto biotecnológico que por sus múltiples elementos y características otorgan cada uno de las propiedades que se detallaran a continuación.

1.1.1. Características generales

Al igual que muchos productos de consumo en la industria alimenticia existen características específicas como color, consistencia, sabor y aroma que determinan el tipo de origen botánico de la miel, valor nutricional, procedencia del néctar.

Tabla 1. Principales Características de la Miel.

Consistencia: está relacionado con un fenómeno que se conoce como cristalización de azucares sobresaturados que posee la miel en su composición en mayor o menor cantidad, estos azucares cristalizados establecen el grado fluidez total o parcial.

Color: existe una escala de colores que oscila entre el blanco agua hasta mieles oscuras de tonos casi negras. Se identifican algunos colores intermedios como tonos ámbar, rojizas, grisáceas y verdosas depende de la cantidad de algunos componentes como fosfato de calcio y hierro o de la porción vitamínica existente.

En mieles de tono claro muestran altas concentraciones de vitamina A en contraste con las más oscuras en donde la cantidad de vitamina B y C es mayor.

Sabor: está conjugado a componentes propios dentro de los que se destacan los polifenoles y aminoácidos. Depende también de compuestos no volátiles o compuestos que suscitan el dulzor nativo de los diferentes procesos de extracción de miel.

Aroma: se afilia a la amplia variedad de flora o especies vegetales que agradan a cada tipo de abeja originando gran cantidad de aromas específicos provenientes de cada fuente de néctar.

Nota: Adaptado de (INTI, 2011) por El Autor, 2016.

Algunas de las características de la miel se asocian al tipo de floración que presentan, monofloral o multifloral. La miel monofloral es producida por abejas que predominantemente buscan el alimento en un solo tipo de planta y por lo general el nombre se relaciona de acuerdo con la planta. Entre ellas se puede distinguir el trébol, acacia, tilo, etc. Mientras que mieles multiflorales también conocidas como poliflorales tienen varias fuentes botánicas, pero ninguna de estas es sobresaliente como: miel de bosque, prado de miel de flores (FAO, 2000, págs. 84-96).

Dentro de algunas características físicas que influyen directamente en el comportamiento de la miel son la concentración de azucares, sin minimizar la presencia de componentes que, en menor concentración como materiales aromatizantes, pigmentos, ácidos y minerales responsables de las diferencias entre las mieles que a pesar de ser originarias de un mismo sitio poseen un grado de incompatibilidad una de la otra.

Aún más variable que el color son el sabor y aroma dentro de un número infinito de variaciones que se encuentran concatenadas principalmente con la fuente floral predominante de cada una de las regiones en donde ha sido recolectada cada una de las mieles; en general, la miel de color claro posee un sabor sutil y por el otro lado una miel más oscura tiene un sabor más concentrado y pronunciado, las excepciones a esta condición dotan a la miel algunos sabores específicos muy definidos; sin embargo esta característica es un poco ambigua ya que resultan del juicio personal de cada uno de los consumidores, pero con la enorme variedad disponible de mieles alrededor de todo el mundo es impreciso definir un estándar para esta característica que sea satisfactorio para cada uno de los amantes de la miel (White, 1980, págs. 82-91).

1.1.2. Propiedades Físico - Químicas de la miel

1.1.2.1. Propiedades físicas

Al igual que todos los alimentos la miel cuenta con propiedades físicas que son responsables en su mayoría del agrado del consumidor y que en conjunto determinaran su calidad, son de importancia trascendental para evitar adulteraciones por agentes externos.

Tabla 2. Propiedades físicas de la miel

Propiedad	Descripción
Viscosidad	En la miel está relacionada con la temperatura, 1% de
	humedad es equivalente a 3,5 ° C.
Humedad	La humedad es una de las características que influye en el
	peso específico, en la viscosidad, en el sabor y condiciona por ello la conservación, la palatabilidad y la solubilidad

	de la miel, oscila entre el 13 -25% dependiendo de las
	condiciones climáticas.
Conductividad	La conductividad eléctrica de la miel varía entre los 0.868
Eléctrica	a los 3.65 x 10 ⁻⁴ ohm/cm. Estos valores aumentan según el
	contenido de cenizas.
Cristalización	Se produce más rápidamente cuanto más elevada es la
	relación glucosa/agua. Generalmente esta relación oscila
	entre 1.6 y 2.5 de viscosidad.
Coloración	El color de la miel va de blanco al negro. Se aprecia por
	medio de colorímetros o de comparaciones visuales, y
	varía según la especie percoreada y la rapidez de la
	secreción.
Cristalización	contenido de cenizas. Se produce más rápidamente cuanto más elevada es l relación glucosa/agua. Generalmente esta relación oscil entre 1.6 y 2.5 de viscosidad. El color de la miel va de blanco al negro. Se aprecia por medio de colorímetros o de comparaciones visuales, varía según la especie percoreada y la rapidez de l

Nota: Adaptado de (Gonzalez S., 2001) (Garcia, 2007) ("División de Ciencia Animal," 2005) por El Autor, 2016.

1.1.2.2. Propiedades químicas

Esta es una de las propiedades más susceptibles a variabilidad dependiente de muchos factores: especies cosechadas, naturaleza del suelo, raza de abejas y estado fisiológico de la colmena. La miel como una solución concentrada de azúcar invertido que contiene un valor aproximado del 80% de hidratos de carbono, un 17% de agua y 3% de otras sustancias que en conjunto confieren a la miel propiedades químicas específicas para cada tipo.

Tabla 3. Propiedades químicas de la miel

Propiedad	Descripción
pН	El pH de la miel está comprendido generalmente entre 3.3 y
	4.9 dependiendo del origen de la miel.
Acidez	El ácido principal de la miel es el ácido glucónico, que
	proviene de la oxidación de la glucosa. La cantidad de ácido
	glucónico depende principalmente del tiempo transcurrido
	entre la toma del néctar por las abejas.
Minerales	El contenido de cenizas es un criterio para evaluar el origen
(Cenizas)	botánico de la miel de abejas. Las mieles florales tienen en
	promedio de 0.17% de cenizas mientras que no florales
	presentan un valor más elevado.
Azúcares	Los azúcares representan del 95% al 99% de la materia seca
Totales	de la miel (80-82% del total), están relacionados con el
	origen botánico. La glucosa y fructosa constituyen el 85-90
	% de los azúcares totales.

Nota: Adaptado de (Perez & Ordetx, 1984, págs. 502-505) (Robles & Salvachua, 1999) (Mendieta, 2002) por El Autor, 2016.

1.1.3. Propiedades Biológicas

La bioactividad de la miel ha sido usada en apiterapia de muchas formas para prevenir, curar una o más enfermedades. Entre las principales propiedades terapéuticas y biológicas que se le atribuyen a la miel de abejas, se encuentran:

Antibacteriana y Cicatrizante.- La miel de abejas se usa externamente porque favorece la cicatrización y previene infecciones en heridas o quemaduras superficiales. Su acción antibacteriana se atribuye a que destruye a las bacterias por lisis osmótica, por lo que se utiliza en el tratamiento de ciertas enfermedades infecciosas. (Aguilera, 2006)

Actividad Antioxidante. - El término antioxidante se emplea para describir el proceso que impide la oxidación de otras sustancias químicas, que ocurren en las reacciones metabólicas o producidas por factores exógenos. Los antioxidantes actúan suministrando el electrón necesario para completar la capa electrónica externa del radical libre. La miel cuenta con sistemas antioxidantes constituidos por polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos que forman parte del sistema antioxidante de la miel, junto con una variedad de compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas), carotenoides y vitamina C, que son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante. Naturalmente los flavonoides tienen funciones de señalización molecular y expresión genética, que actúan como activador de una respuesta metabólica. Se ha demostrado que algunos flavonoides activan el óxido nítrico sintasa, asociada con protección cardiovascular (Gutierrez, Malaver, & Vit, 2008).

1.1.4. Composición química

La miel es una solución sobresaturada higroscópica de hidratos de carbono que contiene muchas otras sustancias y productos químicos; la composición global de la miel se muestra en la Tabla 4, destacando los hidratos de carbono como constituyentes principales, que comprenden alrededor de 95 % del peso seco de la miel.

Entre los componentes en los que más variación existen dentro de la miel de *Apis mellifera* son la sacarosa aparente (72.63 %), proteína (37.66 %) y minerales (20.90 %). Sin embargo, en promedio, todos los datos se encuentran dentro de las normas establecidas por el Codex Alimentarius. (Carrillo, 2002)

Tabla 4. Composición de la miel (datos en g/100g).

	Blosoom Honey		Honeydew honey	
avera		min -max	average	min -max
Water	17.2	15-20	16.3	15-20
Monosaccharides				
fructose	38.2	30-45	31.8	28-40
glucose	31.3	24-40	26.1	19-32
Disaccharides				
sucrose	0.7	0.1-4.8	0.5	0.1-4.7
others	5.0	2- 8.0	4.0	1-6.0
Trisaccharides				
melezitose	menor 0.1		4.0	0.3-22.0
erlose	0.8	0.5-6	1.0	0.1-6
others	0-5	0.5-1	3.0	0.1-6
Undetermined oligosaccharides	3.1		10.1	
Total sugars	79.7		80.5	
Minerals	0.2	0.1-0.5	0.9	0.6-2.0
Amino acids, proteins	0.3	0.2-0.4	0.6	0.4-0.7
Acids	0.5	0.2-0.8	1.1	0.8-1.5
ph-value	3.9	3.5-4.5	5.2	4.5-6.5

Nota: Tomado de (Bogdanov, Jurendic,, Sieber, & Gallmann,, 2008, págs. 677-689)

Los carbohidratos forman el principal componente de la miel en un porcentaje del 85 % de los sólidos además se incluye también alrededor de 25 azucares complejos resultantes de la combinación en niveles bajos de los dos principales fructosa y glucosa.

Tabla 5. Principales constituyentes de los azucares de la miel.

Monosacaridos	Disacaridos	Trisacaridos	Sacaridos Complejos
Fructosa	Gentibiosa	Centosa	Isomaltopentosa
Glucosa	Isomaltosa	Eriosa	Isomaltotetraosa
	Maltosa	Isomaltotriosa	
	Maltulosa	Isopanosa	
	Nigerosa	Laminaritriosa	
	Palatinosa	Maltotriosa	
	Sacarosa	Melezitosa	
	Turalosa	Panosa	

Nota: Tomado de (Ulloa, 2010, págs. 11-13)

Agua: el contenido normal esta entre 14,5 - 18,5 %, valores más elevados dentro de su composición pueden inducir al fenómeno de la fermentación.

Otros constituyentes minoritarios: que constituyen el peso de materia seca tales como ácidos grasos (0,6 %) de los que forman parte el ácido glucónico, acético, butírico, cítrico y fórmico.

Compuestos Nitrogenados: alcanzan (0,4 %) destacándose proteínas (0,3 %), aminoácidos especialmente la prolina (0,05-0,1 %) además se manifiestan enzimas (amilasa, glucooxidasa, etc).

Minerales: la proporción es relativamente baja (0,1 %) entre ellos potasio (0,05 %), fosforo (0,005 %), calcio (0,0048 %), sodio (0,0029 %) y magnesio (0,002 %) de los más representativos que intervienen en muchas de sus propiedades y características (Flora, 2008, págs. 2-4)

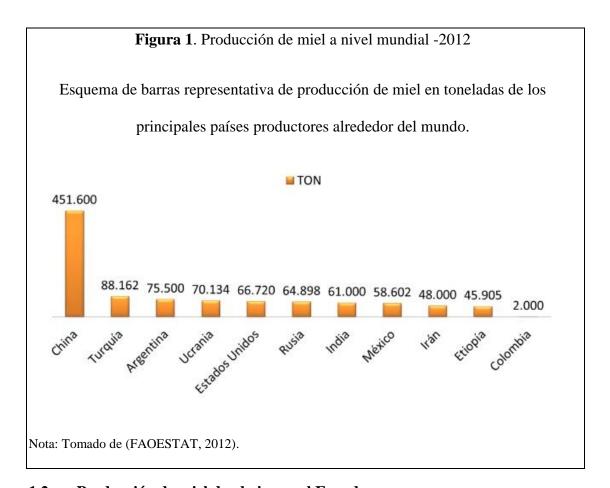
Existen otros compuestos destacados dentro de la composición de las mieles conocidos como fenoles y flavonoides que según Alvarez Suarez, Gasparrini, & Forbes Hernandez "la caracterización polifenólica ha demostrado ser adecuada para la diferenciación del origen floral de mieles, y por lo tanto, los flavonoides podrían representar un marcador botánico válido para la miel, siendo estrechamente relacionada con su capacidad antioxidante" (2014).

