UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

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

TEMA:

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y ANTIMICROBIANAS DE CINCO MIELES DE ABEJA (*Apis mellifera L.*) COMERCIALIZADAS EN LA PROVINCIA DE PICHINCHA

AUTORAS: AUGUSTA NATALI ARGÜELLO BRAVO VANESA ALEXANDRA BANDA CÓRDOVA

TUTORA:
MARÍA ELENA MALDONADO RODRIGUEZ

Quito, diciembre 2016

Cesión de derechos de autor

Nosotras, Argüello Bravo Augusta Natali con documento de identificación Nº

1717933020 y Banda Córdova Vanesa Alexandra con documento de identificación Nº

1723510630, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica

Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores

del trabajo de titulación intitulado: "Estudio de las propiedades físicas, químicas y

antimicrobianas de cinco mieles de abeja (Apis mellifera L.) comercializadas en la

provincia de Pichincha", 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 nuestra condición

de autoras nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En

concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del

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

Salesiana.

Quito, Diciembre 2016

Argüello Bravo Natali Augusta

C.I. 1717933020

Banda Córdova Vanesa Alexandra

C.I. 1723510630

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

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

"Estudios de las propiedades físicas, químicas y antimicrobianas de cinco mieles de abeja

(Apis mellifera L.) comercializadas en la provincia de Pichincha" realizado por Argüello

Bravo Augusta Natali y Banda Córdova Vanesa Alexandra, 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

María Elena Maldonado

C.I. 1707743157

DEDICATORIA

Dulce es el fruto de la adversidad, que como el sapo feo y venenoso, lleva en la cabeza una preciosa joya.

-William Shakespeare.

Este trabajo de titulación, dedico a mis pilares fundamentales y a mis dos grandes amores mis padres Mélida Bravo y Efraín Argüello, por la herencia de mi vida que son los estudios, soy la muestra del gran ejemplo que han sabido inculcarme, a mi hermano David por su cariño y respeto, y en especial a mí por demostrarme cada día que hay algo mejor por lo que luchar y no caer cuando la adversidad ha tocado mi puerta.

Natali Argüello Bravo.

Este trabajo lo dedico a la Universidad Politécnica Salesiana que me ha inculcado valores y conocimientos, a mis maestros que han sido mi guía y especialmente a mi familia y amigos que con su apoyo han permitido que mi camino pre profesional sea una experiencia fascinante.

Vanesa Banda Córdova.

AGRADECIMIENTOS:

A la Universidad Politécnica Salesiana que ha permitido el desarrollo del trabajo de titulación, a través de los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la carrera de Ingeniería de Biotecnología campus Girón y al Grupo de Investigación de la Universidad Politécnica Salesiana (BIOARN) por financiar la totalidad de nuestro proyecto.

Natali Argüello Bravo y Vanesa Banda Córdova

ÍNDICE

ANTECEN	DENTES	1
1.1. INT	RODUCCIÓN	1
1.2. OBJ	ETIVOS	3
OBJET	TIVO GENERAL	3
OBJET	TVOS ESPECÍFICOS	3
MARCO T	EÓRICO	4
2.1. MIE	L DE ABEJA	4
2.2. PRC	PIEDADES Y APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA DE LA MIEL DE	
ABEJA		4
2.3. CAF	RACTERÍSTICAS GENERALES	5
2.4. FOR	RMAS DE OBTENCIÓN DE LA MIEL	5
2.4.1.	PROCESO DE ELABORACIÓN DE MIEL POR ABEJAS	6
2.4.2.	COMERCIALIZACIÓN DE MIEL DE ABEJA	7
2.5. PRC	DUCCIÓN DE MIEL DE ABEJA EN ECUADOR	7
2.6. PRC	DUCCIÓN DE PICHINCHA	8
2.7. CON	MPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MIEL	10
2.7.1.	HIDRATOS DE CARBONO	10
2.7.2.	AGUA	10
2.7.3.	PROTEÍNAS	10
2.7.4.	SUSTANCIAS MINERALES	11
2.7.5.	OLIGOELEMENTOS Y OTROS	11
28 PRC	PIEDADES FÍSICO-OLÍMICAS BIOLÓGICAS Y ANTIOXIDANTES	11

2.8.1.	PR	OPIEDADES FÍSICAS-QUÍMICAS	11
2.8.1.	.2.	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	12
2.8.1.	.3.	ACIDEZ TOTAL	12
2.8.1.	.4.	COLOR	13
2.8.1.	.5.	HUMEDAD	14
2.8.1.	.6.	CENIZAS	14
2.8.1.	.7.	METALES PESADOS	15
2.8.1.	.8.	DENSIDAD	15
2.8.1.	.9.	CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES	16
2.8.1.	.10.	POLIFENOLES	16
2.8.1.	.11.	FLAVONOIDES	17
2.8.2.	PR	OPIEDADES ANTIOXIDANTES	19
2.8.2.	.1.	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	19
2.8.3.	CA	RACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y ACTIVIDAD	
ANTIM	ЛICR	OBIANA	19
2.9. IMP	ORT	ANCIA ECONÓMICA DE LA MIEL DE ABEJA	21
2.9.1.	CA	PITAL NATURAL	21
2.9.2.	CA	PITAL HUMANO	21
2.9.3.	CA	PITAL FÍSICO	22
2.9.4.	CA	PITAL SOCIAL	22
2.9.5.	CA	PITAL ECONÓMICO	22
METODOL	LOGÍ.	A	24
3.1. DET	ΓERM	INACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	24
3.1.1.	pН		24

3.1.2. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	24
3.1.3. ACIDEZ TOTAL	24
3.1.4. COLOR	25
3.1.5. HUMEDAD	25
3.1.6. CENIZAS	26
3.1.7. METALES PESADOS Y OLIGOELEMENTOS	26
3.1.7.1. CURVA ESTÁNDAR PARA CUANTIFICACIÓN	26
3.1.7.2. CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS Y	
OLIGOELEMENTOS	28
3.1.8. DENSIDAD	28
3.1.9. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES	28
3.1.10. POLIFENOLES	29
3.1.11. FLAVONOIDES	29
3.2. DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES ANTIOXIDANTES	30
3.2.1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	30
3.3. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. DETERMINACIÓN DE PH	35
4.2. DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	36
4.3. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL	37
4.4. DETERMINACIÓN DE COLOR	38
4.5. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD	41
4.6. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE CENIZAS	41
4.7. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS Y OLIGOELEMENTOS	42

4.8. DENSIDAD	46
4.9. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES	47
4.10.CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES	48
4.11.CONTENIDO DE FLAVONOIDES	48
4.12.DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	49
4.13.PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS	52
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Grupos de flavonoides en los alimentos	.18
Tabla N° 2 Longitud de onda para detección de metales pesados y oligoelementos	
medidos por EAA en 5 mieles comerciales distribuidas en la provincia de Pichincha	.27
Tabla N° 3 Estándares para determinación de polifenoles.	.29
Tabla N° 4 Bacterias Gram positivas ATCC con sus respectivas aplicaciones	.31
Tabla N° 5 Bacterias Gram negativas ATCC con sus respectivas aplicaciones	.31
Tabla N° 6 Hongos ATCC con sus respectivas aplicaciones	.32
Tabla N° 7 Levaduras ATCC con sus respectivas aplicaciones	.32
Tabla N° 8 Factores que favorecen el crecimiento de Gram positivas	.33
Tabla N° 9 Factores que favorecen el crecimiento Gram negativas	.33
Tabla N° 10 Factores que favorecen el crecimiento hongos	.33
Tabla N° 11 Factores que favorecen el crecimiento levaduras	.34
Tabla N° 12 Prueba cualitativa para la determinación de color de cinco mieles	
comercializadas en la provincia de Pichincha	.39
Tabla N° 13 Clasificación de las mieles por su color en base a la absorbancia y valore	S
de mmPFUND	.40
Tabla N° 14 Desviación estándar de flavonoides, polifenoles y capacidad antioxidante	e
de cinco mieles comerciales de la provincia de Pichincha	.51
Tabla N° 15 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de	
microorganismos ATCC Bacterias Gram Positivas	.53
Tabla N° 16 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de	
microorganismos ATCC Bacterias Gram Negativas	.54

Tabla N° 17 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de	
microorganismos ATCC de Hongos	.54
Tabla N° 18 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de	
microorganismos ATCC de Levaduras	.54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Determinación de pH de cinco muestras de mieles comercializadas en la
provincia de Pichincha
Figura N° 2 Determinación de la conductividad eléctrica que presentan las cinco mieles
comercializadas en la provincia de Pichincha
Figura N° 3 Acidez total expresado en mili equivalentes de cinco mieles
comercializadas en la provincia de Pichincha
Figura N° 4 Determinación del porcentaje de Humedad de cinco mieles
comercializadas en la provincia de Pichincha, en la figura se indica los códigos de las
muestras de mieles versus el porcentaje obtenido
Figura N° 5 Porcentaje de cenizas en cinco mieles comercializadas en la provincia de
Pichincha
Figura N° 6 Concentraciones cuantificadas (g/100ml); A: (A-Concentración
Cuantificada de Metales Pesados (gr/100ml de miel) BConcentración Cuantificada de
Oligoelementos (gr/100ml de miel)
Figura N° 7 Determinación de la densidad teórica en cinco mieles comercializadas en
la provincia de Pichincha
Figura N° 8 Prueba cuantitativa para la determinación de grados Brix en cinco mieles
comercializadas en la provincia de Pichincha
Figura N° 9 Contenido de polifenoles en cinco mieles comercializadas en la provincia
de Pichincha
Figura N° 10 Contenido de flavonoides en cinco mieles comercializadas en la provincia

Figura N° 11 Determinación de la capacidad antioxidante de cinco mieles
comercializadas en la provincia de Pichincha, expresado en Promedio Equivalentes
μmol Trolox/100g muestra50
Figura N° 12 Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva
Staphylcoccus epidermidis en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha
55
Figura N° 13 Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva Bacillus
spizizeni en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha56
Figura N° 14 Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva
Staphylococcus aureus en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha57
Figura N ° 15 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa Pseudomona
aeruginosa en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha58
Figura N° 16 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa Salmonella
typhimurium en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha59
Figura N° 17 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa Klebsiella
pneumoniae en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha60
Figura N ° 18 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa Escherichia
coli en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha61
Figura N° 19 Presencia de halos de inhibición de la levadura Kloeckera apiculata en
cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha

RESUMEN

La miel de abeja, un producto utilizado por el hombre desde hace muchos años como una fuente de alimentos por su fines nutricionales o medicinales, para tratamientos de algunas enfermedades porque tiene propiedades benéficas como antiinflamatorias y cicatrizantes; el objetivo de nuestro investigación consiste en determinar las propiedades físicas, químicas y antimicrobianas de cinco muestras de mieles de abeja (Apis mellifera L.) comercializadas en la provincia de Pichincha. Se analizaron cinco muestras comerciales, llevando acabo pruebas como: pH, conductividad eléctrica, acidez total, color, humedad, cenizas, metales pesados, oligoelementos, densidad, cuantificación de azúcares, polifenoles y flavonoides correspondientes para propiedades físico- químicas; además, propiedades antioxidantes como la capacidad antioxidante y la actividad antimicrobianas utilizando 16 cepas ATCC Gram positivas, Gram negativas, hongos y levaduras; fue evaluada con halos de inhibición. Los resultados obtenidos revelaron que todas las mieles de abeja se encontraron dentro de los parámetros correspondientes de las pruebas físico-químicas; por otro lado, la miel con código C obtuvo un valor alto en el contenido de polifenoles; en flavonoides las mieles de abeja con código A y B presentaron mayor concentración y en la capacidad antioxidante se destacó la miel A; respecto a los metales pesados, todas las mieles tiene pequeñas concentraciones de plomo pero no son perjudiciales para la salud, además, la miel C tuvo resultados favorables a la concentración de oligoelementos destacando el magnesio, finalmente la actividad antimicrobiana casi todas las mieles tuvieron resultados similares, sin embargo, la miel D presentó menor actividad frente a las cepas susceptibles. Palabras claves: miel, propiedades físico-químicas, antimicrobiana, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Bee honey is a product used by man for many years as a source of food for its nutritional or medicinal purposes, for treatments of some diseases because it has beneficial properties as anti-inflammatory and healing; The objective of our investigation is to determine the physical, chemical and antimicrobial properties of five bee honeys (Apis mellifera L.) marketed in the province of Pichincha. Five commercial samples were analyzed, including pH, electrical conductivity, total acidity, color, humidity, ash, heavy metals, trace elements, density, quantification of sugars, polyphenols and corresponding flavonoids for physicochemical properties; In addition, antioxidant properties such as antioxidant capacity and antimicrobial activity using 16 strains ATCC Gram positive, Gram negative, fungi and yeasts; Was evaluated with inhibition halos. The results obtained revealed that all the honey honeys were found within the corresponding parameters of the physical-chemical tests; On the other hand, the honey with code C obtained a high value in the content of polyphenols; In flavonoids bee honeys with code A and B presented higher concentration and in the antioxidant capacity the honey A was highlighted; With regard to heavy metals, all honeys have small concentrations of lead but are not harmful to health, in addition, honey C had favorable results to the concentration of trace elements highlighting the magnesium, finally the antimicrobial activity almost all the honeys had similar results, However, D honey showed less activity against susceptible strains.