1.1.5. Importancia Económica

Para establecer en general la importancia económica de la miel se basa como primer pilar a la apicultura considerada como una actividad productiva de considerable importancia socio –económica. Se calcula que existen en el mundo aproximadamente 45 millones de colmenas de abejas que producen alrededor de 1'016.000 toneladas de miel y cerca de 25 millones de Kg. de cera anualmente (Nasimba, 2011).

De acuerdo a la producción de toneladas de miel se ubican los países de mayor producción tomando el primer lugar Rusia con un estimado de 190.000 toneladas de miel lo que genera un gran aporte a nivel económico. En segundo lugar se encuentra República Popular de China con una producción anual de 157.000 toneladas, la importancia económica radica en que aproximadamente un tercio de la producción es exportada; siendo Estados Unidos el tercer principal productor de miel con un aproximado de 91.000 toneladas promedio anual. El cuarto lugar lo ocupa México cuya producción anual en promedio oscila entre 47.000 toneladas, es uno de lo de los referentes económicos de importancia más trascendental aportando con un 7% de la producción total mundial. Conjuntamente con China, México se ha posicionado como los principales países exportadores de miel a nivel mundial. Finalmente Ecuador genera una producción aproximada de 910.000 kilos de miel, siendo su producción un importante aporte económico con el precio de comercialización fluctuando entre \$

8,00, esto impulso a la conformación de la FENADE (FEDERACIÓN NACIONAL DE APICULTORES DEL ECUADOR), reunidos en 10 asociaciones provinciales a lo largo de todos los centros de producción y comercialización de miel (Nasimba, 2011).



1.2. Producción de miel de abejas en el Ecuador

Las principales provincias se evidencia la mayor producción de miel de abeja son: Azuay, Guayas Pichincha, Imbabura, Carchi, Esmeraldas, Manabí, Bolívar, Loja, Zamora Chinchipe y Tungurahua. Para la producción de miel de abeja dentro de Ecuador se diferencial tres tipos de apicultores que contribuyen con la economía de cada una de las provincias antes nombradas; la mayoría de los apicultores se dedican a esta actividad de manera informal, sin legalizar su producto y con el fin económico de vender su propia producción de manera de tener un sustento económico que garantice satisfacer sus necesidades y no va más allá de contribuir a una economía de

producción de miel que se caracteriza por ser extraída directamente de los panales lo que garantiza que la miel obtenida es 100% natural (Chavez, 2014).

Existen otro tipo de apicultores que han establecido su propia microempresa con todas las normativas legales que garantizan que su producto sea competitivo en el mercado nacional principalmente con el fin de posicionar su marca no solo de manera convencional sino ampliando horizontes para poder competir con un mercado internacional mucho más exigente, a diferencia de los primeros apicultores no centran su producción en grandes cantidades de miel por el contrario buscar ser intermediarios entre otras empresas que faciliten la comercialización de su producto con valor agregado y de esta manera tener un posicionamiento en el mercado. Es así que el país está en capacidad de producir 1000 toneladas de miel por cada 20 hectáreas de bosque al año, en base a la gran ventaja de biodiversidad con la que cuenta el país. Sin embargo el Ecuador no ha logrado rebrotar su producción melífera representada por apenas 0,1 % de la economía nacional dentro del sector agrícola (DINERO , 2006).

1.3. Formas de obtención de miel de abejas

Según (Caron, 2010) el proceso de obtención de miel de abejas tiene etapas claves para lograr conseguir un producto final de alta calidad. Entre las principales etapas se encuentran:

En la primera las abejas (forrajeras) extraen el néctar de las flores, regresan a sus colmenas y acarrearán el contenido de sus buches melíferos a otras abejas de la colmena (bodoqueras), dentro la colmena las bodoqueras absorben el néctar y llevan el néctar a las celdas ubicadas arriba de las celdas de la cría y regurgitan dentro celdas vacías y comienza la conversión en miel. A altas temperaturas y baja humedad el proceso dura algunos días o alrededor de una semana (Caron, 2010). Cuando hay un

marco con ¾ de miel madura (celdas operculadas con cera) o un alza (de 9 o 10 marcos) con ¾ llena y celdas operculadas, esto define que esta lista para la cosecha

El proceso de desabejar que consiste en levantar los marcos con miel madura, sacudir y usar un cepillo para ahuyentar las abejas de los cuadros. Llevar los marcos (o alzas) a un lugar caliente y limpio por un lapso de 24 horas mediante el uso de un cuchillo se retira la capa de cera sobre las celdas de miel madura, este proceso se lleva a cabo en ambos lados del marco (Caron, 2010).

Para la extracción a través una maquina especial, el extractor hecho de metal o plástico —que consiste en una centrifuga para sacar la miel de ambos lados de los marcos. Algunos extractores hacen la extracción de ambos lados al mismo tiempo (llamada radial) y otros más baratos extraen un lado a la vez y con la ayuda del personal se cambia la orientación del marco de un lado por el otro (Caron, 2010).

Capítulo 2

Metodología

2.1. Asignación de códigos a las mieles

Se emplearon tres muestras de mieles comerciales, distribuidas en supermercados del Distrito Metropolitano de Quito para la determinación de propiedades fisicoquímicas y microbiológicas. Para los respectivos análisis se codificaron las muestras de mieles comerciales, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Asignación de códigos mieles comerciales

Muestras	Código	Origen de Miel	Días transcurridos desde fabricación
1	D1	Eucalipto,	210 días
	D1	trébol y flores	
2	D2	Pura de Abejas	131 días
3	D3	Pura de Abejas	120 días

Elaborado por El Autor, 2016.

2.2. Determinación de cenizas totales

Para la determinación del contenido de cenizas totales se aplicó la metodología descrita en la norma 1636 por INEN,(1989). El contenido de cenizas totales se determinó a partir de cada registro de peso constante obtenido, mediante la fórmula:

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

Donde la Ceniza Total; P1: Peso de ceniza registrado (gr); P2: Peso del crisol constante registrado (gr) y M: Peso de la muestra registrado (gr).

2.3. Determinación de fenoles totales

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el método descrito en el libro por Zaliberaa, (2008). Las concentraciones de fenoles totales se determinaron a partir de lecturas de absorbancia a 760nm, registradas en un espectrofotómetro mediante un estándar 0,1021g de Acido Gálico en alrededor de 1 ml de metanol y se lo completo a 100ml de agua destilada.; mediante una solución madre 6mM (ver tabla 7).

Tabla 7. Solución madre 6mM para la determinación de fenoles totales por espectrofotometría:

STANDARD	CONCENTRACION	VOLUMEN FINAL
STD ₁	$500 \ \mu L \ de \ SM + 500 \ \mu L \ H_2O$	3 mM
STD ₂	$300 \ \mu L \ de \ SM + 600 \ \mu L \ H_2O$	2 mM
STD ₃	500 μL de STD ₁ + 500 μL H ₂ O	1,5 mM
STD ₄	$500 \mu L de STD_2 + 500 \mu L$ H_2O	1 mM
STD ₅	500 μL de STD ₃ + 500 μL H ₂ O	0,75 mM
STD ₆	500 μL de STD ₄ + 500 μL H ₂ O	0,5 mM

Elaborado por El Autor, 2016.

2.4. Determinación de densidad

Para la determinación de densidad se aplicó la metodología descrita en el trabajo de titulación de Vargas, (2016). La densidad de cada muestra en g/cm³ tuvo 3 repeticiones.

2.5. Determinación de acidez total

Para la determinación de Acidez Total se utilizó la metodología descrita en la norma 1636 por INEN, (1989). La acidez total de cada una de las muestras se determinó mediante las siguientes fórmulas:

Acidez Libre =
$$(ml \ de \ NaOH \ 0.05N - ml \ de \ Titulacion \ Blanco)$$

* $50/g \ muestra$

Lactonas = (10ml - ml HCl 0,05N)*50/g muestra

$$Acidez\ Total = Acidez\ Libre + Lactonas$$

Para expresar la acidez calculada como porcentaje de ácido fórmico, los valores obtenidos por el método descrito anteriormente en miliequivalentes/Kg pueden convertirse en porcentaje de ácido fórmico multiplicándolos por 0,004603.

2.6. Determinación de oligoelementos y metales pesados

Para la determinación de oligoelementos y metales pesados se aplicó la metodología descrita en la revista científica por González, Ahumada, Medina, Neira, & Gonzalez, (2004). Se registró tres repeticiones mediante el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA).

Tabla 8. Longitud de onda para detección de metales pesados y oligoelementos medidos por EAA en tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Metal Pesados	Longitud de Onda (nm)
Ni	232
Cu	324,7

Cr	357,9
Pb	217
Ag	328,1
Oligoelementos	Longitud de Onda (nm)
K	769,9
Ca	422,7
Na	589,0
Mn	279,5
Mg	202,6

Elaborado por El Autor, 2016.

La concentración de oligoelementos y metales pesados se determinó mediante la interpolación de datos de cada uno de los valores obtenidos en comparación con los valores de la curva estándar, mediante la fórmula:

$$y = mx + b$$

Dónde: y = ecuación de la recta; m= pendiente de la recta; x= constante para la ecuación; b= valor de concentración en ppm de cada una de las muestras vs la curva de calibración.

2.7. Determinación de flavonoides

Para la determinación de flavonoides se utilizó la metodología propuesta en el boletín latinoamericano por Vattuone, Quiroga, Sgariglia, Soberón, & Jaime, (2007). Las concentraciones de flavonoides se determinaron a partir de lecturas de absorbancia de 510nm, registradas en un espectrofotómetro a través de un estándar 0,0308 g de Catequina en alrededor de 100 ml de metanol. Mediante una solución madre 1mM ver tabla 9.

Tabla 9. Solución Madre 1mM para la determinación de flavonoides por espectrofotometría:

STANDARD	CONCENTRACION	VOLUMEN FINAL
STD ₁	500 μL de SM + 500 μL H ₂ O	0,5 mM
STD ₂	$300 \ \mu L \ de \ SM + 600 \ \mu L \ H_2O$	0,3 mM
STD ₃	$500 \mu L de STD_1 + 500 \mu L H_2O$	0,25 mM
STD4	$500~\mu L~de~STD_2~+500~\mu L~H_2O$	0,15 mM
STD ₅	$500 \mu L de STD_3 + 500 \mu L H_2O$	0,125 mM
STD ₆	$500~\mu L~de~STD_4~+500~\mu L~H_2O$	0,075 mM
STD7	$500 \mu L de STD5 + 500 \mu L H2O$	0,0625 mM
STD ₈	$500 \mu L de STD_6 + 500 \mu L H_2O$	0,0375 mM

Elaborado: por El Autor, 2016.

2.8. Determinación del color

Para la determinación del color se aplicó la metodología propuesta en la red de revistas científicas por Delmoro, Nadal, Clementez, & Pranzetti, (2010). Para la determinación de color se registraron tres repeticiones mm PFUND (medida de la escala de color de la miel) mediante un colorímetro para generar una escala de colores (que se muestra en la Tabla 10).

Tabla 10. Escala de colores determinadas en función de la medida mmPFUND

Miel	mm PFUND
Blanco Agua	0-8
Extra Blanco	8-16,5

Blanco	16.5-34
Ámbar Extra Blanco	34-50
Ámbar Claro	50-85
Ámbar	85-114
Oscuro	Más de 114

Elaborado por El Autor, 2016.

2.9. Determinación Grados Brix

Para la determinación de grados Brix se utilizó la metodología descrita en el manual por KRUSS, (2016) se registró tres repeticiones en base a la escala utilizada por el equipo.

2.10. Capacidad Antioxidante

Para la determinación de capacidad antioxidante se aplicó la metodología descrita en la revista Boliviana de Química propuesta por Chuquimia, Alvarado, Peñarrieta, Bergenståhl, & Ákesson, (2008) se registraron tres repeticiones a través de la lectura en el espectrofotómetro.

2.11. Determinación de pH

Para la determinación de pH se utilizó la metodología descrita en American Journal of the College of Nutrition por Bogdanov, Jurendic,, Sieber, & Gallmann,, (2008). El pH de cada muestra se estableció a partir de 3 repeticiones realizadas mediante el potenciómetro.

2.12. Determinación de conductividad eléctrica

Para la determinación de conductividad eléctrica se aplicó-la metodología descrita en American Journal of the College of Nutrition por Bogdanov, Jurendic,, Sieber, &

Gallmann, (2008). La conductividad de cada muestra se estableció a partir de 3 repeticiones realizadas mediante el potenciómetro.

2.13. Determinación de humedad

Para la determinación del porcentaje de pérdida de peso por desecación humedad se empleó la metodología referida en la norma 1636 por INEN, (1989). El porcentaje de pérdida de peso por desecación se determinó mediante la fórmula:

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

Dónde: Hg= Porcentaje de pérdida de peso por desecación (%); M= Peso de la capsula vacía (constante); M1= Peso de la capsula con la porción de ensayo desecada (g); M2=Peso de la capsula con la muestra de ensayo (g); 100= factor matemático para los cálculos.

2.14. Análisis Microbiológico

2.14.1. Siembra

Se comprobó la actividad antimicrobiana en 17 cepas de microorganismos ATCC, provenientes del Laboratorio de Microbiológica, Universidad Politécnica Salesiana (UPS), Sede Quito- Campus El Girón (ver Tabla11).

Para la obtención de cepas viables de 24 a 48 horas se realizó la siembra mediante la colocación 10 ml de agua estéril en un tubo de vidrio con tapa rosca, se añadió 4 asadas de diferentes colonias de la cepa a ser inoculada, la resiembra se realizó tomando 500ul del inóculo. Se vertió el inoculo en una caja Petri con medio de cultivo específico correspondiente a cada uno de los microorganismos como se presenta en la Tabla 12., la incubación de cada una de las cepas se realizó a 24°C por el lapso de 24 horas. Por el periodo de 5 días para bacterias y 7 días para hongos respectivamente.

Tabla 11. Cepas de Microorganismos ATCC provenientes de UPS

Bacterias Gram Positivas	Bacterias Gram Negativas	Hongos	Levaduras
Clostridium perfringes	Pseudomona	Trichophyton	Kloeckera apiculata
Staphylococcus	aeruginosa	rubrum	var apis
epidermidids	Salmonella	Aspergillus	Candida kefyr
Bacillus spizizenii	typhimurium	brasiliensis	Candida tropicalis
Staphylococcus aureus	Klebsiella pneumoniae	Microsporum canis	Candida albicans
Lactobacillus Casei	Eschearichia coli		
Lactobacillus			
achidophilus			

Elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 12. Medio de cultivo específico para cada microorganismo

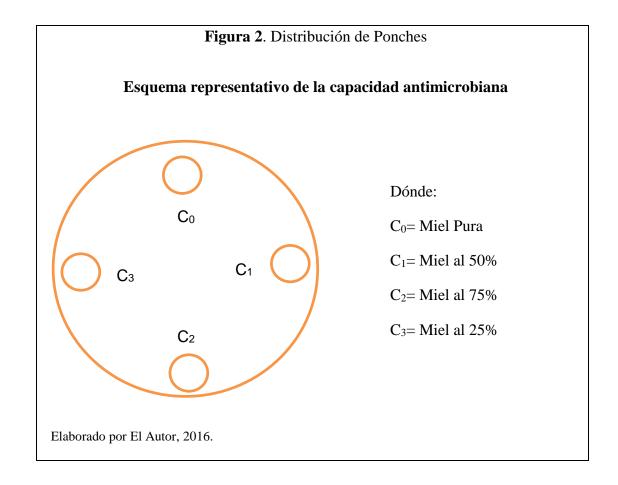
Сера	Código ATTC	Medio de Cultivo Especifico
C. perfringes	13124	Tryptic Soy Agar
S. epidermidids	14990	Tryptic Soy Agar
B. spizizenii	6633	Nutrient Agar
S. aureus	6538P	Tryptic Soy Agar
L. casei	393	Agar Man, Rogosa and Sharpe
L. achidophilus	314	Agar Man, Rogosa and Sharpe
P. aeruginosa	27853	Tryptic Soy Agar

Elaborado por El Autor, 2016.

S. typhimurium	13311	Tryptic Soy Agar
K. pneumoniae	10031	Tryptic Soy Agar
E. coli	9637	Tryptic Soy Agar
T. rubrum	28188	Potato Dextrose Agar
A. brasiliensis	16404	Potato Dextrose Agar
M. canis	36299	Yeast Peptone Dextrose
K. apiculata	32857	Tryptic Soy Agar
C. kefyr	204093	Potato Dextrose Agar
C. tropicalis	13803	Agar Sabouraud Dextrose
C. albicans	10231	Potato Dextrose Agar

2.14.2. Determinación capacidad antimicrobiana

La determinación de la capacidad antimicrobiana fue evaluada mediante halos de inhibición, después de 24 – 48 horas de incubación para el crecimiento de las cepas, se realizaron 4 perforaciones en cada caja Petri (Figura 2), se colocó diferentes concentraciones de miel en cada una de ellos. Para la determinación de los halos de inhibición el control se realizó en el lapso de 3 días con un registro de dos veces al día.



2.14 Análisis Estadístico

Para los análisis estadísticos de ANOVA, correlaciones de pearson y clúster análisis se utilizó el programa estadístico InfoStat "versión 2008" mientras que para el análisis de componentes principales PCA el software utilizado fue Community Analysis Package "versión 1.52".

Para cada una de las variables se utilizaron tres repeticiones de muestras de mieles comerciales distribuidas en el Distrito Metropolitano de Quito.

2.14.1 ANOVA

Es una herramienta estadística eficaz, de amplio uso en campos como: industrial para el control de procesos, laboratorio de análisis para controlar métodos analíticos. Se basa principalmente en comparar múltiples columnas de datos y en estimar los componentes de variación de un proceso específico (Boque & Maroto, 1997).

2.14.2 Correlación de Pearson

Se aplica como un instrumento de cuantificación de la fuerza de relación lineal existente entre dos variables cuantitativas, el coeficiente de Pearson fluctúa entre (-1 y +1) por lo tanto el valor +1 representa una relación lineal directamente proporcional entre las variables mientras que el valor -1 representa una relación lineal inversamente proporcional; además el valor 0 establece que no existe una relación lineal entre las variables (Fernandez & Diaz, 1997, págs. 141-144).

2.14.3 Clúster Análisis

Se fundamenta en descubrir los diferentes conjuntos de datos de diversos que pueden ser de origen biológico, botánico, medico, geográfico, etc para evaluar si pueden reducirse de manera significativa en términos de agrupamiento en racimos de objetos, individuos o muestras que guardan similitud entre sí pero que al mismo tiempo son diferentes en algunos aspectos a otro grupo de clústers (Everitt, Landau, Leese, & Stahl, 2011, págs. 7-13).

2.14.4 Análisis de Componentes Principales

Es una técnica estadística que sintetiza la información o reduce la dimensión (número de variables), lo que se conoce como factores o componentes nuevos hace referencia a una combinación lineal de las variables originales que resultan ser independientes entre sí por lo tanto gráficamente se evidencian dos dimensiones en donde se observa la variabilidad entre cada una de las variables analizadas (Terradez, 2000).

Capítulo 3:

Resultados y discusión

3.1. Propiedades Físico-químicas

Tabla 13. Valores de propiedades físico-químicas expresadas por cada 100g, para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

		Conductividad	Acidez			
		eléctrica	(milieq/	%Ceniza		Grados
Código	ph	(ms/cm)	Kg)	Total	%Humedad	Brix
D1	3,9	0,548	57,546	0,213	14,435	80,5
D2	3,3	0,256	38,157	0,128	11,508	80,5
D3	3,7	0,238	36,745	0,043	10,151	81

				Fenoles	
		Capacidad	Flavonoides	Totales	
		Antioxidante	(mg	(mg Acido	Densidad
Código	Color	(umol Trolox)	Catequina)	Gálico)	(Kg/m3)
D1	48,5	8,838	2,391	84,618	1,4323
D2	3,2	10,424	0,679	10,951	1,4320
D3	20,8	55,499	0,816	28,186	1,4323

Elaborado por El Autor, 2016.

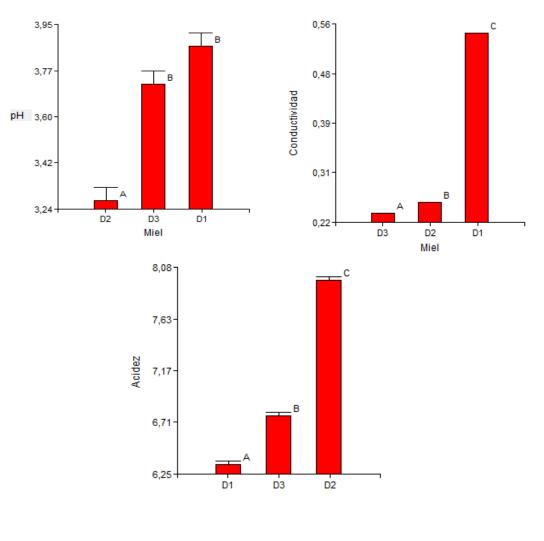
Tabla 14. ANOVA de propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales en supermercados del DMQ

			PROM	IEDIO Y I	RANGO
	SIGNIFICANCIA	C.V	D1	D2	D3
pН	**	2,42	3,87 B	3,28 A	3,72 B
Conductividad					
Eléctrica	*	0,31	0,55 C	0,26 B	0,24 A
Acidez	*	0,82	6,33 A	7,07 C	6,77 B
% Humedad	**	4,6	14,44 B	11,53 A	10,16 A
Color	*	0,55	4,85 C	0,32 A	2,09 B
Flavonoides	**	10,98	2,39 B	0,68 A	0,82 A
Fenoles					
Totales	**	18,08	1,11 B	0,28 A	0,47 A
Densidad	*	0,01	1,43 B	1,43 A	1,43 B

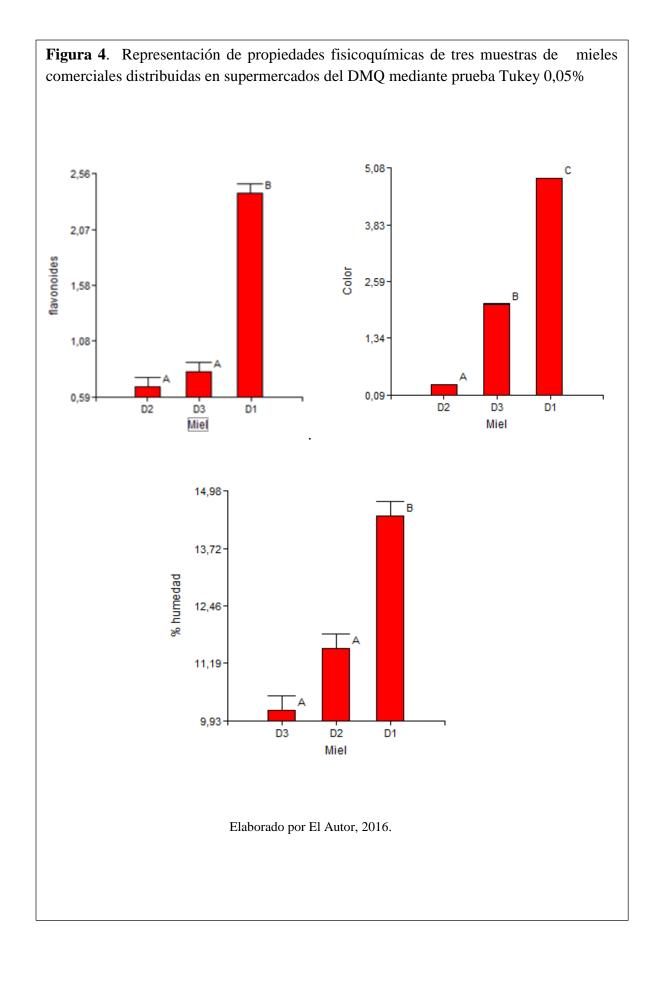
Elaborado por El Autor, 2016

Nota: ** alta significancia, *significancia

Figura 3. Representación de propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%



Elaborado por El Autor, 2016.