Keywords: honey, physical, chemical properties, antimicrobial, antioxidant capacity.

ANTECENDENTES

1.1. INTRODUCCIÓN

Según (Abadio Finco, Learte Moura, & Galvao Silva, 2010) define a la miel como un producto alimenticio que producen las abejas melíferas, a partir del néctar de las flores u otras secreciones procedentes de partes vivas de las plantas, que lo recogen, transforman, combinan con sustancias especificas propias, almacenan y dejan madurar en los panales. La miel de abeja es un producto de característica viscosa, de aroma agradable que ha sido utilizada desde la antigua Grecia con fines: nutricionales (por el contenido minerales, vitaminas y valor energético elevado), medicinales (por acción antioxidante, antiséptica relacionados con los compuestos fenológicos), cosmetológicos (usado para tratamientos de acné, hidratantes, e ingredientes para la elaboración de cosméticos) (Alves Moreira & Bastos De María, 2001).

Su actividad antimicrobiana y antioxidante es debido a la composición química que la miel posee, los compuestos como azúcares, peróxido de hidrógeno, compuestos fenólicos, ácidos orgánicos brindan propiedades que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, la composición química de la miel depende del origen floral, climático y geográfico, por tanto, la actividad biológica de la miel es influenciada por dichos factores (Rodriguez Romero, 2012). Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en la miel contribuyen a esta importante actividad biológica. Estos compuestos son: flavonoides, ácidos fenólicos y algunas enzimas (por ejemplo, glucosa oxidasa, catalasa), ácido ascórbico, carotenoides sustancias similares, aminoácidos y demostrado proteínas. Se ha que los compuestos fenólicos contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante de la miel. Sin embargo, dicha capacidad antioxidante varía en gran medida dependiendo en la fuente floral de la miel, posiblemente debido a las diferencias en el contenido de metabolitos secundarios de plantas y actividad de las enzimas, como lo son los fitoquímicos originarios de cada planta (Alvarez-Suarez, Giampieri, & Battino, pubmed, 2013).

Otros efectos biológicos de la miel que han sido demostrados corresponden a su capacidad para eliminar infecciones gastrointestinales, producida por especies bacterianas como la *Salmonella tiphymurium* y *Shigella dysenteriae*, así como, la *Escherichia coli* entero patogénica (Alvarez-Suarez, Tulipani, Romandini, Bertoli, & Battino, 2010). Además se ha demostrado que la miel de abeja es un potente inhibidor del *Helicobacter pylori*, agente causante de las úlceras pépticas y la gastritis.

En la actualidad no existen publicaciones en Ecuador que detallen la composición química y propiedades biológicas de las mieles comerciales, es por esta razón la importancia de nuestro estudio ya que no solo es imprescindible al momento de darle un valor añadido a un producto, que no solo puede ser explotado comercialmente, sino también, como propuesta en la sustentación científica y rescate de los tratamientos relacionados a las prácticas de medicina tradicional que son tan ricas en el país.

1.2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar las propiedades físicas, químicas y antimicrobianas de cinco mieles de abeja (*Apis mellifera L.*) comercializadas en la provincia de Pichincha.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las características físicas, químicas de las cinco mieles de abeja en estudio.
- Cuantificar los principales grupos de compuestos bioactivos presentes de las cinco mieles de abeja en estudio.
- 3. Establecer la capacidad antimicrobiana en las mieles de abeja en estudio.

MARCO TEÓRICO

2.1. MIEL DE ABEJA

La miel es un líquido viscoso de color ámbar utilizado principalmente en la alimentación del ser humano debido a su agradable sabor, siendo la miel un producto de una fermentación entre los azúcares del néctar de las flores y las enzimas que se encuentran en la saliva de la abeja, que con el tiempo y el calor dentro del panal (que es generado por el aleteo de éstos insectos) provoca la evaporación del líquido brindándole su característica viscosa (National Honey Board, 2016), las abejas almacenan la miel producida en panales para transformar de una sustancia líquida ligera y perecedera, en una más estable, rica en carbohidratos, cuya composición depende de las especies de las plantas de las que se haya tomado el néctar; así como el tipo y la química del suelo, el clima, el manejo en el campo y una vez que se ha cosechado el apicultor (JICA, 2012) ; las abejas al mismo tiempo contribuyen con la polinización de la planta lo que permite que continúe con su ciclo reproductivo.

Actualmente la vida de las abejas es dependiente de la cantidad y el tipo de pesticidas que aplican en los cultivos florales y que afectará a la población de estos himenópteros y finalmente la cantidad de miel producida (Montague, 2015).

2.2. PROPIEDADES Y APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA DE LA MIEL DE ABEJA

Por tener un origen natural la miel de abeja tiene algunos beneficios para la salud humana como cicatrizantes, expectorantes, también tiene una función en la industrias cosméticas como por ejemplo para el tratamiento del acné, propiedades hidratantes para pieles sensibles; hace pocos años se ha descubierto que posee actividad bactericida.

Es decir, la miel de abeja es un producto versátil porque puede ser utilizada en cocina, belleza, investigaciones que benefician principalmente a la salud; un ejemplo de ello, es la aplicación como producto biotecnológico, basándose en su composición, por ejemplo en Nueva Zelanda se creó un apósito para curar heridas a base de miel debido a sus propiedades antimicrobianas ya que posee un pH parcialmente ácido que genera un ambiente adverso para los microorganismos, además de un alto contenido de azúcares que aumenta la osmolaridad además de su contenido de peróxido de hidrógeno. (Robson, 2008).

2.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES

La miel de abeja tiene características físicos-químicas, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana que pueden estar estrechamente relacionadas con las propiedades organolépticas, es decir, la simple percepción de nuestros sentidos: olor, olor, sabor y textura.

Al observar se puede obtener características generales como: fluidez, grado de cristalización, y el aroma de la miel, que dependerá de la flora de la que se extrajo el néctar; por otro lado el color de la miel puede variar de pardo oscuro o claro, este al igual que su sabor depende de su origen botánico (Bogdanov, Jurendic, Sieber, & Peter, 2008).

2.4. FORMAS DE OBTENCIÓN DE LA MIEL

Antes de la descripción es importante saber cómo interactúan las abejas para la producción de ésta.

En una colmena se puede distinguir a la abeja reina, los zánganos y las abejas obreras que cumplen con ciertas funciones dentro de ella.

La abeja reina es la encargada de la natalidad dentro del panal, ella es alimentada en su etapa larvaria con jalea real y va adquiriendo mayor tamaño que una abeja obrera, al llegar a su etapa fértil los zánganos lograrán fecundarla en los vuelos nupciales que duran de dos a tres días y durante tres años pondrá huevos fecundados que darán origen a una abeja obrera o no fecundados que dará origen a los zánganos.

Los zánganos son aquellos que se encargarán de fecundar a la abeja reina, son abejas macho sin aguijón, nacen de huevos no fecundados y participan en la aclimatación de la colmena.

Las abejas obreras son un pilar esencial dentro del panal ya que cumplen con varias funciones muy específicas entre ellas formar las celdas de cera, limpiar, cuidar de larvas, alimentar a la abeja reina, recolectar agua y el néctar de las flores que darán origen a la miel. (Fernández, 2011).

2.4.1. PROCESO DE ELABORACIÓN DE MIEL POR ABEJAS

Hay que tener claro que las únicas que producen miel en la colmena son las abejas obreras melíferas que recolectan el néctar de las flores absorbiendo con su lengua hasta llenar su buche, además ejercen un papel importante en el medio ambiente como polinizadoras, las abejas vuelan por varias horas saliendo de su colmena en un promedio de 12 veces, pueden visitar varias veces a la misma flor y viajar alrededor de 3 kilómetros al día.

Las invertasas que se encuentran en la saliva de las abejas producen una hidrólisis de los azúcares del néctar recolectado, es decir, transforman la sacarosa en glucosa, dentro de la colmena este proceso se repite, regurgitando el néctar de 80 a 90 veces para aumentar su concentración enzimática, además debido al aumento de la temperatura por el constante aleteo se produce una reducción de humedad de un 70% hasta un 16% brindándole mayor viscosidad a la miel. Al poseer éstas características las abejas se encargan de realizar el operculado que consiste en sellar las celdas con cera, siendo un indicador esencial para la recolección del ser humano. (García, 2004)

2.4.2. COMERCIALIZACIÓN DE MIEL DE ABEJA

La preparación de la miel para su comercialización no es un proceso complicado debido a que no necesita aditivos, existen algunas formas de comercialización como los peines de miel que pueden presentarse en bolsas o recipientes plásticos, es aplicable para aquellos apicultores que no tienen gran experiencia o equipo especializado como un extractor de miel que por centrifugación permite separar la miel de la cera dando utilidad a ambas, en definitiva la obtención de la miel por medio de la mano del hombre solo consiste en retirar los panales, realizar el desoperculado, extraer, filtrar, envasar y distribuir la miel cumpliendo con los parámetros de calidad al momento de recolección y envase (University of Kentucky, 2013).

2.5. PRODUCCIÓN DE MIEL DE ABEJA EN ECUADOR

La apicultura es una actividad importante que se está realizando en los últimos años en el Ecuador, además, actividad que es significativa económicamente convirtiéndose en una alternativa de la agropecuaria.

Ecuador es un país tiene variedades de mieles de abeja, de acuerdo a: aroma, sabor y color; pero el problema que existe, es que nadie sabe producir ni mucho menos comercializar este producto saludable y de origen natural. Actualmente el país no está importando miel y el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), trabaja para que las personas dedicadas a la apicultura cubran la demanda local aumentando la producción y calidad de la miel de abeja.

"A nivel nacional hay 902 apicultores con un total de 12.188 colmenas, cifras que corresponden al 60 por ciento del sector" ("EL DIARIO", 2015). Por lo tanto se debe avanzar el registro de los apicultores para obtener datos reales para el año 2016 que permitirá atender la demanda nacional, por lo tanto, potencializar la productividad y consumo de productos a base de miel de abeja, o incentivar la exportación de miel de abeja para generar otra fuente económica en el país.

2.6. PRODUCCIÓN DE PICHINCHA

La producción de miel de abeja en la Provincia de Pichincha está conformada por asociaciones de apicultores que permiten la producción y comercialización de miel de abeja y son:

- Asociación de Apicultores de Pichincha
- Asociación de Apicultores del Valle de los Chillos
- Asociación Artesanal de Producción Fuente de Vida de Machachi
- Pre- Asociación de Apicultores de Tumbaco (Andrade Aguirre, 2009).

En esta provincia se incentiva al consumo de los productos a base de miel de abeja y esto es gracias al respaldo del Dirección de Apoyo a la Producción, que el Gobierno de Pichincha está ofreciendo apoyar al sector de la producción apícola en la provincia.

Según la Asociación de Apicultores de Pichincha, en esta provincia existen aproximadamente 200 apicultores muy bien organizados, estos productores elaboran miel y sus derivados (propóleos, polen, etc.); y la idea es que pueda ser abastecido para todo el Ecuador, incluso la exportación, sin embargo la producción que se tiene como provincia y país es todavía baja para la competencia (Comunicacion social RT, 2013).

Además vale aclarar, que la producción está disminuyendo por factores que afectan a la recolección de la miel como el cambio climático, robo de colmenas, falta de espacio el uso de agroquímicos a matan a las abejas y dificultades que se presentan por falta de apoyo de instituciones.

En este año se quieren potencializar la producción y el consumo de la miel de abeja y sus derivados, ya que es considerada para su exportación y además un negocio rentable para la provincia de Pichincha por lo tanto también para el país (MCPEC, 2011).

Este estudio da a conocer las diferentes propiedades que tiene las mieles de abeja comerciales, para determinar si estas pueden ser utilizadas como producto o como materia prima para la elaboración de medicamentos o alimentos, e incluso ser utilizado como un indicativo de contaminación ambiental.

2.7. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MIEL

La miel es una solución concentrada de azúcares con predominancia de glucosa y fructuosa. Contiene además una mezcla compleja de otros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, pigmentos, cera, y granos de polen. La composición química varía según su origen floral. Además la composición influye mucho los factores externos como el suelo, el clima, es decir, las condiciones ambientales.

2.7.1. HIDRATOS DE CARBONO

La miel está conformada por la fructosa y glucosa. Otros azúcares presentes son: disacáridos como la sacarosa, la maltosa, y el trisacárido melecitosa.

2.7.2. AGUA

El porcentaje de humedad en la miel de abeja está entre 15-20 %, este valor no puede ser mayor, porque, la miel puede ser susceptible a fermentación, y de esta manera favorecer al crecimiento de las levaduras osmofílicas, si el valor es menor al porcentaje indicado, altera las propiedades como: color, viscosidad y peso específico (Ulloa, Mondragón Cortez, Rodríguez Rodríguez, Reséndiz Vázquez, & Ulloa, 2010).