Representación de propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05% 1,22 1,43237 0,98 1,43226 Fenoles Totales Densidad 0,73 1,43216 0,48 1,43205 0,23 1.43195 D3 D1 D2 D1 D3 Miel Miel Elaborado por El Autor, 2016.

Para las propiedades fisicoquímicas analizadas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante tres repeticiones a través de un análisis estadístico ANOVA. El pH muestra un valor de p= 0,0004 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α =0,01; se observa diferencias significativas entre las tres mieles lo que se asocia a una posible adulteración sobre las muestra puras de manera que la dilución resultante presenta alteraciones entre los diversos componentes como azucares, sales, ácidos, etc (Acquarone, 2004).

La conductividad eléctrica exhibe un valor p<0,0001 que determina un alto nivel de significancia en comparación con $\alpha=0,01$ mostrando marcadas diferencias que se relacionan a la cantidad de minerales que presenta cada una de las muestras y como un indicativo del origen del néctar y del tipo de miel (Sanz & Sanz, 1994).

La acidez muestra un valor p<0,0001 que establece un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01 las diferencia existentes entre las muestras se corresponden a que esta variable incide en el grado de frescura que presentan las mieles por lo tanto la adición de sustancias acidas y conservadoras provocan un aumento en el pH, además el tiempo de extracción y la fermentación se vinculan al tiempo que permanece la miel en la colmena (Lazcano Hernandez, Sanchez Flores, Navarro Cruz, & Sosa Sánchez, 2007).

Para flavonoides se exhibe un valor p<0,0001 que comprueba un alto nivel de significancia en comparación con α =0,01 se establece esta diferencia en base a que las propiedades antioxidantes se relacionan con la cantidad de pigmentos entre los que destacan carotenoides y flavonoides. El aumento o disminución se vincula al contenido de agua presente en las muestras lo que determina el grado de reserva existente de compuestos antioxidantes solubles en agua (Vit P. , Gutierrez, Titera, Michael, & Rodriguez, 2008).

Para color se muestra un valor p<0,0001 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01 la diferencia entre las muestras se fundamenta en la proporción de azúcares, minerales, ácidos orgánicos, aminoácidos y agua que varían dependiendo del origen botánico dando como resultado una gran diversidad de mieles con colores, aromas y sabor distinto (Mari, 2015, págs. 31-35)

El porcentaje de humedad exhibe un valor p=0,0002 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01 se inscribe que la diferencia fundamental es que la humedad depende de factores ambientales y provee a la miel una composición difícilmente susceptible a contaminación sin embargo valores de humedad mayores a

18,5% son el resultado de procesos de fermentación asociados a latas cantidades de levaduras osmóticas (Ulloa, 2010).

La densidad muestra un valor p= 0,0052 que determina un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01 se afirma que la variación de esta propiedad dentro de las mieles se ve influenciada directamente por factores como la presión y temperatura por lo tanto se sujeta la posibilidad de cambios a nivel de estos parámetros asociados al transporte del producto desde los centros de acopio hasta su distribución final en los diferentes supermercados (Perez E. L., 2012).

Los fenoles totales exhiben un valor p=0,0002 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01 esta variación de contenido de fenoles en las mieles está determinado la especie vegetal y su mecanismo de síntesis (Buñay, 2014).

Tabla 15. Correlación entre las propiedades fisicoquímicas para 3 muestras de mieles comerciales en supermercados del DMQ expresada por cada 100g.

	pН	Conductividad	Acidez	%Ceniza	%Humedad	Grados Brix	Capacidad Antioxidante	Flavonoides	Fenoles	Densidad	Color
Ph	1,00										
Conductividad	0,72	1,00									
Acidez	0,71	1,00	1,00								
%Ceniza	0,33	0,89	0,89	1,00							
%Humedad	0,52	0,97	0,97	0,98	1,00						
Grados Brix	0,19	-0,54	-0,55	-0,87	-0,74	1,00					
Capacidad Antioxidante	0,16	-0,57	-0,58	-0,88	-0,76	1,00	1,00				
Flavonoides	0,8	0,99	0,99	0,83	0,93	-0,44	-0,46	1,00			
Fenoles	0,88	0,96	0,96	0,73	0,86	-0,29	-0,32	0,99	1,00		
Densidad	0,94	0,45	0,45	0,00	0,21	0,5	0,47	0,56	0,68	1,00	
Color	0,95	0,90	0,90	0,61	0,76	-0,13	-0,16	0,95	0,99	0,8	1,00

Elaborado por El Autor, 2016.

De acuerdo con los valores de correlación de Pearson se creó una escala para establecer la relación existente entre cada una de las variables en estudio (ver Tabla 16.)

Tabla 16. Escala para establecer la relación existente entre cada una de las variables en estudio

Relación	Coeficiente Pearson (x)
Alta	X ≥ +0,75
	X ≥ -0,75
Media	$0,75+ \le X \le +0,50$
	$0,75 - \le X \le -0,50$
Baja	$0,49+\leq X\leq 0$
	$0,49-\leq X\leq 0$

Elaborado por El Autor, 2016.

Dentro de las propiedades fisicoquímicas con correlaciones altas se encuentran el pH con los fenoles totales y los flavonoides esta relación se debe principalmente a la estructura química que presentan estos polifenoles compuestos en su mayoría por ácidos fenólicos o compuestos fenólicos que asociados a los diferentes ácidos orgánicos como: el ácido fórmico, butírico, láctico, oxálico, succínico, tartárico, maleico, pirúvico, piroglutámico, α-cetoglutárico, glicólico, cítrico, málico determinan que el rango de pH de las mieles oscile en 3.3 -5.5 (Caamaño, 2003) (Ulloa, 2010).

También el pH y la densidad se encuentran altamente relacionados porque los líquidos saturados presentes en la miel se expanden como fenómeno natural del aumento de la temperatura resultando en una disminución de la densidad consecuentemente una solución saturada tendrá mayor grado de soluto agregado y como consecuencia el pH

se mantendrá valores bajos o ácidos (Perez E. L., 2012). El pH y el color exhiben una relación alta en función a que el pH de la miel está asociado a la concentración de sales minerales presentes en los diferentes tipos de mieles al igual que el color que se origina como resultado de las reacciones de estas sales minerales y la materia orgánica presente (Sáez, 2010).

Otras de las propiedades que exhiben una correlación alta son: la conductividad eléctrica con la acidez cimentada en que existen en la miel gran cantidad de ácidos orgánicos algunos volátiles que aportan una acidez final siendo la conductividad eléctrica la capacidad que poseen las sales inorgánicas o electrolitos para conducir la corriente eléctrica, estos electrolitos en la miel estas formando parte de ácidos orgánicos, aminoácidos, etc. Razón por la que esta propiedad es directamente proporcional la acidez (Pineda, 2005).

La conductividad eléctrica con él porcentaje de cenizas mantienen una alta correlación debido al contenido de minerales que posee la miel, que se combinan con los radicales de los ácidos orgánicos presentes en su estructura lo que le confiere un potencial alcalino y la disponibilidad de estos minerales tienen relación directa con el contenido de cenizas (Sáez, 2010).

La conductividad eléctrica asociada al porcentaje de humedad manifiestan una alta correlación; al ser la miel una sustancia higroscópica se asume que exista una adulteración probablemente al ser diluidas con agua el alto contenido de minerales influye en el aumento del contenido de humedad y la conductividad eléctrica presente en las muestras analizadas. (Mohtar, Hernandez, Maidana, Leal, & Yegres, 2011).

La conductividad eléctrica junto con fenoles totales y flavonoides se establece una alta relación que depende preferentemente del contenido de minerales en la miel y estos

minerales estructuralmente están los ácidos orgánicos, las proteínas asociados a los compuestos fenólicos y especialmente a los iones disociados en forma de sales minerales (Sáez, 2010).

La relación alta de la conductividad eléctrica con el color al considerar a la miel un conductor eléctrico secundario al afirmar que contiene principalmente sales minerales, aminoácidos y ácidos orgánicos, entre otros que le confieren su correspondencia con el color debido a que algunas sales minerales contribuyen con esta propiedad (Galetti, 2012).

La acidez y su relación alta con él porcentaje de cenizas corresponde a que las características de la miel pueden influenciadas por el contenido de minerales, estos se combinan con los radicales de los diferentes ácidos orgánicos, dando como resultado un cierto potencial alcalino que aumenta el pH, esto se refleja en que cuanto mayor contenido de cenizas, mayor pH y la acidez (Pineda, 2005).

Así como relación alta entre la acidez y porcentaje humedad en función de que la acidez en las mieles se vincula a la cantidad de gluconolactona es el más abundante y procede especialmente de la descomposición de la glucosa, como producto intermedio de esta descomposición resulta también agua que influye directamente en el porcentaje de humedad (Moguel Ordóńez, Echazarreta Gonzalez, & Mora Escobedo, 2005).

La relación alta entre la acidez, fenoles totales y flavonoides se basa en la composición de compuestos fenólicos que forman parte de su estructura así como el ácido glucónico es el más abundante y constituye alrededor el 70 y 80 % de los ácidos totales por lo tanto un elevado valor de acidez como respuesta a los procesos fermentativos (Araque, 2014).

Dentro de la relación existente entre el color y la acidez se estipula que la miel está sujeta a cantidades mínimas de ácidos orgánicos. Al fermentarse se amplía el contenido de ácidos modificando así las condiciones e influenciando su consistencia y color (Lazo, 2002).

En cuanto al porcentaje de ceniza y porcentaje de humedad la relación es alta como resultado de la influencia de este parámetro en la miel asegurando que los resultados están relacionados con los diferentes componentes de la materia seca, consecuentemente el contenido de cenizas se manifiesta en la composición del contenido mineral así como de materia y solidos insolubles (Sanz & Sanz, 1994).

La relación alta entre el porcentaje de ceniza y flavonoides al ser estos compuestos de tipo fenólico constituidos por un anillo pirano capturan radicales libres; se predice que su relación se basa en la captura de iones (cationes y aniones) procedentes de los minerales asociados al porcentaje cenizas (Buñay, 2014).

Existen un alta relación inversamente proporcional (negativa) entre el porcentaje de ceniza y grados Brix, lo cual se debe presumiblemente a que mientras aumenta la cantidad de minerales disminuye la disponibilidad de solidos solubles que influyen directamente en la cantidad grados Brix así como el almacenamiento como factor externo que modifica estas propiedades (Gonzalez, Tamayo, Vargas, & Sauri, 2011).

El porcentaje de cenizas y la capacidad antioxidante muestran una relación inversamente proporcional (negativa) alta asociada a que las principales sustancias conocidas como antioxidantes son las vitaminas, enzimas, pigmentos naturales y finalmente los minerales en menor concentración (Vit P., y otros, 2009).

El porcentaje humedad se relaciona con fenoles y flavonoides mediante la estructura química presente en los compuestos fenólicos con la actividad que tiene el agua en

relación al nivel de absorción de la misma o a una posible adulteración en contenido elevado de agua (Vit P., y otros, 2009).

El porcentaje de humedad se relaciona con el color mediante un fenómeno conocido como cristalización que determina el estado del agua que varía dependiendo del almacenamiento por lo tanto mientras aumente la humedad se desencadena este fenómeno que altera el color, sabor y palatabilidad (Mungoi, 2008).