2.7.3. PROTEÍNAS

La miel tiene 0,5% de proteínas que se encuentran estrechamente relacionados con el contenido de nitrógeno. Las proteínas tienen alrededor del 40 a 80% del nitrógeno y son incorporados por las abejas como enzimas para la transformación del néctar en miel; además, se ha encontrado que la miel posee entre 11 a 21 aminoácidos libres en su

composición, siendo la prolina el aminoácido predominante (Ulloa, Mondragón Cortez, Rodríguez Rodríguez, Reséndiz Vázquez, & Ulloa, 2010).

2.7.4. SUSTANCIAS MINERALES

El porcentaje de minerales en la miel varía entre 0,02 a 1,0%, donde el potasio puede exceder 10 veces a otros minerales como: sodio, calcio y magnesio. Sin embrago, existen otros minerales que se encuentra en menor cantidad como: hierro, sílice, cloro, fosforo, manganeso, azufre y cobre (Ulloa, Mondragón Cortez, Rodríguez Rodríguez, Reséndiz Vázquez, & Ulloa, 2010).

2.7.5. OLIGOELEMENTOS Y OTROS

Hay numerosos estudios que presentan una cantidad extensa de elementos trazas como el zinc, molibdeno, yodo, etc, además, vitaminas como: Retinol (Vitamina A), Ácido Fólico (Vitamina B9), Ácido Pantoténico (Vitamina B5), Riboflavina (Vitamina B2), Piridoxina (Vitamina B6), Cobalamina (Vitamina B12), Biotina (Vitamina B7), Ácido ascórbico (Vitamina C), Calciferol (Vitamina D), Fitomenadiona (Vitamina K), Niacina (Vitamina B3) y Tiamina (Vitamina B1) y el contenido calórico de la miel de abeja es de 3,3 kcal/gr (INTI, 2011).

2.8. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, BIOLÓGICAS Y ANTIOXIDANTES

2.8.1. PROPIEDADES FÍSICAS-QUÍMICAS

2.8.1.1. pH

El pH es una prueba destinada para cuantificar la concentración de hidrogeniones que existen dentro de una solución, la escala para determinar el pH va desde 1 a 14 siendo 1

el pH más ácido, 7 es pH neutro y 14 el pH más básico; el equipo utilizado para medir el pH es el potenciómetro que se pone en contacto directo con la sustancia por medio de un electrodo (Hopp, 2005).

Según (Zandamela Mungói, 2008) la miel posee un pH medianamente ácido, que oscila entre 3,4 a 6,1; que le da mayor estabilidad al presentar ataques microbianos ya que un pH ácido al tener contacto con la membrana celular genera poros, a excepción de las bacterias Gran negativas que debido a su doble membrana lipídica y una capa intermedia de peptidoglicano; las hacen más resistentes a este tipo de ambientes (Cerón, 2010).

2.8.1.2. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Se basa en la medición de la resistencia eléctrica, y esto se debe a la diferencia de la procedencia botánica que tiene la miel; "en el caso de mieles cuyo origen botánico genere una alta conductividad se debe complementar con una análisis polínico" (Chilena, 2007). La miel se considera como un conductor secundario por su contenido mineral, ácidos orgánicos y aminoácidos, gracias a los minerales que contiene la miel, esta prueba puede llegar a reemplazar como una técnica indirecta a otras más costosas como la prueba de cenizas que demanda mayor cantidad de tiempo y energía; en otra palabras, la conductividad eléctrica es directamente proporcional al contenido de cenizas (Zandamela Mungói, 2008).

2.8.1.3. ACIDEZ TOTAL

La acidez en la miel es una propiedad muy importante debido a que ésta le brinda mayor protección contra los microorganismos, la miel posee algunos ácidos orgánicos como: acético, málico, oxálico, succínico, butírico, fórmico, clorhídrico, fosfórico, piroglutámico y el más importante el glucónico que resulta de la transformación de la

glucosa por acción enzimática de la invertasa que se encuentra en la saliva de la abeja (Zandamela Mungói, 2008).

La miel presenta tres tipos de acidez: acidez libre, lactónica y acidez total; la diferencia entre la acidez libre y la lactónica es que algunos ácidos que tiene la muestra de miel son hidroxilados, esto quiere decir que pueden ser ácidos y alcoholes a la vez, por lo tanto se puede determinar el ácido lactónico de la miel tras la adicción del exceso de la base; por otro lado, la acidez total es la sumatoria de la acidez libre y lactónico (Sanz Cervera & Sanz Cervera, 1994).

"Una característica de tipo organoléptico asociado a la calidad de un producto natural

2.8.1.4. **COLOR**

el color es uno de los atributos de calidad que puede determinar el rechazo o aceptación del mismo" (Andrea Acquarone, 2004). El color de la miel varía desde tonos que son claros a oscuros y esto puede deberse al origen botánico y geográfico de las mieles. El color de la miel depende de su contenido de cenizas, temperatura y tiempo de almacenamiento, es uno de los atributos de mayor variabilidad, que tiene gran importancia al momento de su clasificación. (Zandamela, 2008), por lo que es una característica muy importante al momento de definir el mercado al que va dirigido debido a que ciertos compradores tienen preferencias con mieles claras u oscuras; además pueden dar una leve idea de los nutrientes que contiene por ejemplo: en el caso de las mieles oscuras son más ricas en Fosfato de Calcio, Hierro, Complejo B y Vitamina C, mientras que las de color claro son más ricas en vitamina A (Montenegro S. , 2005). El color es una percepción cualitativa para el ojo humano y para brindarle

mayor confiabilidad a los resultados la prueba se basaa en la ley de Lambert-Beer, donde "establece que cuando pasa luz monocromática por un medio homogéneo, la disminución de la intensidad del haz de luz incidente es proporcional al espesor del medio, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el espesor del medio absorbente" (Chile, 2010), es por ésta razón, que para realizar ésta prueba se utiliza un espectrofotómetro UV a 635nm, donde se cuantifica la absorbancia de un líquido haciendo pasar un haz de luz a través de una sustancia blanco como el agua y varias disoluciones de la muestra o a través de un colorímetro que realiza las medidas directamente. (Avallone, Montenegro, & Chifa, s.f).

2.8.1.5. HUMEDAD

Para este parámetro se valora la humedad relativa, por lo tanto, las mieles que se hallan en lugares que son húmedos demuestran que su contenido acuoso es mayor y por lo tanto sea más susceptibles para el crecimiento microbiano (Consumidor, 2015); y esto se debe a las condiciones a los factores externos como las condiciones climáticas; si ésta sobrepasa los porcentajes determinados es posible que sea más propensa a sufrir contaminación, especialmente fúngica, lo que conlleva una alteración en las propiedades organolépticas disminuyendo así su valor nutricional y económico (Zandamela Mungói, 2008).

2.8.1.6. **CENIZAS**

En la miel, las cenizas transportan la corriente eléctrica gracias a los electrolitos como: potasio siendo éste el más abundante seguido de cloro, azufre, sodio, fósforo, magnesio, silicio, hierro y cobre.

Para determinar es necesario someter la muestra a altas temperaturas, alrededor de 550 a 600 °C en la mufla por largo tiempo hasta obtener un peso constante (Abadio Finco, Learte Moura, & Galvao Silva, 2010).

Esta prueba está muy relacionada con la conductividad eléctrica (INEN, 1989).

2.8.1.7. METALES PESADOS

La presencia de metales pesados en productos alimenticios puede afectar a la salud del ser humano considerablemente generando una bioacumulación, por lo que se los debe cuantificar, para ello se tiene que tomar en cuenta que la muestra está compuesta por sustancias orgánicas, que pueden hacer una interferencia al momento de realizar la lectura de metales pesados en el espectrofotómetro de absorción atómica y para ello se debe realizar una digestión, permitiendo destruir toda la materia orgánica y dejar los minerales que se comparara con los estándares para su cuantificación (Norma Chilena, 2007).

Según la Unión Europea la concentración permisible de algunos metales pesados en la miel de abeja son: Arsénico 1 ppm y Cobre 10 ppm (Unión Europea, 2016). Por otro lado según (Comisión del CODEX Alimentarius, 2000) de acuerdo con la legislación polaca, el nivel permitido de metales pesados no puede ser superior a: Pb: 0,3 ppm; Cd: 0,03 ppm; Hg: 0,01 ppm; As: 0,20 ppm; Zn: 20,0 ppm.

2.8.1.8. DENSIDAD

La prueba de densidad en la miel es utilizada principalmente para conocer si el producto se encuentra o no adulterado, es decir, que puede ser aplicado como una prueba para control de calidad en producción, asociados al fenómeno de expansión de líquidos saturados vinculado al aumento de temperatura, por lo tanto de la disminución de la densidad y pH (Zandamela, 2008).

2.8.1.9. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES

Esta prueba nos ayuda a determinar los sólidos solubles totales es decir el contenido de azúcares que contiene la miel y se expresan en porcentaje o grados Brix (°Brix). Estos grados representan el porcentaje de azúcar en la miel. Los sólidos solubles y la humedad están relacionados entre sí por lo tanto el porcentaje de agua será el complementario al de grados Brix (UNC, sf).

2.8.1.10. POLIFENOLES

Los polifenoles asociados con las propiedades físico-químicas, poseen la capacidad de modificar diferentes enzimas y los mecanismos en distintos procesos celulares, de igual manera intervienen en distintas reacciones metabólicas que cumple la célula como oxido-reducción.

Estos compuestos son significativos para la salud porque tienen muchos beneficios por su acción antioxidante, se encuentran en plantas que los sintetizan como metabolitos secundarios, algunos necesarios para las funciones fisiológicas vegetales como por ejemplo el estrés hídrico, estímulos luminosos etc.

Los grupos de polifenoles son:

- Ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico,
- Estilbenos
- Lignanos

- Alcoholes fenólicos
- Flavonoides

Los compuestos fenólicos, son responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal, ejemplo: las antocianinas son pigmentos rojos que se encuentran en ciertas frutas (uvas, ciruelas, fresas); existen polifenoles con sabor amargo como determinadas flavanonas de los cítricos como por ejemplo (naringina de los pomelos, neohesperidina de las naranjas amargas) o la oleuropeína presente en aceitunas; en cuanto con el aroma algunos fenoles sencillos como el eugenol en el clavo de olor; además las proantocianidinas y los taninos confieren la características de astringencia en algunos frutos (Tomás-Barberán, 2003).

Los compuestos fenólicos es un grupo de sustancias no energéticas presentes en algunos alimentos, "en los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares" (Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2012), además son compuestos que captan radicales libres que confiere la actividad antioxidante que permite la prevención de algunas enfermedades.

La determinación de los polifenoles mediante el método de Folin- Ciocalteu; y se los registra como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG/100g miel) (Gutiérrez , y otros, 2008).

2.8.1.11. FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos aromáticos que se encuentra en todos las plantas especialmente en aquellos órganos donde predomina el color rojo, azul y amarillo.

Químicamente está conformado por dos anillos fenilos unidos entre sí por un anillo pirano. Existen 7 grupos de flavonoides como se puede ver en la Tabla N°1.

Tabla N° 1 Grupos de flavonoides en los alimentos

GRUPO DE FLAVONOIDES	ALIMENTOS EN LOS QUE SE ENCUENTRA
1 Ácido elágico	Frambuesas, uvas y verduras
2 Antocianidinas	Color rojo-azulado de alimentos y rojo de cerezas
3 Catequina	Té negro y verde
4 Citroflavonoides (quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno)	Sabor amargo de naranja, toronja, lima, limón, etc. El flavonoide en mayor cantidad quercitina, además en cebolla, brócoli, repollo rojo, uva, manzana y hojas de té.
5Isoflavonoides	Soya, leche, porotos, proteína vegetal y harina
6Kaempferol	Brócolis, puerros, endibias, remolacha roja, rábanos, toronja, uva, coles de Bruselas, manzanas.
7 Proantocianidinas	Semillas de las uvas, extracto de corteza de pino marino y vino tinto.

Elaborado por: las autoras

Los flavonoides tienen actividad antioxidante; un antioxidante es aquella sustancia que impide o retrasa la oxidación química dentro de la célula, esta oxidación química genera radicales libres que afectarán a la fisiología de la célula como alteración en proteínas, grasas y ADN; logra que nuestro cuerpo se deteriore, afectando a la funcionalidad de nuestros órganos y provocando enfermedades como el cáncer, para evitar estos daños irreversibles el organismo genera antioxidantes para enlentecer el proceso alterando la estructura de los radicales libres y por lo tanto el tiempo de vida celular se prolongará,

los principales componentes que tienen actividades antioxidantes son los flavonoides (Escamilla, 2009).

Para el presente análisis se utiliza la catequina como estándar ya que se desea conocer si existen antioxidantes dentro de la miel.

2.8.2. PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Los compuestos bioactivos se encuentran presentes en alimentos de origen animal y vegetal que tienen efectos beneficiosos para la salud ya que influyen en su fisiología celular.