Por otro lado el porcentaje de humedad exhibe una relación negativa alta con los grados Brix asociado a que la viscosidad está condicionada al contenido de agua por lo tanto hace que el porcentaje de humedad se eleve y aumente la solubilidad los azucares presentes en la miel (Gomez, Navaza, & Riveiro, 2004).

Otra relación negativa alta se presenta entre el porcentaje de humedad y la capacidad antioxidante coligadas mediante el proceso de fermentación de la miel de manera que aumenta el anión superóxido y el anión hidroxilo principales radicales involucrados en la acción antioxidante (Perez, Rodriguez, & Vit, 2007).

La relación existente entre grados Brix y capacidad antioxidante se asocia a la composición química de este producto así como el contenido de azúcares individuales, componentes minerales entre otros varía según la especie de néctar tanto, como varia la concentración de pigmentos que contienen flavonoides y polifenoles compuestos que determinan la capacidad antioxidante (Gutierrez, Malayer, & Vit, 2008).

Los flavonoides tienen una fuerte relación con los fenoles totales por los compuestos fenólicos presentes con una relación directamente proporcional entre el color y niveles de compuestos flavonoides, es imposible que los flavonoides y compuestos fenólicos puedan actuar como antioxidantes por separado, afirmando que la miel se encuentra

conformada por un pool metabólico que contiene los dos grupos (Sosa Martinez, y otros, 2008).

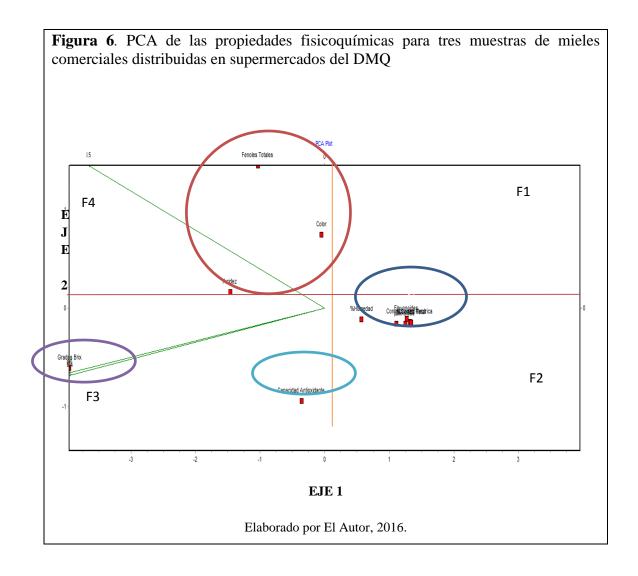
Otra marcada relación se evidencia entre los flavonoides y el color afirmando que la composición química de la miel obedece en gran medida al tipo de flores de las que las abejas extraen el néctar, aquí surge un fenómeno debido a la acción de las polifenoloxidasas, que oxidan a los flavonoides dando como resultado estructuras quinonídicas que se polimerizan generando colores pardo y a medida que aumentan le otorgan un color más oscuro (Ciappini, Gatti, & Di Vito, 2013).

Finalmente los fenoles totales se relacionan con la capacidad antioxidante como resultado de la interacción combinada de una gran gama de compuestos (fenólicos, péptidos, ácido orgánico y otros componentes minoritarios) asociado con el contenido de polifenoles y flavonoides (Muñoz, Copaja, Speisky, Peña, & Montenegro, 2007) de igual manera que los flavonoides los polifenoles guardan una estrecha relación con el color por la premisa citada anteriormente.

Tabla 17. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas supermercados del DMQ.

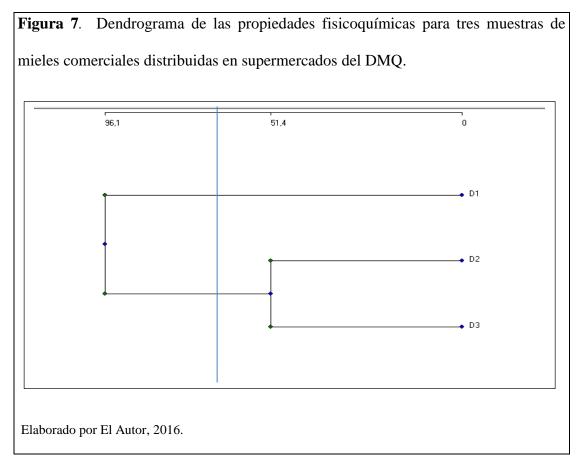
Ejes creados en	Autovalores o	Total	% Total de la
el proceso de	Eigenvalues	Acumulado	varianza absorbido
ACP			por cada eje
1	2,47515	2,47515	82,505
2	0,369348	2,8345	12,3116

Elaborado por El Autor, 2016



Como se muestra en la figura 4 al ser divido en cuatro cuadrantes se evidencia 4 grupos dentro de la propiedades fisicoquímicas en estudio, en el primer cuadrante nombrado como F1 valores de correlación > 0 que relacionan propiedades como porcentaje de humedad, conductividad eléctrica, pH, flavonoides, densidad y porcentaje de ceniza mientras una correlación media se evidencia entre color y capacidad antioxidante y finalmente la correlación baja entre la acidez, grados Brix y fenoles totales para cada una de las muestras analizadas, se atribuye también que a pesar de las 3 muestras de mieles comerciales provienen de un mismo supermercado en sus características fisicoquímicas se asocian dos de las tres analizadas lo que conlleva a predecir que la

muestra D1 puede tener un origen o un proveedor diferente hasta llegar a la cadena de distribución de los diferente supermercados del DMQ.



Se puede observar mediante la aplicación de un análisis de conglomerados la generación de dos grupos bien definidos; el primero está conformado por las mieles D2 y D3 asociados a través de las propiedades fisicoquímicas; agrupadas de tal manera que comparten algunas de estas propiedades entre sí, mientras que el segundo grupo está conformado por la miel D1 con diferentes propiedades que las anteriores.

3.2. Resultados de metales pesados y oligoelementos

Tabla 18. Valores de metales pesados para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada mg de metales pesados /100g de miel

Código	Plomo	Cromo	Níquel	Plata	Cobre
D1	0,0009	0,00	0,0001233	0,00003150	0,0000454
D2	0,0012	0,00	0,0000000	0,00000000	0,0001160
D3	0,0016	0,00	0,0001145	0,00000000	0,0000000

Elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 19. Valores de oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresada por cada mg de oliogolementos /100g de miel

Código	Sodio	Potasio	Calcio	Manganeso	Magnesio
D1	0,00033	0,001658	0,007366	0,0012818	0,003
D2	0,00091	0,000508	0,00635	0,00011447	0,0015
D3	0,00099	0,001983	0,004866	0,00631476	0,002320794

Elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 20. ANOVA de metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

			PROM	MEDIO Y RA	NGO
	SIGNIFICANCIA	C.V	D1	D2	D3
Plomo	**	3,50	0,19 A	0,25 B	0,32 C
Plata	*	84,85	0,01 B	3,3E-3 A B	0,0 A
Cobre	**	30,49	0,02 A	0,05 B	0,01 A
Sodio	**	1,94	0,13 A	0,36 B	0,40 C
Potasio	**	1,04	0,66 B	0,20 A	0,79 C
Manganeso	**	4,88	0,26 B	0,03 A	1,26 C
Magnesio	**	9,38	0,60 C	0,30 B	0,17 A

Elaborado por El Autor, 2016.

Nota: ** alta significancia; *significancia

Figura 8. Representación de metales pesados de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05% 0,05-0,33 В 0,04 0,29 [ppm] Cobre (ppm) Plomo 0,03 0,26 0,02 0,22 0,00 D2 0,18 D1 D2 Miel D3 Miel 0,017 0,012 [ppm] Plata 0,008 0,004 -0,001 D3 D2 D1 Miel Elaborado por El Autor, 2016.

Figura 9. Representación de oligoelementos de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05% 0,41 0,83-0,34 0,66 (ppm) Sodio [ppm] Potasio 0,27 0,50 0,19 0,34 0,17 D2 D3 D1 D2 D3 Miel Miel 1,34-0,64 1,00-(ppm) Manganeso 0,52 (ppm) Magnesio 0,65 0,39 0,31 0,27 D3 D1 D2 D1 D3 Miel Miel Elaborado por El Autor, 2016.

Para metales pesados analizados para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante tres repeticiones a través de un análisis estadístico ANOVA. El plomo muestra un valor de p<0,0001 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α =0,01; se presentan diferencias entre concentraciones de plomo dentro de lo analizado ninguna presenta niveles de plomo superiores a la concentración permitida para que este elemento llegue a niveles tóxicos, sin embargo su presencia en las muestras se asocia principalmente al origen botánico de las mieles así como a un posible indicio de contaminación ambiental en las especies que forman parte del consumo cotidiano de las abejas para obtener el néctar (Condor, 2015) .

Para Cobre el ANOVA exhibe un valor de p=0,0016 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01; la variación de concentración de este metal aunque no supera los límites permitidos en las muestras analizadas se presume una potencial dependencia de los materiales con que están elaborados los equipos utilizados en el proceso de extracción que desprenden este tipo de metal al entrar en contacto directo con la miel (Chacin, 2010).

Para plata el ANOVA muestra un valor de p=0,0315 presenta significancia en comparación con α=0,05 la diferencia de concentración de este metal se liga primordialmente con la trazabilidad de cada una de las muestras, involucrando directamente la cercanía con sectores industriales o automovilísticos (Condor, 2015).

Para oligoelementos o elementos traza analizados para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante tres repeticiones a través de un análisis estadístico ANOVA.

El sodio, el potasio, manganeso y magnesio exhiben un valor de p<0,0001 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α =0,01; estas variaciones en sus concentraciones se debe tanto al origen botánico como a las condiciones edáfico climáticas que presenta el lugar de procedencia de cada una de las mieles en estudio (Mendieta, 2002). Además otro factor que influye directamente en las diferencias entre cada miel se presume que se trata de las diversas especies de abejas y materiales utilizados en el proceso de extracción (Correa, 2015).

Tabla 21. Correlación de las propiedades fisicoquímicas con metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado por mg de cada elemento/100g de miel.

	ph	Conductividad	Acidez	%Ceniza	%Humedad	Grados Brix	Capacidad Antioxidante	Flavonoides	Fenoles	Densidad	Color
Plomo	-0,25	-0,85	-0,86	-1,00	-0,96	0,9	0,92	-0,78	-0,67	0,08	-0,54
Cromo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Niquel	0,96	0,51	0,06	0,06	0,27	0,44	0,42	0,61	0,73	1,00	0,83
Plata	0,76	1,00	0,87	0,87	0,95	-0,50	-0,53	1	0,97	0,50	0,92
Cobre	-0,74	-0,07	0,39	0,39	0,19	-0,8	-0,78	-0,2	-0,34	-0,92	-0,5
Sodio	-0,68	-1,00	-0,92	-0,92	-0,98	0,59	0,62	-0,98	-0,94	-0,40	-0,87
Potasio	0,86	0,26	-0,21	-0,21	-0,0027	0,67	0,65	0,38	0,51	0,98	0,65
Calcio	0,22	0,84	0,99	0,99	0,95	-0,91	-0,93	0,76	0,65	-0,11	0,52
Manganeso	0,36	-0,39	-0,76	-0,76	-0,61	0,98	0,98	-0,27	-0,12	0,65	0,05
Magnesio	0,99	0,81	0,45	0,45	0,63	0,05	0,02	0,87	0,94	0,89	0,98

Elaborado por El Autor, 2016.

Se establece la misma escala para determinar el nivel alto, medio o bajo de correlación de los metales pesados y oligoelementos analizados vs propiedades fisicoquímicas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Para el pH la relación se establece entre metales pesados (níquel, plata) y se debe a una posible contaminación del suelo con estos metales pesados influyendo en algunas características como pH, acidez, etc y mediante la movilización estos son absorbidos por el suelo de algunas especies vegetales que forman parte del suministro de néctar de las abejas para obtener mieles con diferentes tipos de pH.