2.8.2.1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Mediante esta técnica se pretende cuantificar las cantidades de radicales libres presentes en un sistema oxidativo controlado, y la acción de la miel frente a los efectos nocivos de los radicales en la salud.

Los alimentos de origen vegetal y los productos apícolas, son particularmente ricos en polifenoles y flavonoides que tiene una alta capacidad antioxidante (Ciappini, 2013); uno de los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante es la técnica de ABTS/TROLOX y sus unidades de medida (µmol trolox/100g miel).

2.8.3. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y ACTIVIDAD

ANTIMICROBIANA

La miel debido a sus características físico-químicas es un producto inocuo, que impide la proliferación de algunos microorganismos patógenos, sin embargo, se puede añadir algunos contaminantes secundarios que depende de algunos factores externos como: manipulación del hombre, aparatos, locales, los recipientes, los animales depredadores etc.

Es importante saber que los contaminantes secundarios puede existir presencia de gérmenes patógenos como por ejemplo *Salmonella*, ya que estos son resistentes y puede sobrevivir en la miel por mucho tiempo; por lo tanto puede accionar problemas en la salud y no obstante si la miel que contiene este patógeno es mezclado con otro alimento y este es consumido por el hombre.

Otro patógeno que se puede encontrar en la miel es la *Escherichia coli* y se debe por la contaminación que ocurrió durante en la manipulación de la extracción de la miel, las causas más comunes son la falta de higiene; sin embargo, se ha comprobado que en este patógeno la supervivencia es escasa.

La flora microbiana de la miel puede deberse a microorganismos propios de la miel y secundarios ocasionales o accidentales. Se pueden encontrar dentro de la miel bacterias del género *Bacillus*, en estado esporulado de manera que, no altera su composición y no son peligrosos para la salud humana, aunque algunas veces también se encuentran patógenos para las abejas, como *Bacillus larvae* y *Bacillus alvei*, responsables de las enfermedades Loque americana y Loque europea respectivamente, que afectan al desarrollo y provocan la muerte en las larvas (OIE, 2008).

En los mohos que se encuentran los géneros *Penicillium* y *Mucor*, también se han reportado casos de contaminación con *Bettsya alvei* o moho del polen, se encuentran en la miel en forma de esporas.

En las levaduras, las pertenecientes al género *Saccharomyces*, responsables de la fermentación de la miel, cuando las condiciones de humedad lo permiten. Dentro de este género las especies más frecuentes son *Saccharomyces bisporus* variedad *mellis*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces bailii* variedad *osmophilus*. Otros agentes considerados como ocasionales o accidentales, son introducidos en las mieles de manera fortuita o por manipulaciones poco higiénicas durante la extracción o procesado de la miel. Si estas manipulaciones se realizan con higiene, no estarán presentes y si aparecen se mantendrán en niveles muy bajos o despreciables (Salamanca, 2001).

2.9. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA MIEL DE ABEJA

La miel al ser visto desde un punto de vista económico es un producto que puede lograr un desarrollo sostenible especialmente si se cuida de los cinco capitales que según la (FAO, 2005) interviene dentro de la apicultura.

2.9.1. CAPITAL NATURAL

Comprende a todo componente biológico que forma parte de la producción de la miel específicamente las abejas, las flores de las cuales se extrae el néctar y el agua. Para ello tenemos que lograr un ambiente adecuado como por ejemplo evitar plantaciones que abusen de insecticidas o pobres en vegetación y para ello se crea la apicultura que es el arte que permite generar técnicas para una adecuada producción de miel.

2.9.2. CAPITAL HUMANO

Según la (FAO, 2005) las mujeres son las que predominan este capital, generando productos derivados de la miel como por ejemplo el vino, la cerveza o bebidas no alcohólicas a base de miel.

2.9.3. CAPITAL FÍSICO

Básicamente consiste en los equipamientos que permite facilitar la recolección de la miel de abeja, sin afectar a las poblaciones de estos antófilos como por ejemplo colmenas adaptadas, además, en este capital incluye la vestimenta apropiada de los apicultores para la recolección de miel de abeja.

2.9.4. CAPITAL SOCIAL

Es un componente que buscan fortalecer a la producción y distribución de la miel logrando conglomeraciones y redes que facilitan la comercialización a una mayor cantidad de clientes que aquellos que lo hacen de manera informal.

2.9.5. CAPITAL ECONÓMICO

Este aspecto es uno de los más importantes en todo negocio a excepción de la apicultura ya que la infraestructura y los componentes principales para desarrollar esta actividad no necesitan de gran inversión.

Tras el estudio de los capitales que componen la apicultura se debe conocer cuáles son los principales países compradores de miel natural, según (PRO ECUADOR, 2013) países como: Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Japón, Francia, Italia, Bélgica, España, Holanda y Suiza son los mayores importadores de miel natural a nivel mundial, entre los años 2009 y 2013 mientras que los mayores proveedores de este producto son a nivel mundial son China, Argentina, Alemania, México, Nueva Zelandia, España, Hungría, Brasil, Canadá, Bélgica entre los años 2009 y 2013.

La apicultura es una actividad que se ha realizado durante muchos años y en diferentes partes del mundo como por ejemplo la producción en México su producción fue de 52,800 toneladas y ocupa el tercer lugar mundial como exportador con cerca de la mitad

de su producción anual, teniendo como destino principal países europeos como Alemania, Inglaterra y un país de América de Norte como Estados Unidos, generando ingresos anuales en promedio de 32.4 millones de dólares (Ulloa, Mondragón Cortez, Rodríguez Rodríguez, Reséndiz Vázquez, & Ulloa, 2010).

METODOLOGÍA

Para cada análisis se utilizaron 5 muestras diferentes de mieles comerciales que se

encuentran en la provincia de Pichincha, y se clasificaron por códigos.

DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS 3.1.

3.1.1. pH

Reactivos: Miel de abeja y agua destilada.

Para la medición del pH se utilizó el procedimiento descrito en Harmonised Methods of

the Internatonal Honey Commission de Bogdanov, (2009), y se utilizó el conductímetro

OAKTON PC700.

3.1.2. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Reactivos: Miel de abeja y agua destilada.

El procedimiento para la medición la conductividad eléctrica descrito en Harmonised

Methods of the International Honey Commission de Bogdanov, (2009), se utilizó el

conductímetro OAKTON PC700. Las unidades que se utilizaron para la conductividad

son μ S/cm.

3.1.3. ACIDEZ TOTAL

Reactivos: Ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, agua destilada y miel de abeja.

Este procedimiento fue basado según el manual de INEN 1634, (1989). La acidez total

se expresó en meg/kg miel. Las ecuaciones para acidez libre, lactonas y acidez total se

calcularon respectivamente:

 $Acidez \ libre = \frac{(V \ (ml \ NaOH \ 0.05 \ N) - V (ml \ de \ NaOH \ del \ blanco) \times 50}{g \ de \ muestra}$

 $Lactonas = \frac{(10 - V(ml \ de \ HCl \ 0.05N) \times 50}{g \ de \ muestra}$

Acidez Total = acidez libre + lactonas

3.1.4. COLOR

Reactivos: Miel de abeja.

El procedimiento para la medición de color, descrito en el trabajo de titulación de Murillo, (2015), además, se utilizó el colorímetro LOVIBOND MD 200 que nos dio un valor directo y se comparó con las tablas que clasifica a las mieles por el color.

3.1.5. HUMEDAD

Reactivos: Miel de abeja.

Se utilizó la metodología según el manual 1632 de INEN, (1989), mediante la fórmula:

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

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

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

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

M = Masa de la capsula vacía (constante)

100 = factor matemático para los cálculos.

3.1.6. CENIZAS

Reactivos: Miel de abeja.

Para determinar el contenido de cenizas totales se realizaron las metodologías propuestas

por el manual 1636 INEN, (1989) y del artículo publicado por Abadio Finco, Learte

Moura, & Galvao Silva, (2010)

El porcentaje de cenizas totales se establecieron mediante la fórmula:

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

P1: Peso de ceniza registrado (gr)

P2: Peso del crisol constante registrado (gr)

M: Peso de la muestra registrado (gr).

3.1.7. METALES PESADOS Y OLIGOELEMENTOS

Reactivos: Ácido nítrico, agua destilada y miel de abeja.

El procedimiento a seguir se realizó en base al manual del equipo SPECTRAA 55.

CURVA ESTÁNDAR PARA CUANTIFICACIÓN 3.1.7.1.

La curva de calibración de metales se realizó en un equipo de absorción atómica con

lámpara y longitud de onda correspondiente para la cuantificación de los metales

pesados (Cromo, Níquel, Plomo, Plata y Cobre) al igual que para oligoelementos (Sodio,

Potasio, Calcio, Manganeso y Magnesio), la preparación de cada una de las curvas

estándares, mediante soluciones con tres concentraciones diferentes.

Se tomaron 2 gramos de la muestra de miel en un balón de 50 ml, a estos gramos se disolvió con agua ultra pura. Posteriormente, se colocó 10 ml de ácido nítrico y se dejó reposar por 30 minutos. Se aforó con agua ultra pura hasta el volumen de balón ya especificado anteriormente; esta dilución se llevó al equipo de absorción atómica y se colocó la lámpara y longitud de onda correspondiente para cada metal, se calibró hasta obtener los valores de absorbancia mostrados en la Tabla N° 2.

Tabla N° 2 Longitud de onda para detección de metales pesados y oligoelementos medidos por EAA en 5 mieles comerciales distribuidas en la provincia de Pichincha.

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
K Ca	769,9 422,7
Ca	422,7

3.1.7.2. **CUANTIFICACIÓN**

DE **METALES**

PESADOS

Y

OLIGOELEMENTOS

Se realizaron 3 lecturas de las disoluciones para cada muestra de miel de abeja, a

continuación se observó si se encontraba dentro de la curva estándar, si estaban dentro

de la misma, era un indicativo que las muestras de mieles tenían ese elemento dentro del

rango de la curva patrón.

3.1.8. DENSIDAD

Reactivos: Miel de abeja y agua destilada.

Se midieron la densidad para cada una de las muestras directamente en el densitómetro

METTLER TOLEDO DM 40.

Y su fórmula de densidad es:

 $\rho = \frac{m}{v}$

ρ: densidad

m: masa

v: volumen

3.1.9. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES

Reactivos: Miel de abeja.

El procedimiento para la medición de los grados Brix descrito en el artículo publicado

por Rodríguez, Arjona, & Galvis, (2006). Se utilizó el refractómetro ATAGO NAR-1T

LIQUID.

3.1.10. POLIFENOLES

Reactivos: Miel de abeja, Folin-Ciocalteu, ácido gálico, carbonato de sodio y agua destilada.

El procedimiento para la medición de fenoles totales descrito en el artículo por Wilczyńska, (2010); el cual se fundamenta en la ley de Lambert-Beer que explica, que la absorción de una solución es directamente proporcional a la concentración, es decir a mayor número de moléculas mayor es la interacción de la luz con ellas, además, depende la distancia que recorre las luz por la solución (Díaz, y otros, s.f).

La medición se realizó con el espectrofotómetro UV SHIMADZU UV MINI-1240 con los estándares descritos en la Tabla N°3.

Tabla N° 3 Estándares para determinación de polifenoles

	ESTÁNDAR	MOLARIDAD
STD1	$500~\mu L$ de SM + $500~\mu L$ H2O	3 mM
STD2	$300~\mu L~de~SM+600~\mu L~H2O$	2 mM
STD3	500 μL de STD1 + 500 μL H2O	1,5 mM
STD4	$500~\mu L$ de STD2 + $500~\mu L$ H2O	1 mM
STD5	500 μL de STD3 + 500 μL H2O	0,75 mM
STD6	$500~\mu L$ de STD4 + $500~\mu L$ H2O	0,5 mM

Elaborado por: las autoras

3.1.11. FLAVONOIDES

Reactivos: Catequina, cloruro de aluminio, nitrito de sodio, hidróxido de sodio, agua destilada y miel de abeja.

Para determinar los flavonoides se utilizó el método descrito en el artículo publicado por

Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, & Legret, (1994). La medición se realizó con el

espectrofotómetro UV SHIMADZU UV MINI-1240, al igual que los polifenoles el

fundamento se basa en la ley Lambert-Beer.

DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES ANTIOXIDANTES 3.2.

3.2.1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Reactivos: ABTS, Peroxosulfato de potasio, Trolox, Agua destilada, Miel de abeja

La determinación de capacidad antioxidante se realizó en base a la metodología descrita

en el artículo publicado por Wilczyńska, (2010) donde se utilizó la solución madre de

trolox al 100% para la elaboración de la curva estándar se diluyó a 75%, 50%, 25%,

12,5% a una longitud de onda de 734 nm. Se interpolaron la curva con los datos de las

muestras. La medición se llevó a cabo con el espectrofotómetro UV SHIMADZU UV

MINI-1240, el fundamento del análisis fue descrito en la anterior metodología.