Mientras que la relación que se establece entre el pH y oligoelementos como el potasio y magnesio se fundamenta en que son macromoléculas secundarias importantes para las especies vegetales obtengan todos los nutrientes del suelo y los movilicen a las diferentes estructuras y en consecuencia al néctar del cual las abejas fabricaran una miel con concentraciones de estos elementos influenciando así el cambio de pH y también otro parámetro relacionado como la acidez que también depende de los compuestos presentes en esta (Galan Huertos & Romero Baena, 2008).

Por otro lado la conductividad eléctrica se relaciona fuertemente con la plata, calcio, sodio, magnesio por la existencia de iones; probablemente de metales pesados o de oligoelementos que se encuentran formando estructuras denominadas quelato con los componentes orgánicos de la miel asociado a que mientras mayor sea el porcentaje de cenizas mayor será la conductividad eléctrica debido al contenido de minerales que se encuentren en la miel (Montenegro & Fredes, 2006).

Una relación negativa alta se observa entre el plomo y la conductividad eléctrica presuntamente vinculada a su asociación con otros metales como la plata, zinc, antimonio, hierro y cobre (Condor, 2015).

Las altas correlaciones evidenciadas entre metales pesados y oligoelementos o elementos traza se vinculan a potenciar o modificar algunas propiedades fisicoquímicas de la miel de abeja como porcentaje de humedad, grados Brix,

capacidad antioxidante, flavonoides, fenoles, densidad y color debido a una bioconcentración de metales pesados en la miel asociado a que estos elementos se encuentran presentes en el suelo y serán transferidos desde éste a las flores o a otras estructuras de las especies vegetales visitadas por las abejas, hasta llegar al néctar. El tipo de especies vegetales y su movilidad depende de la disponibilidad en el suelo influyendo en la transferencia, siendo la miel una sustancia higroscópica facilita la absorción de elementos contaminantes, también pueden ser acumulados como polvo metálico del aire por deposición atmosférica o dilución por fenómenos como la lluvia o el rocío en las estructuras de las especies vegetales visitadas por las abejas (Tirado, 2015).

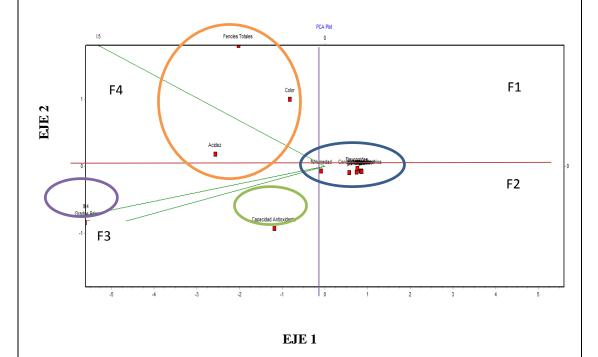
Se observa cantidades de oligolementos relacionadas a las diferentes propiedades fisicoquímicas estableciendo que forman parte de la composición de la miel como el potasio, calcio, sodio, magnesio y manganeso, el elemento traza que se encuentra en mayor abundancia es el potasio que fluctúa entre 45-85% del contenido total, el segundo es el sodio seguido del calcio y magnesio. Finalmente el color es la propiedad que tiene fuerte relación con los metales pesados y oligoelementos que atribuyen a esta las diferentes tonos, mieles oscuras y ambarinas contienen mayores cantidades de metales pesados como hiero, plomo y cadmio mientras que las mieles pálidas presentan gran contenido de aluminio y magnesio (Peñaloza, 2010).

Tabla 22. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades fisicoquímicas vs metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas supermercados del DMQ.

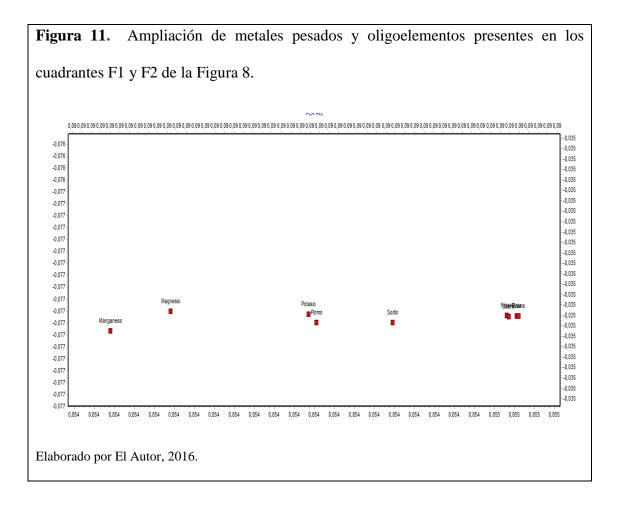
Ejes creados en	Autovalores o	Total	% Total de la
el proceso de	Eigenvalues	Acumulado	varianza
ACP			absorbido por
			cada eje
			· ·
1	2,58426	2,58426	86,142

Elaborado por El Autor, 2016.

Figura 10. PCA de las propiedades fisicoquímicas vs metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.



Elaborado por El Autor, 2016.



Como se muestra en el Figura 8 al ser divido en cuatro cuadrantes se evidencia 4 grupos dentro de la propiedades fisicoquímicas en estudio, en el primer cuadrante nombrado como F1 valores de correlación > 0 que relacionan propiedades como porcentaje de humedad, conductividad eléctrica, pH, flavonoides, densidad y porcentaje de ceniza vs. metales pesados y oligoelementos mientras una correlación media se evidencia entre color y capacidad antioxidante y finalmente la correlación baja entre la acidez, grados Brix y fenoles totales para cada una de las muestras analizadas.

Figura 12. Dendrograma de las propiedades fisicoquímica vs metales pesados y oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

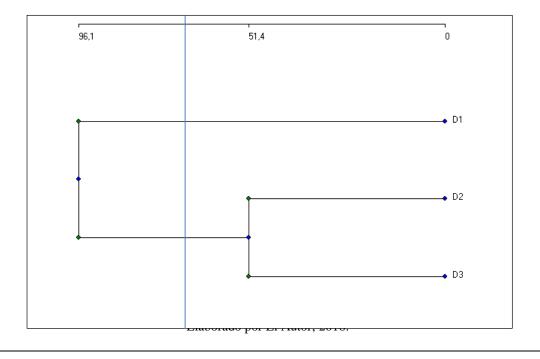
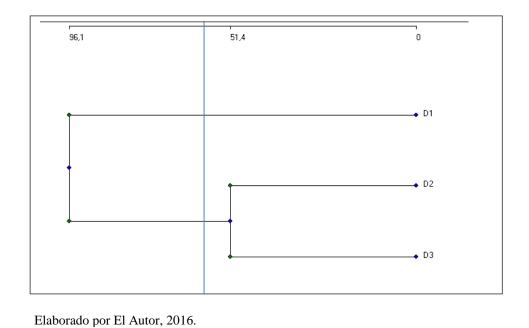


Figura 13. Dendrograma de las propiedades fisicoquímica vs oligoelementos para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.



Se puede observar mediante la aplicación de un análisis de conglomerados la generación de dos grupos bien definidos, el primero está conformado por las mieles D2 y D3 asociados a metales pesados y oligoelementos; agrupadas de tal manera que comparten concentraciones en ppm similares entre sí, mientras que el segundo grupo está conformado por la miel D1 con diferentes concentraciones en ppm que las anteriores.

3.3. Resultados de los análisis microbiológicos

Tabla 23. Bacterias que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Bacterias Gram Positivas	D1	D2	D3
Bacillus spizizenii	_	+	_
Staphylococcus epidermidids	_	+	-
Clostridium perfringes	_	+	_
Staphylococcus aureus	-	_	+
Lactobacillus casei	_	_	-
Lactobacillus achidophilus	-	-	-
Bacterias Gram Negativas			
Pseudomona aeruginosa Salmonella	-	+	-
Salmonella typhimurium	-	+	-
Klebsiella pneumoniae	-	+	-

Escherichia coli _ + _

Nota: (+) presencia de halos de inhibición; (-) ausencia de halos de inhibición para los microorganismos analizados, elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 24. Hongos que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Cepa	D1	D2	D3
Trichophyton rubrum	_	_	_
Aspergillus brasiliensis	_	_	_

Nota: (+) presencia de halos de inhibición; (-) ausencia de halos de inhibición para los microorganismos analizados, elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 25. Levaduras que presentaron halos de inhibición para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Cepa	D1	D2	D3
Candida kefyr	-	_	_
Kloeckera apiculata var apis	-	_	_
Candida tropicalis	_	_	-
Candida albicans	_	_	_

Nota: (+) presencia de halos de inhibición; (-) ausencia de halos de inhibición para los microorganismos analizados, elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 26. Valores de halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales en supermercados del DMQ expresado en cm.

Código	C. Perfringes	S.Epidermidis	B. Sppizzizeni	S.Aureus
D1	7,35	8,35	8,35	0
D2	0	0	0	0
D3	0	0	0	11,45

Elaborado por El Autor, 2016

Tabla 27. Valores de halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado en cm.

Código	P.aeruginosa	S.typhimurium	K.pneumoniae	E.coli
D1	0	0	0	0
D2	8,45	7,9	8,4	8,75
D3	0	0	0	0

Elaborado por El Autor, 2016.

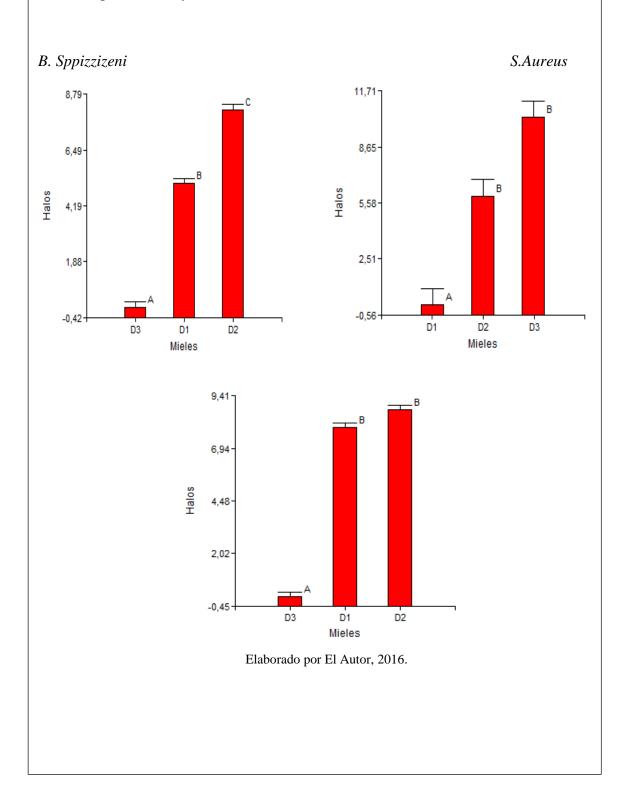
Tabla 28. ANOVA de halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado en cm.

			PROMEDIO Y RANGO				
	SIGNIFICANCIA	C.V	D1	D2	D3		
C . Perfinges	**	95,49	1,65 B	0,0 A	0,0 A		
B. spizizeni							
	**	76,81	1,73 B	0,0 B	0,0 A		
S. aureus	**	15,35	0,0 A	0,0 A	2,67 B		

Elaborado por El Autor, 2016.

Nota: ** alta significancia;*significancia

Figura 14. Representación de halos de inhibición (cm) para bacterias gram positivas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%



El análisis de halos de inhibición de bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante tres repeticiones a través de un análisis estadístico ANOVA.

El ANOVA para *B. Sppizzizeni* muestra un valor de p=0,0003 y *C.perfringes* muestra un valor de p=0,0002 presentan un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01; estas variaciones en tamaño de halos de inhibición se asocian principalmente a la composición química y la cantidad de compuestos involucrados en la actividad antimicrobiana como peróxido de hidrogeno, algunos compuestos fitoquímicos y antioxidantes fenólicos (*Estrada, Gamboa, Chaves, & Arias, 2005*).

S.Aureus muestra un valor de p=0,0094 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α =0,01; la diferencia en el tamaño de los halos de inhibición radica en que la efectividad antimicrobiana inicia a una concentración del 5% -10% de miel de abeja dependiendo del origen botánico (Cabrera , Ojeda, Cespedes, & Colina, 2003).

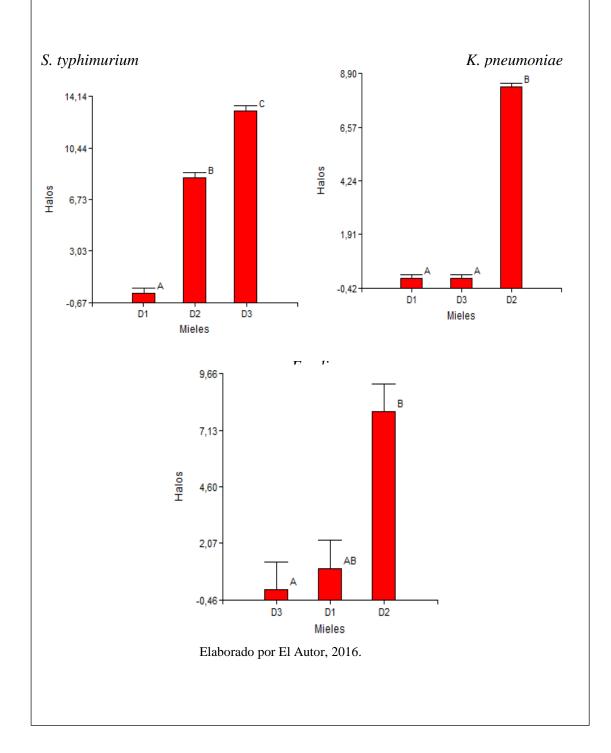
Tabla 29. ANOVA de halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado en cm.

			PROMEDIO Y RANGO			
	SIGNIFICANCIA	C.V	D1 D2 D3			
S. typhimurium	**	28,31	0,0 A	0,98 B	0,0 A	
K. pneumoniae						
	**	56,76	0,0 A	1,23 B	0,0 A	
E. coli	**	64,61	0,0 A	2,02 B	0,0 A	

Elaborado por El Autor, 2016.

Nota: ** alta significancia; *significancia

Figura 15. Representación de halos de inhibición (cm) para bacterias gram positivas de tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ mediante prueba Tukey 0,05%



El ANOVA para S. typhimurium muestra un valor de p=0,0003 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01; el tamaño de halos de inhibición varía de acuerdo a la composición química y a la cantidad de compuestos involucrados en la actividad antimicrobiana como peróxido de hidrogeno, algunos compuestos fitoquímicos y antioxidantes fenólicos (*Estrada, Gamboa, Chaves, & Arias, 2005*).

K. pneumoniae exhibe un valor de p=0,0003 presenta un alto nivel de significancia en comparación con α=0,01; la diferencia en cuanto al tamaño de los halos de inhibición se sustenta en la concentración del 90% se ejerce una actividad antimicrobiana aunque también en diluciones de 11,25% (Gamboa & Figueroa, 2009).

Tabla 29. Correlación de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición de bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado por cm

	ph	Conductividad	Acidez	%Ceniza	%Humedad	Grados Brix	Capacidad Antioxidante	Flavonoides	Fenoles	Densidad	Color
	μII	Conductividad	Aciuez	/0CE1112a	/01 Iuiiicuau	DIIX	Antioxidante	1 lavollolues	1 6110163	Delisidad	COIOI
C.											
perfingens	0,45	0,03	0,04	0,33	0,2	0,67	-0,53	1	0,97	0,5	0,25
B. spizizeni	0,45	0,03	0,04	0,33	0,2	0,67	-0,53	1	0,97	0,5	0,25
S. aureus	0,45	0,03	0,04	0,33	0,2	0,67	-0,53	1	0,97	0,5	0,25

Elaborado por El Autor, 2016.

Tabla 30. Correlación de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición de bacterias gram negativas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ expresado por cm.

	ph	Conductividad	Acidez	%Ceniza	%Humedad	Grados Brix	Capacidad Antioxidante	Flavonoides	Fenoles	Densidad	Color
S.typhimurium	-0,94	-0,45	-0,45	0,00	-0,21	-0,50	-0,47	-0,56	-0,68	-1,00	-0,80
K.pneumoniae	-0,94	-0,45	-0,45	0,00	-0,21	-0,50	-0,47	-0,56	-0,68	-1,00	-0,80
E.coli	-0,94	-0,45	-0,45	0,00	-0,21	-0,50	-0,47	-0,56	-0,68	-1,00	-0,80

Elaborado por El Autor, 2016.

Dentro de los valores obtenidos que corresponden a una alta correlación para bacterias gram positivas con fenoles totales y flavonoides se debe a que el peróxido de hidrogeno compuesto producido por las glándulas de las abejas, es un factor que interviene en la actividad antimicrobiana y el nivel de este compuesto es determinado por la glucosa oxidasa y catalasa; a través de unión de la enzima glucosa oxidasa y el aminoácido prolina formando un consorcio para la estabilización de radicales libres; dentro de la actividad antimicrobiana se encuentran compuestos no peróxidos como compuestos provenientes de plantas, flavonoides, ácidos fenólicos y ácidos no aromáticos. Algunos autores le atribuyen como principal agente antimicrobiano al peróxido de hidrogeno sin embargo otros sugieren que el rol antimicrobiano lo desarrollan por excelencia los compuestos de tipo no peróxido que por la inactivación de la glucosa oxidasa en mieles maduras genera un bajo contenido de peróxido de hidrogeno escaso para inhabilitar el crecimiento bacteriano. Por ejemplo en el caso de *S. aureus* se reportó una inhibición de crecimiento por mieles de tipo floral diluidas al 25% al tratarse a mieles analizadas con catalasa la inhibición se disminuyó lo que

corrobora que a mayor concentración de peróxido mayor será la actividad antimicrobiana (Romero, 2012).

Mientras que para bacterias gram negativas las correlaciones negativas son altas en relación al pH debido a la presencia de ácidos orgánicos vinculada principalmente a la cantidad de ácido glucónico que desencadena valores bajos de pH que oscilan entre 3.2 a 4.5, estableciendo que algunos microorganismos crecen a un rango de pH que varía entre 4.0 a 4.3 además se asocia también a la diluciones realizadas determinando que la acidez aumenta en mieles sin diluir por lo tanto aumenta la actividad antibacteriana vinculados a modificaciones en la membrana de la bacteria, incremento en el flujo de protones, incremento en el catabolismo de aminoácidos y la inducción de enzimas de reparación del ADN (Romero, 2012).

Otro propiedad fisicoquímica que presenta una correlación negativa alta con bacterias gram negativas es el color, al establecer que este depende de la cantidad de azúcares presentes para determinar las diferentes tonalidades de miel de igual manera altas concentraciones de azúcares influyen en la célula microbiana para generar un fenómeno hiperosmotico que implica la acumulación de solutos llevando a la celula bacteriana a un estrés osmotico (Romero, 2012).

Por lo tanto se ha llegado un consenso a nivel científico que asevera que no todas la mieles poseen la misma actividad antimicrobiana debido a los factores antes mencionados y a otros que se asocian el origen de la miel específicamente la fuente de néctar, el área de ubicación geográfica así como la manipulación y procesamiento de este producto hasta su distribución final en las diferentes cadenas de supermercados del DMQ (Zamora & Arias, 2011).

Tabla 31. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición para bacterias gram positivas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Ejes creados en	Autovalores o	Total	% Total de la
el proceso de	Eigenvalues	Acumulado	varianza absorbido
ACP			por cada eje
			100
1	4	4	100
2	4,84346E-7	4	100

Elaborado por El Autor, 2016.

Figura 16. PCA de halos de inhibición para bacterias gram positivas vs propiedades fisicoquímicas para tres muestras de mieles comerciales en supermercados del DMQ.

F1

F2

F2

F3

F3

F2

EJE 1

Elaborado por El Autor, 2016.

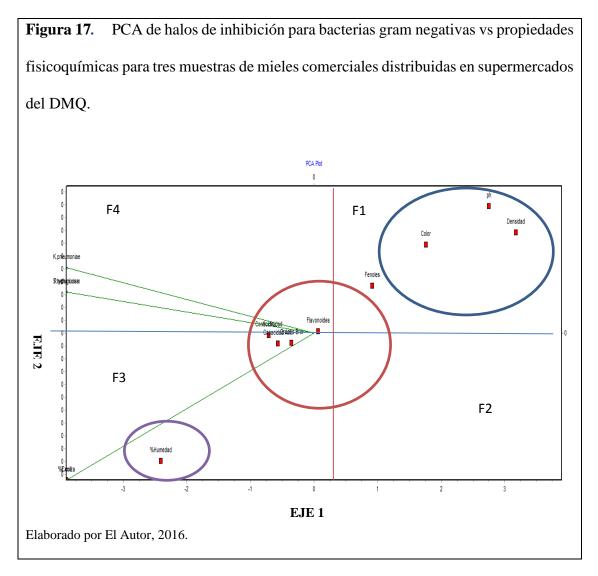
Como se muestra en la figura 13 al ser divido en cuatro cuadrantes se evidencia 3 grupos dentro de la propiedades fisicoquímicas en estudio, en el primer cuadrante nombrado como F1 valores de correlación bajo como la capacidad antioxidante con respecto a las bacterias gram negativas analizadas mientras que otras propiedades muestran correlaciones altas como pH, acidez, grados Brix y densidad que influyen directamente en la diferencia de tamaños de halos de inhibición para bacterias como *B. Sppizzizeni, C. Perfringes*.

Por otro lado, se observa que para *S. Aureus* se suman a las propiedades antes mencionada flavonoides y fenoles que determinan la variación en tamaño de los halos de inhibición para cada uno de las muestras analizadas y su capacidad antimicrobiana. También se muestra la asociación de algunos microrganismos agrupados a través de las características que comparten entre si cada uno de ellos tanto en morfología, tamaño, etc.

Tabla 32. Análisis de los componentes principales (PCA) de las propiedades fisicoquímicas vs halos de inhibición para bacterias gram negativas para tres muestras de mieles comerciales distribuidas en supermercados del DMQ.

Ejes creados en	Autovalores o	Total	% Total de la
el proceso de	Eigenvalues	Acumulado	varianza absorbido
ACP			por cada eje
1	4	4	100
2	4,84346E-7	4	100

Elaborado por El Autor, 2016



Como se muestra en la figura 14 al ser divido en cuatro cuadrantes se evidencia 3 grupos dentro de las propiedades fisicoquímicas en estudio, en el grupo nombrado como F1 valores de correlación negativa alta para propiedades como pH, color y densidad para bacterias gram negativas que condicionan el tamaño de halos de inhibición de manera indirecta modificando el metabolismo bacteriano.

Para *S. typhimurium* y *K. pneumoniae* se agrupan asociados además de las propiedades antes mencionadas a flavonoides, fenoles que influyen directamente con la variación en el tamaño de los halos de inhibición presentados en cada una de las mieles analizadas.

Finalmente para *E.coli* se relaciona con el porcentaje de humedad como factor relevante asociado a las propiedades antes nombradas que influye directamente en el

tamaño de halos de inhibición para cada una de las muestras analizadas estableciendo la capacidad antimicrobiana. También se la asociación de algunos microrganismos a través de las características que comparten entre si cada uno de ellos tanto en morfología, tamaño, etc.

Conclusiones

- Producto de haber estudiado la relación estadística existente entre las tres muestras de mieles comerciales en supermercados del DMQ analizadas en función de sus propiedades fisicoquímicas entre minerales, capacidad antioxidante y capacidad antimicrobiana comprobando así que algunas propiedades muestran coeficientes de correlación altos con las variables analizadas en consecuencia se encuentran formando parte de la mayoría de reacciones bioquímicas y enzimáticas que condicionan ciertas propiedades biológicas atribuidas a la miel de abeja.
- Se verificó que los componentes de la miel influyen directamente en las propiedades biológicas al potenciarlas o inactivarlas.
- Se comprobó que cuando las mieles comerciales se encuentran adulteradas con agua o edulcorantes se evidencian correlaciones altas entre propiedades fisicoquímicas y otras variables analizadas que biológicamente son inexplicables como conductividad eléctrica y el porcentaje de humedad lo que se asocia a un posible proceso de contaminación o adición de algún componente en la miel que altera su composición.