3.3. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para este procedimiento se midió la actividad antimicrobiana que tiene las distintas

marcas de mieles comerciales, frente a las cepas de microorganismos ATCC, el ensayo

se realizó con cepas ATCC debido a que formaba parte del banco de hongos y bacterias

en el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana y además son certificadas, lo

que garantizó que el trabajo se realice sin ninguna interferencia en el resultado:

Tabla N° 4 Bacterias Gram positivas ATCC con sus respectivas aplicaciones

Bacteria	Código ATCC	Aplicación
Clostridium perfringes	13124	Control de calidad y material de referencia.
Staphylococcus epidermidids	14990	Control de calidad
Bacillus spizizenii	6633	Control de calidad, análisis de productos alimenticios y actividad antibacteriana
Staphylococcus aureus	6538P	Pruebas de sensibilidad
Lactobacillus Casei	393	Control de calidad
Lactobacillus achidophilus	314	Control de calidad

Fuente: (ATCC The Global Bioresource Center, 2016)

Tabla N° 5 Bacterias Gram negativas ATCC con sus respectivas aplicaciones

Bacteria	Código ATCC	Aplicación	
Pseudomona aeruginosa	27853	Control de calidad, análisis de productos alimenticios, pruebas de susceptibilidad y sensibilidad	
Salmonella typhimurium	13311	Pruebas bactericidas	
Klebsiella pneumoniae	10031	Pruebas de inhibición y control de calidad	
Escherichia coli	9637	Pruebas de sensibilidad y control de calidad	

Fuente: (ATCC The Global Bioresource Center, 2016)

Tabla N° 6 Hongos ATCC con sus respectivas aplicaciones

Hongos	Código ATCC	Aplicación
Trichophyton rubrum	28188	Investigaciones Biomédicas
Aspergillus brasiliensis	16404	Control de calidad, análisis de productos alimenticios y farmacéuticos

Fuente: (ATCC The Global Bioresource Center, 2016)

Tabla N° 7 Levaduras ATCC con sus respectivas aplicaciones

Levaduras	Código ATCC	Aplicación
Kloeckera apiculata var apis	32857	Control de calidad
Candida kefyr	204093	Control de calidad
Candida tropicalis	13803	Ensayos biomédicos
Candida albicans	10231	Control de calidad, análisis farmacéuticos y alimenticios

Fuente: (ATCC The Global Bioresource Center, 2016)

Se reactivó y se creó un banco para todas las cepas, posteriormente, los tubos fueron resembrados con medios de cultivo específicos para cada microorganismo (Ver Tablas N° 8, 9, 10, 11)

Tabla N° 8 Factores que favorecen el crecimiento de Gram positivas

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN
Clostridium perfringes	TSA	24°C, 24 horas
Staphylococcus epidermidids	TSA	24°C, 24 horas
Bacillus spizizenii	AN	24°C, 24 horas
Staphylococcus aureus	TSA	24°C, 24 horas
Lactobacillus casei	MRS	24°C, 24 horas
Lactobacillus acidophilus	MRS	24°C, 24 horas

Tabla N^{\circ} 9 Factores que favorecen el crecimiento Gram negativas

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN
Pseudomona aeruginosa	TSA	24°C, 24 horas
Salmonella typhimurium	TSA	24°C, 24 horas
Klebsiella pneumoniae	TSA	24°C, 24 horas
Eschearichia coli	TSA	24°C, 24 horas

Elaborado por: las autoras

Tabla N° 10 Factores que favorecen el crecimiento hongos

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN
Trichophyton rubrum	PDA	24°C, 7 días
Aspergillus brasiliensis	PDA	24°C, 7 días
Microsporum canis	YPD	24°C, 7 días

Tabla N° 11 Factores que favorecen el crecimiento levaduras

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN
Kloeckera apiculata var apis	TSA	24°C, 24 horas
Candida kefyr	PDA	24°C, 7 días
Candida tropicalis	SDA	24°C, 7 días
Candida albicans	PDA	24°C, 7 días

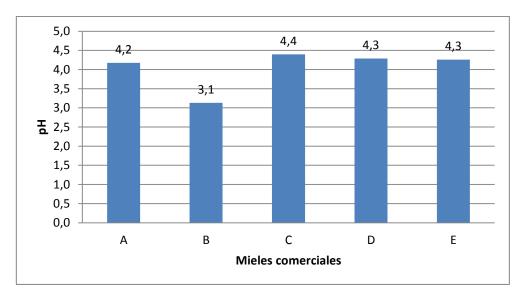
Se realizaron 4 perforaciones en el medio de cultivo específico para cada cepa, adicionando las diferentes diluciones de miel y agua destilada en cada una de las perforaciones, con su respectiva codificación: C0: Miel Pura, C1: Miel al 50%, C2: Miel al 75%, C3: Miel al 25%; donde se registraron los valores de la actividad antimicrobiana mediante halos de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. **DETERMINACIÓN DE PH**

En la figura N°1 se presenta que el pH de cada miel oscila entre 3,1 y 4,4, según (Zandamela, 2008) el pH normalmente fluctúa entre 3,4 y 6,1, con esta referencia, en las mieles estudiadas, los valores de pH se ajustan en el rango a excepción de la miel B que es más ácida con un pH de 3,1 esto puede deberse a la presencia de ácidos orgánicos que forman parte de la capacidad antioxidante de la miel (Gutiérrez M. , 2008) o ácidos propios de la miel como el ácido glucónico por lo tanto es posible que la miel posea un pH más ácido como método de preservación por la zona geográfica en la que se encuentra.

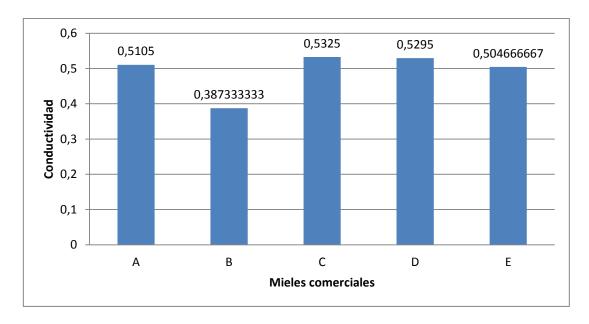
Figura N^{\circ} 1 Determinación de pH de cinco muestras de mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



4.2. DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Respecto a la conductividad eléctrica, en la figura N°2 señala que la conductividad de las mieles se encuentran entre los valores 0,387 y 0,532 ms/cm lo que indica que el contenido de sales minerales, ácidos orgánicos y proteínas en la miel se encuentran dentro del límite que según (Zandamela, 2008) no debe superar los 800 µS/cm o 0,800 ms/cm, en la mayoría de estudios esta prueba se utiliza para determinar su origen botánico (Córdova, 2013) en base a esto se puede decir que las mieles A, C, D y E tiene algún tipo de similitud en sus valores debido a que son mieles poliflorales por otro lado en la miel B su conductividad es más baja lo que nos da a entender que su origen botánico es diferente.

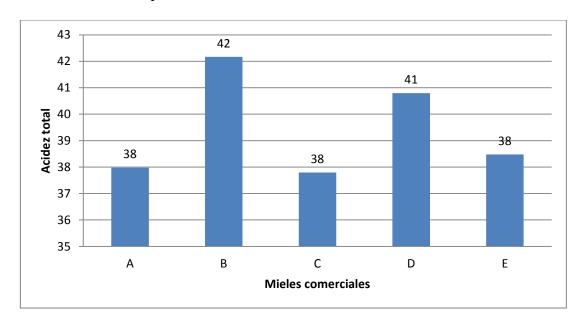
Figura N° 2 Determinación de la conductividad eléctrica que presentan las cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



4.3. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL

Obsérvese que en la Figura N°3 la acidez total se encuentra entre 38 y 42 meq/Kg, siendo la miel B la que presenta mayor acidez total, esto puede indicar una mayor cantidad ácidos orgánicos, a pesar de éstos resultados no sobrepasan el límite establecido, según (INEN 1634, 1989) la miel no debe superar los 50 miliequivalentes por 1000 gramos para ésta prueba, en el caso de que éstos valores superaran al establecido puede influir sobre sus características organolépticas como el sabor y el aroma (Avallone C. , s.f.) y como consecuencia su valor comercial. Se debe considerar estas características dependiendo de la utilidad que se le quiere dar a la miel, por ejemplo, como alimento las características sensoriales son sumamente importantes, mientras que, como producto farmacéutico o veterinario la importancia radica en la acidez propiamente dicha.

Figura N° **3** Acidez total expresado en mili equivalentes de cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha.



4.4. DETERMINACIÓN DE COLOR

Los resultados obtenidos en la Tabla N°12 se compararon con la Tabla N°13 donde se clasifica a las mieles por colores, según su absorbancia y el valor expresados en mm Pfund y se demostró que la mayoría de las muestras a excepción de la miel B, presentan un color ámbar claro que es un plus en el mercado ya que éstas mieles suelen ser más atractivas para el cliente y generalmente las mieles claras son ricas en vitamina A (Portal apícola, 2014). La determinación del color se utiliza como una herramienta para control de calidad ya que el color de la miel depende de factores como: los componentes, temperatura, lugar de almacenamiento e incluso contaminación, por ejemplo, contaminación por levaduras, además es una prueba rápida para determinar su contenido fenólico ya que las mieles oscuras poseen mayor cantidad de fenoles y como consecuencia mayor capacidad antioxidante.

Tabla N° 12 Prueba cualitativa para la determinación de color de cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha

MUESTRA	COLOR	mm Pfund	ABSORBANCIA	IMAGEN
A	Ámbar claro	69,5	0,238-0,333	T1
В	Blanco	30,4	0,148-0,195	12
С	Ámbar claro	52,3	0,238-0,333	T3

D	Ambar claro	59,7	0,238-0,333	T4
E	Ambar claro	58,4	0,238-0,333	

Tabla N^{\circ} 13 Clasificación de las mieles por su color en base a la absorbancia y valores de mm Pfund

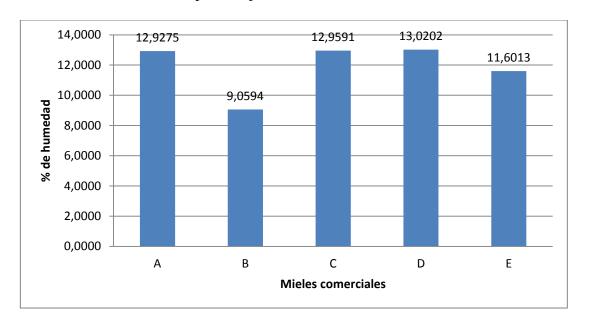
MIEL	mm Pfund	ABSORBACIA	
Blanco Agua	0 - 8	0,104 - 0,125	
Extra Blanco	8 - 16,5	0,125 - 0,148	
Blanco	16,5 - 34	0,148 - 0,195	
Ámbar Extra Claro	34 - 50	0,195 - 0,238	
Ámbar Claro	50 - 85	0,283 - 0,333	
Ámbar	85 - 114	0,333 - 0,411	
Oscuro	Más de 114	0,411 o más	

Fuente: (Montenegro S., 2005)

4.5. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

El contenido de agua no debe superar el 20% (NTE INEN 1 572), y en la figura N ° 4 se puede constatar que todas las mieles se encuentran dentro del parámetro lo que quiere decir que la extracción de la miel fue correcta y no son propensas a sufrir contaminación ya que el porcentaje de humedad es directamente proporcional a la probabilidad de contaminación (UNLAPM, 2009).

Figura N° **4** Determinación del porcentaje de Humedad de cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha, en la figura se indica los códigos de las muestras de mieles versus el porcentaje obtenido



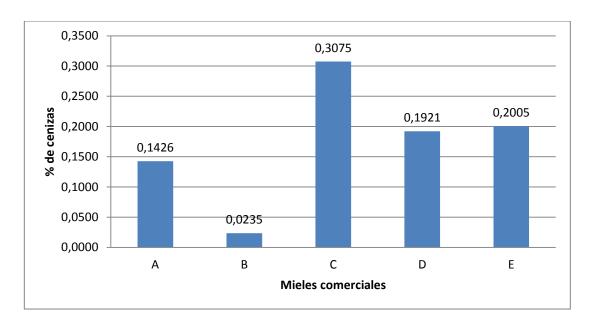
Elaborado por: las autoras

4.6. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE CENIZAS

La determinación de cenizas se encuentra estrechamente relacionada con la conductividad eléctrica, la prueba de cenizas determina la cantidad de sólidos presentes en la miel y no deben tener más de 0,6 g/100 g para miel de abeja pura y para miel

mielada, o mezclas de miel de mielada con miel de flores o miel de castaño deben tener no más de 1,2 g/100 (Comisión del CODEX Almentarius, 2000) ; obsérvese que los valores que se obtuvieron de las mieles comerciales de la figura N° 5 se encuentran entre 0,0235 y 0,3075%, es decir, se encuentra por debajo del valor establecido en el CODEX, por lo tanto, su cantidad de solutos es adecuada, finalmente, al comparar los resultados de la determinación de cenizas con la conductividad eléctrica se comprueba que existe una relación indirecta entre las pruebas.

Figura N° 5 Porcentaje de cenizas en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Elaborado por: las autoras

4.7. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS Y OLIGOELEMENTOS

Se pudo identificar el predominio de algunos metales pesados en la miel de abeja como el plomo, Figura N°6A, puede ser considerada como una llamada de alerta, al considerar

que este metal es altamente toxico y se encuentra presente en los alimentos que se consumen con frecuencia. Se debe tomar en cuenta que el plomo es un elemento con toxicocinética que afecta al sistema nervioso, inmunológico, reproductivo y cardiovascular, aunque, el nivel de este metal reportado en la miel no es significativamente alto como para causar un efecto adverso inmediato a su consumo, su consumo continuo podría provocar algún efecto en la salud. Se establece que las concentraciones mayores de plomo en la sangre son de 5 μg/dL y 10 μg/dL en niños y adultos respectivamente, pero en el proceso de la absorción del metal, éste es acumulado en la sangre entre 30 y 35 días posteriormente se dispersa en el hígado, riñón, medula ósea sistema nervioso (Azcona-Cru, Ramírez y Ayala, & Vicente-Flores, 2015).

Según la Administración de seguridad y salud ocupacionales (OSHA) una concentración mayor de 40 µg/dL en una persona adulta sugiere un retiro de su lugar de trabajo por un tiempo considerable.

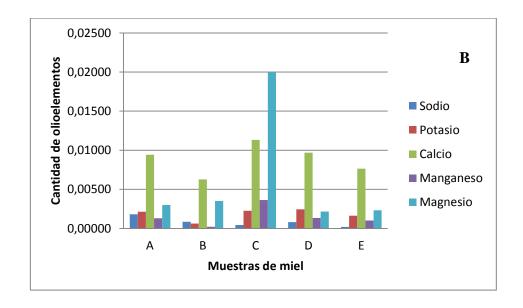
Por otro lado la presencia de plomo en la miel de abeja se asocia a la contaminación atmosférica que se encuentra en el medio ambiente, por fuentes naturales, fuentes agrícolas, la emisión, efluentes, residuos de industrias o agrícolas. (Ministerio de salud de Chile, 2014), por lo tanto, la movilización de este elemento a las plantas, da como consecuencia la acumulación en las partes vegetativas, donde las abejas extraen el néctar o el polen para la elaboración de la miel; además, la presencia de metales pesados puede ser un indicativo de que el néctar que es usado en la recolección o el almacenamiento no posee las características adecuadas, incluso puede deberse a que algunos apicultores usan materiales de lata o materiales que no son óptimos para la manipulación del producto (PEREZ AROUILLUE & JIMENO BENITO, s/f).

Entre otros elementos se avaluó: sodio, calcio, potasio, calcio, manganeso y magnesio que es un elemento presente en pequeñas cantidades en el cuerpo humano permitiendo las funciones fisiológicas, todos éstos elementos son macronutrientes y micronutrientes que forman parte del suelo, que mediante procesos de absorción las especies vegetales lo incorporan a sus estructuras, para suplir la demanda de estos compuestos en sus funciones fisiológicas, al igual que, los metales pesados pasa por un proceso de movilización o se asocian a estructuras vegetativas que intervienen en el origen del néctar.

Por otro lado la concentración de oligoelementos como el magnesio sobrepasa el valor 0 ug/100 g miel (Montenegro & Fredes, 2016) y puede ser considerada como una miel de abeja de calidad con un aporte nutricional adecuado para el consumo humano; por otro lado si supera 300mg de magnesio en la ingesta diaria puede desencadenar afecciones a la salud como insuficiencia renal (Azcona-Cru, Ramírez y Ayala, & Vicente-Flores, 2015). Al analizar las concentraciones de oligoelementos comparada con la composición establecida, deben expresarse como mg/100 g de muestra, si se encuentra por debajo del rango establecido se presume una posible adulteración del producto final que modificaría estas concentraciones, desde el punto de vista nutricional el aporte energético, calórico de las cantidades de oligoelementos presentes, no es significativo por lo tanto su ingesta dentro de una dieta diaria no representa un aporte nutricional óptimo como para suplir a algún tipo de alimento con usos similares como los edulcorantes para personas diabéticas.

Figura N° 6 Concentraciones cuantificadas (g/100ml); A: (A-Concentración Cuantificada de Metales Pesados (gr/100ml de miel) B.-Concentración Cuantificada de Oligoelementos (gr/100ml de miel)

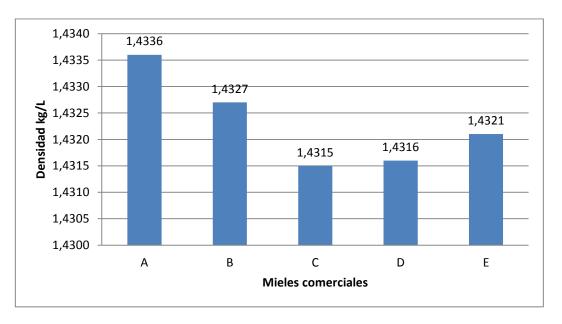




4.8. **DENSIDAD**

Según (Suescún, 2008) la densidad de la miel debe encontrarse entre 1,39 y 1,44 kg/L, en la Figura N°7 demuestra que las mieles de abeja estudiadas presentan una densidad adecuada, ésta prueba puede ser utilizada como control de calidad, debido a que si el valor de la densidad es mayor a la establecida, quiere decir que su almacenamiento ha sido prolongado o ha sido sometida a altas temperaturas lo que le ha llevado a perder agua, por otro lado, si la miel ha sido diluida su valor será menor y como consecuencia pierde todas sus propiedades (Valega, sf.)

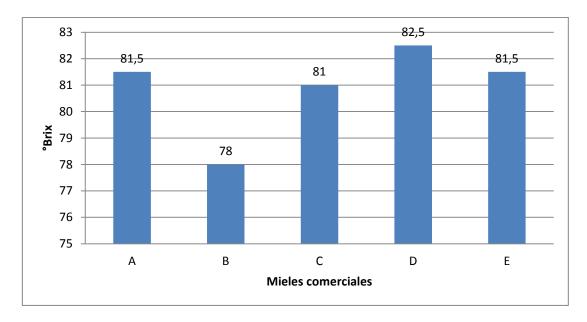
Figura N° 7 Determinación de la densidad teórica en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



4.9. CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES

Si los grados Brix llegan a disminuir, quiere decir que la miel se encuentra muy disuelta, lo que aumenta la humedad y por lo tanto puede llevar a favorecer la contaminación del producto, por el contrario, si este valor aumenta quiere decir que se le agregó otra sustancia además de la miel, en ambos casos la miel sería adulterada, según la Figura N°8 las muestras se encuentran entre 75 y 92% que son valores correspondientes al porcentaje de azúcares de la miel hidrolizadas (Quezada, 2007). La miel que posea mayor contenido de °Brix (D) será más propensa a cristalización que aquella que presente el valor más bajo (B), sin embargo, la cristalización no es la evidencia de su calidad tan solo del contenido de azúcares que posea (Insuasty, 2016).

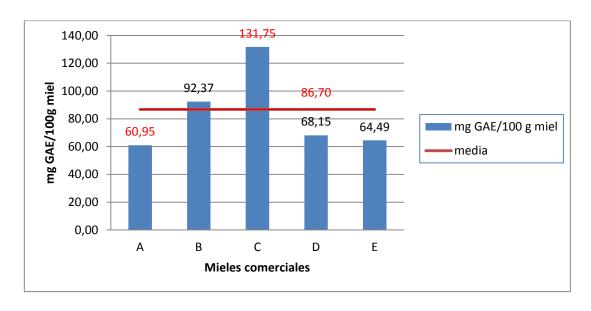
Figura N° 8 Prueba cuantitativa para la determinación de grados Brix en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



4.10. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES

Según la figura N° 9 el contenido de polifenoles para las mieles (A, D, y E) está por debajo de la media mientras que las mieles (B y C) lo sobrepasan, especialmente la miel C ya que la diferencia es considerable a relación de las demás muestras, por lo que se la consideraría como una mejor alternativa en la dieta debido a su mayor contenido de antioxidantes, la cantidad de polifenoles presentes en la miel se debe principalmente a su origen botánico a pesar de que todas son poliflorales depende mucho de las flores de las cuales se obtuvo el néctar en el caso de la miel C, es a base de eucalipto, alfalfa y trébol.

Figura N° 9 Contenido de polifenoles en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



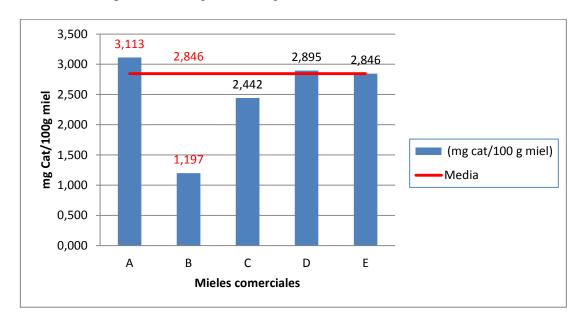
Elaborado por: las autoras

4.11. CONTENIDO DE FLAVONOIDES

Los flavonoides son una subdivisión de los polifenoles (Fernandez, 2015) es por esta razón que para éste análisis se pretendió contrastar ambas barras como se puede observar

en la figura N° 9 y figura N° 10 encontramos que el mayor contenido de flavonoides es la miel A qué se diferencia de los polifenoles en la que destacaba la miel C esto quiere decir que la miel C puede poseer otros tipos de subdivisiones de polifenoles como taninos o lignina y no necesariamente flavonoides, por otro lado la miel A, a pesar de tener menor cantidad de polifenoles la cantidad de flavonoides es ligeramente más alta que en las otras mieles.

Figura N° 10 Contenido de flavonoides en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha, expresado en mg CAT/100g miel



Elaborado por: las autoras

4.12. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En cuanto a la capacidad antioxidante de estas cinco mieles se destaca la miel A seguida de la C lo que nos da a entender que la capacidad antioxidante se encuentra estrechamente relacionada con la cantidad de polifenoles y flavonoides ya que la miel A posee mayor cantidad de flavonoides y en el caso de la miel C contiene mayor cantidad

de polifenoles, además podemos deducir que el antioxidante con mayor eficiencia en éstas mieles son los flavonoides.

Figura N° **11** Determinación de la capacidad antioxidante de cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha, expresado en Promedio Equivalentes μmol Trolox/100g muestra

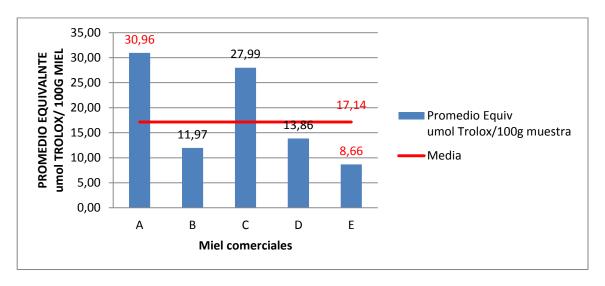


Tabla N° 14 Desviación estándar de flavonoides, polifenoles y capacidad antioxidante de cinco mieles comerciales de la provincia de Pichincha

Muestras	Flavonoides	desviación estándar	polifenoles	desviación estándar	capacidad antioxidante	desviación estándar
	3,33393166		60,95		181,201	
A	2,91928018	0,20861616	60,95	0	201,205	14,1447092
	3,08647836		60,95			
	1,1101959		92,37		68,785	
В	0,97978132	0,27147959	92,37	0	79,073	7,27474204
	1,50143964		92,37			
	2,52469248		131,75		165,237	
С	2,43774943	0,08034796	131,75	0	180,532	10,8155274
	2,36418223		131,75			
	2,87580866		13		81,264	
D	2,93265604	0,03282085	13	0	89,934	6,13045995
	2,87580866		13			
	3,11657403		64,49		57,103	
Е	2,62166743	0,25075268	64,49	0	49,918	5,080957
	2,79889749		64,49			

4.13. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS

Se encontró que en algunas bacterias ATCC Gram positivas y Gram negativas presentan halos de inhibición, en otros estudios se han realizados investigaciones de este tipo por la importancia que tiene la miel de abeja en los tratamientos alternativos como antiinflamatorios y cicatrizantes, reconocidos desde tiempos antiguos, debido a las propiedades destacadas de la miel de abeja como el pH en un promedio de 3,9 y pH mínimo para el crecimiento de algunos microorganismos patógenos como: Escherichia coli es de 4,3 y Pseudomona aeruginosa es de 4,4 (Rodriguez Romero, 2012); por lo tanto el pH de la miel fue un indicativo de la presencia de halos de inhibición; alta osmolaridad es decir el alto contenido de azúcar provoca la salida de líquidos en los tejidos y así creando un ambiente húmedo que impide el crecimiento de microorganismos patógenos y actividad de agua baja han permitido la actividad antimicrobiana, pero que permiten el crecimiento de levaduras (Zamora & Arias, 2011). Con los resultados obtenidos de diferentes microorganismos indica que las mieles tienen un efecto inhibitorio sobre algunos microorganismos evaluados tanto en su forma concentrada (C0) que era la concentración pura 100%, como la concentración más diluida en 25% (C1). Como ya se mencionó, las propiedades físicos-químicas juegan un papel importante para la actividad antimicrobiana, existen otros factores que ayudan a tener este efecto y es la actividad de la lisozima, la presencia de ácidos aromáticos y volátiles, así como a la producción de peróxido de hidrógeno asociada con la enzima glucosa oxidasa (Zamora & Arias, 2011), por la presencia de este compuesto peróxido de hidrógeno y algunos minerales puede provocar la generación de radicales hidroxilo como parte del sistema antibacteriano, debido que la concentración de este compuesto es mil veces menor que la soluciones usadas en los antisépticos (Rodriguez Romero, 2012).