Recomendaciones

 Realizar estudios de trazabilidad de las mieles comerciales para obtener datos acerca de la ubicación geográfica, origen botánico entre otros de manera que se compruebe con mayor confiabilidad los factores ambientales que están directamente relacionados entre sí las propiedades fisicoquímicas, capacidad antioxidante y antimicrobiana.

Bibliografía

- Acquarone, C. A. (Abril de 2004). universidad de belgrano . Obtenido de http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/19_acquarone.PDF
- Aguilera, G. (2006). ¿Por qué se estudia la actividad antibacteriana de las mieles?

 Merida: APIBA.
- Alvarez Suarez, J., Gasparrini, M., & Forbes Hernandez, T. (21 de Juio de 2014).

 Foods. Obtenido de www.mdpi.com/2304-8158/3/3/420/pdf
- Araque, M. A. (Octubre de 2014). Serbiluz. Obtenido de

 http://tesis.luz.edu.ve/tde_arquivos/59/TDE-2015-03-03T09:45:57Z
 5575/Publico/fuenmayor_araque_mairy_alexandra.pdf
- Bogdanov, S., Jurendic,, T., Sieber, R., & Gallmann,, P. (2008). Honey for Nutrition and Health. American Journal of the College of Nutrition, 677-689.
- Boque, R., & Maroto, A. (1997). rodi. Obtenido de http://rodi.urv.es/quimio/general/anovacast.pdf
- Buñay, A. F. (2014). dspace. Obtenido de

 http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/3191/1/56T00429.pdf
- Caamaño, C. A. (2003). Gestion Forestal. Obtenido de

 http://www.gestionforestal.cl/pfnm/paqtecnologicos/ulmo/caracterizacionmiel.pdf
- Cabrera , L., Ojeda, G., Cespedes, E., & Colina, A. (2003). ACTIVIDAD

 ANTIBACTERIANA DE MIEL DE ABEJAS MULTIFLORALES (APIS

- MELLIFERA SCUTELLATA) DE CUATRO ZONAS APÍCOLAS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA. Revista Científica FCV-LUZ, 205-211.
- Caron, D. (2010). Food Farmers. Obtenido de http://food4farmers.org/wpcontent/uploads/2012/08/MANUALDEWEY1.pdf
- Carrillo, J. R. (Diciembre de 2002). bdigital.zamorano. Obtenido de bdigital.zamorano.edu/handle/11036/2339
- Chacin, C. (2010). repositorio uis. Obtenido de http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/304/2/133222.pdf
- Chavez, J. C. (2014). repositorio ucsg. Obtenido de

 http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/2826/1/T-UCSG-PRE-ESPCFI-118.pdf
- Chuquimia, F., Alvarado, A., Peñarrieta, M., Bergenståhl, B., & Åkesson, B. (2008).

 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y LA

 CUANTIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y FLAVONOIDICOS

 DE CUATRO ESPECIES VEGETALES DE LA REGION ANDINA DE

 BOLIVIA. Revista Boliviana de Quimica, 75-83.
- Ciappini, M., Gatti, M., & Di Vito, M. (2013). El Color como indicador del contenido de favonoides en miel . Ciencia tecnologica, 59-63.
- Condor, F. (2015). repositorio ESPE. Obtenido de http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10886/1/T-ESPE-049241.pdf
- Correa, A. R. (2015). bdigital unal . Obtenido de http://www.bdigital.unal.edu.co/52942/1/1117511405.pdf

- Delmoro, J., Nadal, D., Clementez, V., & Pranzetti, A. (2010). El color en los alimentos: Determinación de color en las mieles. Red de Revistas Científicas de America Latina, el Caribe, España y Portugal, 145-152.
- Diaz, C. (2003). Gestion Forestal. Obtenido de

 http://www.gestionforestal.cl/pfnm/paqtecnologicos/ulmo/caracterizacionmiel.pdf
- DINERO . (2006). Trabajo equipo, base de la apicultura. Diario de Negocios .
- Direccion Nacional de Alimetacion. (2002). Alimentos Argentinos. Obtenido de http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/Gest ion/GA-miel.pdf
- Estrada, H., Gamboa, M., Chaves, C., & Arias, M. (Junio de 2005). Scielo. Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200010
- Everitt, B., Landau, S., Leese, M., & Stahl, D. (2011). Cluster Analysis. London: Wiley.
- FAO. (2000). Definicion y Usos de la miel. Las abejas y su papel en los medios de vida forestales, 84-96.
- FAOESTAT. (2012). FAOESTAT. Obtenido de http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx
- Fernandez, P., & Diaz, P. (1997). Relacion entre variables cuantitativas. Coruña:

 Aten primaria.

- Flora, E. M. (2008). TDX . Obtenido de http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf?sequence=1
- Galan Huertos, E., & Romero Baena, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados . Sociedad española de mineralogia, 48-60.
- Galetti, J. (2012). edutecne. Obtenido de

 http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal_frvm/CyTAL_2012/TF/TF011.pdf
- Gamboa, V., & Figueroa, J. (2009). PODER ANTIBACTERIAL DE MIELES DE Tetragonisca angustula, VALORADA POR CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA. Acta Biologica Colombiana, 97 - 106.
- Garcia, D. (2007). Impacto social de la presencia de residuos químicos de síntesis en los productos de la colmena. REDVET, 7504-7638.
- Gomez, D., Navaza, J., & Riveiro, L. (2004). Estudio viscosimétrico preliminar de mieles de bosque denominación específica «miel de Galicia». Ciencia y Tecnologia Alimentaria, 234-239.
- Gonzalez, E., Ahumada, R., Medina, V., Neira, J., & Gonzalez, U. (2004).

 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON TUBO EN LA

 LLAMA: APLICACIÓN EN LA. Quim. Nova, 873-877.
- Gonzalez, S., Tamayo, J., Vargas, L., & Sauri, E. (2011). PERMANENCIA DE

 ANTIBIOTICOS EN LA MIEL DE TAHONAL (Viguiera dentata) Y SU

 IMPACTO EN ALGUNOS FACTORES DE CALIDAD. Revista Mexicana de
 Agronegocios, 569-573.

- Gonzalez, S. (2001). XV Seminario de Apicultura. Analisis de Antibioticos en Miel, (págs. 348-380).
- Gutierrez, M. G., Malaver, A., & Vit, P. (2008). Miel de Abejas: Una Fuente de Antioxidantes. Fuerza Farmaceutica, 41-42.
- INEN. (1989). Public Resource. Obtenido de https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1636.1989.pdf
- INTI. (2011). Por Que Consumir Miel? Mesa Sector Apicola, 2-7.
- KRUSS. (2016). Refractometro-Medicion brix en la industria de bebidas y zumos.

 Obtenido de

 http://www.kruess.com/documents/Applikationsberichte/AP130710_001_Med

 icion_Brix_en_la_industria_de_bebidas_ES.pdf
- Lazcano Hernandez, M., Sanchez Flores, A., Navarro Cruz, A., & Sosa Sánchez, R. (2007). Universidad Atonoma de Puebla . Obtenido de www.respyn.uanl.mx/especiales/2008/ee-08-2008/documentos/A015.pdf
- Lazo, F. E. (Abril de 2002). b.digitalzamorano. Obtenido de http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1524/1/T1453.pdf
- Mari, J. (2015). Abejas, flores y miel. Puerton Rico: edicionesdigitales.
- Mendieta, J. (Diciembre de 2002). bdigital Zamorano. Obtenido de http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2339/1/T1560.pdf
- Moguel Ordónez, Y. B., Echazarreta Gonzalez, C., & Mora Escobedo, R. (2005).

 Calidad fisicoquímica de la miel de abeja Apis mellifera producica en el

- estado de Yucatan durante diferentes etapasdel proceso de produccion y tipos de floracion. Tecnica Pecuaria en Mexico, 323-334.
- Mohtar, L., Hernandez, N., Maidana, J., Leal, I., & Yegres, F. (2011). Evaluación de la calidad de las mieles expendidas en Coro, estado Falcon, Venezuela.

 Multiciencias, 225-234.
- Montenegro, G., & Fredes, C. (2006). Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile. Ciencia e Investigacion Agraria, 57-66.
- Mungoi, E. M. (2008). tdx. Obtenido de

 http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf?sequence=1
- Muñoz, O., Copaja, S., Speisky, H., Peña, R., & Montenegro, G. (Agosto de 2007). scielo.
- Nasimba, G. (Noviembre de 2011). dspace. Obtenido de dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4421/1/UPS-QT00026.pdf
- Peñaloza, C. C. (2010). repositorio uis . Obtenido de http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/304/2/133222.pdf
- Perez, D., & Ordetx, G. (1984). Apicultura Tropical (4ta ed.). Costa Rica.
- Perez, E. L. (Noviembre de 2012). cdigital. Obtenido de http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32473/1/lunaperez.pdf
- Perez, E., Rodriguez, A., & Vit, P. (2007). Efecto de la Fermentación Postcosecha en la Capacidad Antioxidante de Miel de Tetragonisca angustula Latreille, 1811. Biotecnologia, 14-18.

- Pineda, D. I. (Diciembre de 2005). bdigital.zamorano. Obtenido de http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1074/1/T2077.pdf
- Robles, E., & Salvachua, J. (1999). Alimentacion de las Abejas. La Mancha.
- Romero, B. A. (Abril de 2012). ri.uaq.mx. Obtenido de http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/386/1/RI000077.pdf
- Sáez, C. L. (2010). cybertesis. Obtenido de http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/fav335e/doc/fav335e.pdf
- Sanz, S., & Sanz, M. (1994). Dialnet. Obtenido de Dialnet-HumedadCenizasYConductividadElectricaDeMielesDeLaR-110288%20(1).pdf
- Sosa Martinez, R., Tenori Borroto, E., Marrero Chang, O., Aguila Jimenez, E.,

 Camacho Bordon, S., & Mórales Montero, A. (2008). actaf. Obtenido de

 http://www.actaf.co.cu/revistas/apiciencia/2009-3/1.pdf
- Terradez, M. (2000). UOC. Obtenido de http://www.uoc.edu/in3/emath/docs/Componentes_principales.pdf
- Tirado, I. G. (2015). helvia. Obtenido de

 http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/13253/2016000001367.pdf
 ?sequence=1
- Ulloa, D. J. (2010). La miel de abeja y su importancia. Fuente, 11-13.
- Vargas, M. B. (2016). dspace.udla. Obtenido de

 http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/5385/1/UDLA-EC-TMVZ-201615.pdf

- Vattuone, M. A., Quiroga, E. N., Sgariglia, M. A., Soberón, J. R., & Jaime, G. S.

 (2007). COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES, FLAVONOIDES,

 PROLINA Y CAPACIDAD CAPTADORA DE RADICALES LIBRES DE

 MIELES DE Tetragonisca angustula. Boletin Latinoamericano y del Caribe

 de Plantas Medicinales y Aromáticas, 299-300.
- Vit, P., Gutierrez, M. G., Rodriguez Malaver, A. J., Aguilera, G., Fernandez Diaz, C., & Tricio, A. E. (2009). Comparacion de mieles producidas po la abeja yatei (Tetragonisca fiebrigi) en Argentina y Paraguay. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 219-226.
- Vit, P., Gutierrez, M., Titera, D., Michael, B., & Rodriguez, A. (2008). Mieles checas categorizadas según su actividad antioxidante. Bioquimica Clinica Latinoamericana, 237-244.
- White, J. (1980). Honey Composition and Propieties. Beekiping in the United States, 82-91.
- Zaliberaa, A. S. (2008). Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak

 honeys An electron paramagnetic resonance study. Food Chemestry, 512521.
- Zamora, L. G., & Arias, M. L. (2011). Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de de abejas sin aguijon. Biomed, 59-66.