Por otro lado las condiciones de almacenamiento influyen mucho para la disminución de la producción del peróxido de hidrogeno y por ende la responsabilidad de la actividad antimicrobiana; además, existen otros compuestos como: ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos no aromáticos, compuestos derivados de la planta y catalasa derivada del polen, que ayudan a la actividad antimicrobiana debido a que la glucosa oxidasa es inactivada en mieles maduras y el contenido de peróxido de hidrógeno es escaso para inhibir el crecimiento bacteriano (Rodriguez Romero, 2012).

La miel en algunas cepas como Staphylococcus epidermidis, Bacillus spizizzeni, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa, Salmonella tiphymurium, Klebsiella neumoniae, Escherichia coli, Kloeckera apiculata var apis ha generado una actividad antimicrobiana, por otro lado cepas como Lactobacillus casei y Lactobacillus acidophillus son bacterias resistentes a amplios rangos de pH y temperatura, hongos como Tichophyton rubrum y Aspergillus brasiliensis y levaduras como Candida kefyr, Candida tropicalis y Candida albicans su crecimiento no se ve afectado en altas concentraciones de miel (Rev. Iberoam. Micol, 2002).

Tabla N° 15 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de microorganismos ATCC Bacterias Gram Positivas

Código de miel	S. epidermidis	B. spizzizeni	S. aureus	L. casei	L. acidophilus
A	+	+	+	-	-
В	+	+	+	-	-
С	+	+	+	-	-
D	+	+	+	-	-
E	+	+	+	-	-

Nota: (+) Presencia, (-) Ausencia

Tabla N° 16 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de microorganismos ATCC Bacterias Gram Negativas

Código de miel	P. aeruginosa	S. typhymurium	K. pneumoniae	E. coli
A	-	-	+	+
В	-	-	+	+
C	-	+	+	+
D	+	+	-	+
E	-	-	+	+

Nota: (+) Presencia, (-) Ausencia

Elaborado por: las autoras

Tabla N° 17 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de microorganismos ATCC de Hongos

Código de miel	T. rubrum	A. brasilens
A	-	-
В	-	-
C	-	-
D	-	-
E	-	-

Nota: (+) Presencia, (-) Ausencia

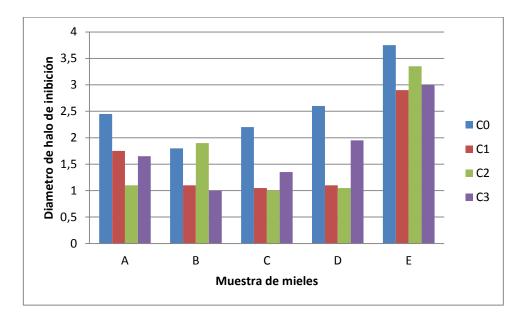
Elaborado por: las autoras

Tabla N^{\circ} 18 Cuadro cualitativo de la presencia y ausencia de halos de inhibición de microorganismos ATCC de Levaduras

Código de miel	K. apiculata	C. kefir	C. tropicalis	C. albicans
A	+	-	-	-
В	+	-	-	-
C	+	-	-	-
D	+	-	-	-
E	+	-	-	-

Nota: (+) Presencia, (-) Ausencia

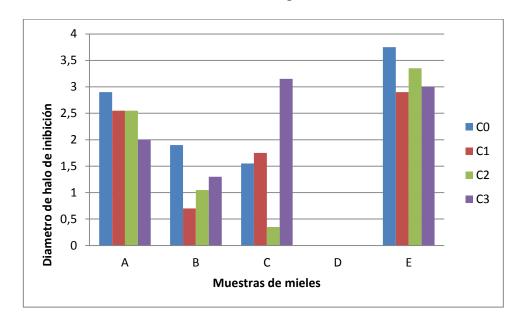
Figura N° **12** Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva *Staphylcoccus epidermidis* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Staphylcoccus epidermidis

Staphylococcus epidermidis demostró ser más susceptible a la miel E, en su concentración pura C0 llegó a su máximo poder inhibitorio, las demás disoluciones de ésta miel presentan halos más pequeño que C0 pero a su vez son significativos con respecto a las demás mieles.

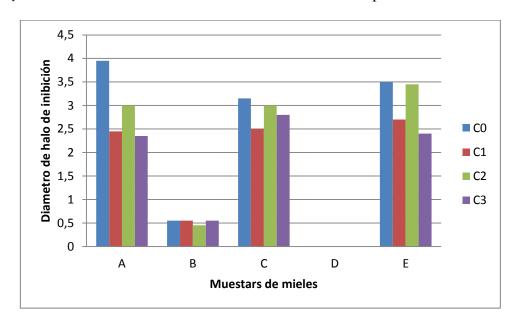
Figura N° **13** Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva *Bacillus spizizeni* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Bacillus spizizeni

Bacillus spizizeni demostró ser más susceptible a la miel E, en su concentración pura C0 llegó a su máximo poder inhibitorio, por otro lado la bacteria mostró resistencia a la miel D ya que ésta no presenta halos.

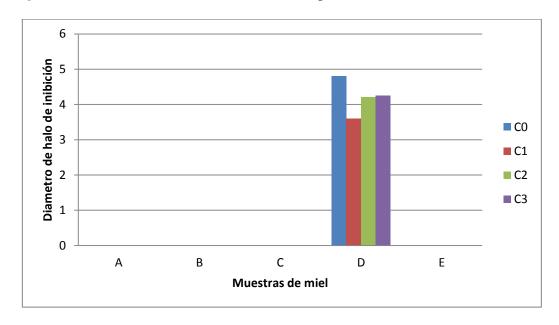
Figura N° **14** Presencia de halos de inhibición de la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus presenta susceptibilidad a las mieles A, C, E ya que sus halos son superiores a 2 cm y ésta bacteria es muy frecuente en heridas de pacientes y a su vez presenta resistencia contra antimicrobianos como todos del género *Staphylococcus*.

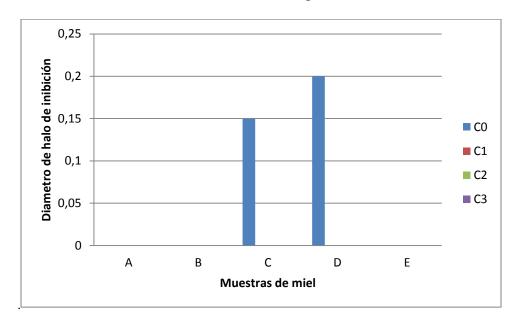
Figura N° 15 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa *Pseudomona aeruginosa* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Pseudomona aeruginosa

A diferencia de las bacterias Gram positivas donde presentaba resistencia a la mie D, la bacteria *Pseudomona aeruginosa* muestra susceptibilidad con todas las concentraciones a diferencia de las demás muestras de mieles.

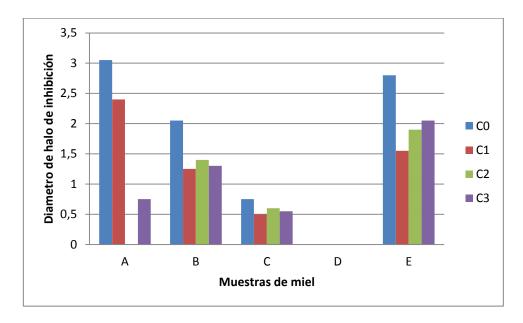
Figura N° 16 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa *Salmonella typhimurium* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Salmonella typhimurium

Salmonella typhimurium muestra susceptibilidad únicamente a la miel C y D en concentración pura.

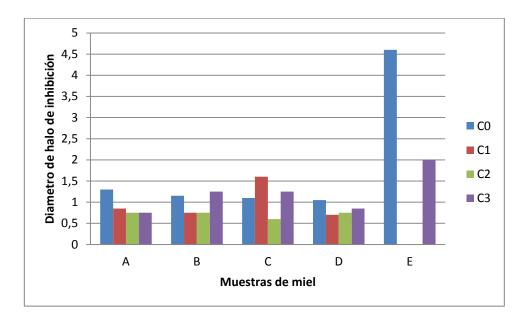
Figura N° 17 Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa *Klebsiella* pneumoniae en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae es susceptible a las muestras A, B, C, E siendo la miel A la que mejores resultados presentó en concentración pura, esta bacteria se mostró resistente a la miel D.

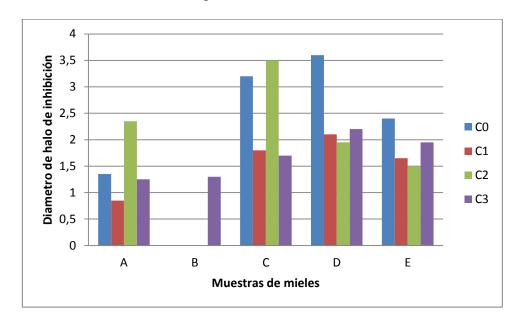
Figura N° **18** Presencia de halos de inhibición de bacteria Gram negativa *Escherichia coli* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Escherichia coli

La bacteria *Escherichia coli* es susceptible a cualquier miel, depende de la concentración a la que la someta predominando así la miel E en su concentración pura ya que su halo de inhibición superó los 4 cm.

Figura N° 19 Presencia de halos de inhibición de la levadura *Kloeckera apiculata* en cinco mieles comercializadas en la provincia de Pichincha



Kloeckera apiculata

Kloeckera apiculata presenta susceptibilidad en todas las mieles, predominando la concentración pura de la miel D.

CONCLUSIONES

- Dentro de las pruebas físico-químicas como: pH, conductividad eléctrica, acidez total, porcentaje de humedad, porcentaje de cenizas, densidad y cuantificación de azúcares las muestras de mieles analizadas se encuentran dentro de los rangos, lo que nos da a entender que se trata de mieles puras, es decir, no sufrieron ningún tipo de alteración en el producto, por otro lado en la prueba de metales pesados se demostró un alto contenido de plomo a diferencia de los demás metales analizados en las 5 mieles, esto no representa un peligro para la salud, ya que no sobrepasa los niveles máximos establecidos en las normas de metales pesados, pero podría demostrarse que los suelos de donde se obtuvieron los néctares las diferentes mieles, tienen concentraciones considerables de este metal y como consecuencia ésta prueba puede ser utilizada como un bioindicador de contaminación ambiental; en determinación de oligoelementos, el calcio y el sodio son los metales que más se destacan, encontrándose el calcio en todas las mieles y el sodio en la miel C que forman parte del contenido nutricional de las mieles de abeja analizadas.
- El contenido de polifenoles presente en la miel C es el más alto mientras que el más bajo corresponde a la miel A; en la determinación de flavonoides se pudo demostrar alto contenido de flavonoides en la miel A y en la miel B el contenido más bajo, finalmente, en la determinación de capacidad antioxidante el valor más alto corresponde a la miel A seguido de la miel C y es probable que los polifenoles y los flavonoides sean los que le brindan su capacidad antioxidante.
- En cuanto a la actividad antimicrobiana de las mieles, se puede concluir que la miel de abeja presenta inhibición de crecimiento más en bacterias Gram positivas como:

Staphylococcus epidermidis, Bacillus spizzizeni y Staphylococus aureus y tiene poca acción inhibitoria sobre bacterias Gram negativas excepto Escherichia coli, que presentó gran susceptibilidad, lo que confirma su uso en la medicina ya que en base a éste resultado se puede decir que la miel puede combatir, bacterias oportunistas en pacientes inmunosuprimidos tras alguna herida e incluso contrarrestar algún problema gastrointestinal provocado por una infección con Escherichia coli. Otro punto muy interesante es la acción de la miel sobre los hongos y levaduras favoreciendo su crecimiento como fuente de carbono por lo que es necesario tener cuidado con la contaminación del producto por estos microorganismos.

REFERENCIAS

- Andrea Acquarone, C. (Abril de 2004). Parámetros fisicoquímicos de mieles, relación entre los mismos y su aplicación potencial para la determinación del origen botánico y/o geográfico de mieles argentinas. Obtenido de http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/19_acquarone.PDF
- Azcona-Cru, M. I., Ramírez y Ayala, R., & Vicente-Flores, G. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Efectos tóxicos del plomo*, 73-77.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Peter, G. (2008). Honey for Nutrition and Health. *American Journal of the College of Nutrition*.
- Díaz, N. A., Bárcena Ruiz, J. A., Fernández Reyes, E., Galván Cejudo, A., Jorrín Novo, J., Peinado Peinado, J., . . . Túnez Fiñana, I. (s.f). *Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Obtenido de http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolmol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf
- Montenegro, G., & Fredes, C. (7 de Agosto de 2016). *Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/28110485.pdf
- Tomás-Barberán, F. A. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ALIMENTACION, NUTRICION Y SALUD*, 41-53.
- "EL DIARIO". (16 de Octubre de 2015). Apicultura: Buscan aumentar la producción de miel. "El Diario".
- Abadio Finco, F. D., Learte Moura, L., & Galvao Silva, I. (2010). Propriedades físicas e químicas do mel de Apis mellifera L. *Scielo*, 706-712.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., & Battino , M. (2013). *pubmed*. Obtenido de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298140
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 15-23.
- Alves Moreira, R. F., & Bastos De María, C. A. (2001). GLICÍDIOS NO MEL. *Scielo*, 516-525.

- Andrade Aguirre, E. A. (Marzo de 2009). *Desarrollo de Buenas Practicas de Manufactura paa la Producción de miel de abeja en dos planteles apícolas*. Obtenido de http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1681/1/CD-2229.pdf
- Arvouet-Grand , A., Vennat , B., Pourrat , A., & Legret , P. (Noviembre de 1994). *PubMed*. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7884635
- ATCC The Global Bioresource Center. (2016). *THE ESSENTIAL OF LIFE SCIENCE RESEARCH*. Obtenido de GLOBALLY DELIVERED: https://www.atcc.org/
- Avallone, C. M., Montenegro, S., & Chifa, C. (s.f). *Control de Calidad de las Mieles de la Provincia del Chaco Argentina y Mapa Apícola*. Obtenido de http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/exactas/e-023.pdf
- Avallone, C. (s.f.). *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2004*. Obtenido de Alteraciones fisicoquímicas de los principales parámetros de la miel: http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/7-Tecnologia/T-048.pdf
- Cerón, T. G. (26 de Septiembre de 2010). *Pulsos eléctricos: Fundamentos y aplicaciones en alimentos*. Obtenido de Temas Selectos en Ingeniería en Alimentos: http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4(1)-Ceron-Carrillo-et-al-2010.pdf
- Chile, U. d. (2010). Fudamentos de espectrofotometría. Obtenido de Ley de Lambert-Beer:

 https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:N5zEH5UYCpUJ:https://www.u-cursos.cl/odontologia/2010/2/OD0903/1/material_docente/bajar%3Fid_material%3D566977+&cd=3&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec
- Ciappini, M. (2013). *Revista Ciencia Tecnología*. Obtenido de Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa: https://www.researchgate.net/publication/259263686_Actividad_antioxidante_y_ contenido_de_compuestos_fenolicos_y_flavonoides_en_mieles_de_treboles_euc alipto_y_alfalfa
- Comisión del CODEX Alimentarius. (11 de Febrero de 2000). *Proyecto de Norma Revisado de CODEX para la miel*. Obtenido de Metales pesados: ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCS/ccs7/S00_03s.pdf
- Comisión del CODEX Almentarius. (11 de Febrero de 2000). *Proyecto de Norma Revisado por el Codex para la miel*. Obtenido de Acidez: ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCS/ccs7/S00_03s.pdf

- Comunicacion social RT. (4 de Noviembre de 2013). *Está próxima la 1era. Feria de Apicultura de Pichincha, 'la feria más dulce del año'*. Obtenido de http://www.pichinchaldia.gob.ec/actualidad/item/1783-esta-proxima-la-1era-feria-de-apicultura-de-pichincha-la-feria-mas-dulce-del-ano.html
- Consumidor, E. (2015). Miel de Abeja. El Consumidor, 38.
- Córdova, C. (Agosto de 2013). *Universidad y Ciencia*. Obtenido de Caracterización botánica de miel de abeja (Apis mellifera L.) de cuatro regiones del estado de Tabasco, México, mediante técnicas melisopalinológicas: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792013000200006
- Escamilla, C. (Marzo-Abril de 2009). *Medigraphic Artemisa*. Obtenido de Flavonoides y sus acciones antioxidantes: http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf
- FAO. (2005). La apicultura ayuda a crear sistemas de vida sostenibles. *La apicultura y los medo de vida sotenibles*, 26.
- Fernandez, K. (2015). *YAYABOCIENCIA 2015*. Obtenido de Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles poliflorales de abejas melíferas y meliponas : http://biblioteca.uniss.edu.cu/sites/default/files/CD/Yayabociencia%202015/docu mentos/6Prod Sostenible/3Ken%20Jact%20Fern%C3%A1ndez%20Le%C3%B3n.pdf
- Fernández, P. (2011). *Dones del cielo. Abeja y miel en el mediterráneo antiguo*. Madrid: UNED. Obtenido de Apicultura: http://www.infoagro.com/agricultura_ecologica/apicultura.htm
- García, F. H. (2004). Las abejas y la miel. Palencia: Caja España.
- Gutiérrez, M. G., Enríquez, E., Lusco, L., Rodríguez-Malaver, A., Persano Oddo, L., & Vit, P. (2008). Caracterización de mieles de Melipona beecheii y Melipona solani de Guatemala. *Revista Farmacia*, 2-6.
- Gutiérrez, M. (1 de Enero de 2008). *Fuerza Farmácéutica*. Obtenido de Miel de abejas: una fuente de antioxidantes: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16255/1/ff2008_gutierrez.pdf
- Hopp, V. (2005). Fundamentos de Tecnología Química. Barcelona: Reverté.
- IHC. (2009). *Harmonised Methods ofthe International Honey Commission*. Obtenido de pH: http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf

- INEN 1634. (23 de Junio de 1989). *Miel de Abejas: Determinación de acidez total*. Obtenido de Cálculos: https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1634.1989.pdf
- INEN. (23 de Junio de 1989). *Miel de Abejas: Determinación de cenizas* . Obtenido de Determinación de cenizas: https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1636.1989.pdf
- INEN. (1989). *Public Resource*. Obtenido de https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1636.1989.pdf
- Insuasty, E. (Junio de 2016). *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*. Obtenido de Identificación de flora y análisis nutricional de miel de abeja para la producción agrícola: http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v14n1/v14n1a05.pdf
- INTI. (2011). ¿por qué consumir miel? Obtenido de http://www.inti.gob.ar/entrerios/pdf/Porque_consumir_miel.pdf
- JICA. (Diciembre de 2012). *Estudio de Miel de Abeja. Mercado de Japón*. Obtenido de https://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/24_estudio_04.pdf
- MCPEC. (2011). Ministerio de Coordinacion de la Produccion, Empleo y Competitivida. *AGENDAS PARA LA TRANFORMACION PRODUCTIVA TERRITORIAL: PROVINCIA DE PICHINCHA*. Pichincha, Ecuador.
- Ministerio de salud de Chile. (2014). MINISTERIO DE SALUD. Guía Clínica: Vigilancia Biológica de la Población Expuesta a Plomo en la. Santiago.
- Montague, B. (2015). Birds, bees and educated fleas. Londres: Metro Publishing.
- Montenegro, S. (2005). *Variación de color en miel de abejas*. Obtenido de Color: http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/7-Tecnologia/T-070.pdf
- Murillo, K. (Noviembre de 2015). Evaluación del método de descristalizado en las características físicas, químicas y sensoriales de la miel de abeja (Apis mellifera).

 Obtenido de https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4642/1/AGI-2015-028.pdf
- National Honey Board. (10 de Marzo de 2016). *Honey*. Obtenido de ¿Cómo se hace la miel?: http://www.honey.com/honey-at-home/learn-about-honey/how-honey-is-made/
- Norma Chilena. (Marzo de 2007). *Miel de abeja- Determinación de la conductividad electrica* . Obtenido de http://www.chilealimentos.com/medios/2008/e_Normativas_Nacionales/INN/Co

- nsulta_Publica/INN_VERSION_FINAL_CONDUCTIVIDAD_ELECTRICA.pd f
- NTE INEN 1 572. (s.f.). Miel de abejas. Requisitos. Quito.
- OIE. (2008). *Manual de la OIE sobre animales terrestres*. Obtenido de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.02.03.%20Loque%20euro pea.pdf
- PEREZ AROUILLUE, C., & JIMENO BENITO, M. F. (s/f). MANEJO Y ALTERACIONES DE LA MIEL. *HOJAS DIVULGADORAS*, 3-16.
- Portal apícola. (27 de Agosto de 2014). *El color de la miel*. Obtenido de http://apicultura.com/el-color-de-la-miel/
- PRO ECUADOR. (17 de Abril de 2013). *Servicio de Asesoría al Exportador*. Obtenido de Información de primer nivel de Miel de Abeja: http://www.proecuador.gob.ec/pubs/miel-de-abeja-mundo/
- Quezada, W. (2007). Determinación de parámetros óptimos para la producción y aromatización de miel hidrolizada, panela soluble y azúcar. Obtenido de Determinación de parámetros óptimos para la producción y aromatización de miel hidrolizada, panela soluble y azúcar: http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/935/1/Miel,%20panela%20az%C3%BAcar.pdf
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (Febrero de 2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular.

 Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012001100009
- Rev. Iberoam. Micol. (2002). *Reinos de los hongos*. Obtenido de http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/001.PDF
- Robson, V. (17 de Noviembre de 2008). *Journal of Advanced Nursing*. Obtenido de Standardized antibacterial honey,with standard terapy in wound care: http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1365-2648.2008.04923.x?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED
- Rodriguez Romero, B. A. (Abril de 2012). Caracterizacion química y evaluación de las actividades antioxidantes y am¿ntimicrobiana de mieles florales: Naranjo,

- Cactáceas y Campanilla. Obtenido de http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/386/1/RI000077.pdf
- Rodríguez, M., Arjona, H. E., & Galvis, J. A. (24 de Enero de 2006). *Maduración del fruto de feijoa (Acca sellowiana Berg) en los clones 41 (Quimba) y 8-4 a temperatura ambiente en condiciones de la Sabana de Bogotá*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v24n1/v24n1a09.pdf
- Salamanca, G. (17 de Marzo de 2001). *Galería Apícola Virtual*. Obtenido de Características microbiológicas de las mieles tropicales de Apis mellifera: http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/caracteristicas_microbiologicas mieles.htm
- Sanz Cervera, S., & Sanz Cervera, M. M. (1994). Valores de acidez (libre, lactónica y total) y pH de las mieles de la roja . *ZUBIA* , 193-204.
- Suescún, L. (01 de Enero de 2008). Control de calidad de la miel de abejasproducida para propuesta para un proyecto se servicio comunitario obligatorio. Obtenido de Fuerza Farmacéutica: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16252/1/ff2008suescun.pdf
- Ulloa, J. A., Mondragón Cortez, P. M., Rodríguez Rodríguez, R., Reséndiz Vázquez, J. A., & Ulloa, P. R. (2010). La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente Año* 2, 15. Obtenido de http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf
- UNC. (sf). *Guía práctica para el control y de la evaluación de la calidad de miel y polen* . Obtenido de Guía práctica para el control y de la evaluación de la calidad de miel y polen: https://www.feedingknowledge.net/home?p_p_id=1_WAR_feeding_knowledgep ortlet&p_p_lifecycle=2&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_cacheab ility=cacheLevelPage&_1_WAR_feeding_knowledgeportlet_cmd=serveAttachm ent&_1_WAR_feeding_knowledgeportlet_stepAttachmen
- Unión Europea. (Septiembre de 2016). Obtenido de http://plaguicidas.comercio.es/MetalPesa.pdf
- University of Kentucky . (Febrero de 2013). *Cooperative Extension Service*. Obtenido de Beekeeping and Honey: http://www.uky.edu/Ag/CCD/introsheets/apicultural.pdf
- UNLAPM. (2009). *Ciencia Veterinaria*. Obtenido de Características Físico-Quimicas y microbiológicas de mieles de La Pampa: http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n11a05noia.pdf

- Valega, O. (sf.). *Apiservices*. Obtenido de Humedad: http://www.apiservices.com/articulos/frescura_adulteraciones_miel.pdf
- Wilczyńska, A. (Abril de 2010). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.

 Obtenido de PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT TYPES OF POLISH: file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/PJFNS_60_4_pp_309-313.pdf
- Zamora, L. G., & Arias, M. L. (2011). Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón. *Rev Biomed*, 59-64.
- Zandamela Mungói, E. M. (2008). Caracterizacion Fisico-Quimico y Evaluacion Sanitaria de la miel de Mozambique. Bellatera (Cerdanyola de Vallés).
- Zandamela, M. F. (2008). *Caracterización Físico-Química y Evaluación Sanitaria de la miel de Mozambique*. Obtenido de http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf;jsessionid=057 F08145CEE874B92977D877814A7C9.tdx1?sequence=1