



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

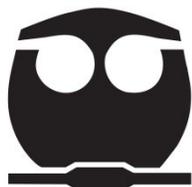
***ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LA MIEL  
BASADO EN PROCEDIMIENTOS  
ELECTROQUÍMICOS***

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

**DIANA BERENICE ROMERO MOLOTLA**



**México D.F.**

**2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor:**Eugenio Octavio Reyes Salas

**VOCAL:**               **Profesor:** Araceli Patricia Peña Álvarez

**SECRETARIO:**       **Profesor:** Patricia Severiano Pérez

**1er. SUPLENTE:**      **Profesor:** Carolina Flores Ávila

**2° SUPLENTE:**       **Profesor:** Selma Sonia Sosa Sevilla

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Laboratorio 114 Sótano del Edificio B Facultad de Química UNAM

**ASESOR DEL TEMA:**Eugenio Octavio Reyes Salas\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):**Selma Sonia Sosa Sevilla\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE (S):**Romero Molotla Diana Berenice\_\_\_\_\_

## ÍNDICE DE CAPITULOS

---

INDICE DE FIGURAS .....	3
ÍNDICE DE TABLAS DE RESULTADOS.....	4
RESUMEN .....	5
I INTRODUCCIÓN.....	7
II ANTECEDENTES.....	10
II.1.- GENERALIDADES.....	10
II.1.1.-Historia de la miel en México.....	11
II.1.2.-La apicultura durante el México independiente y el Porfiriato.....	14
II.1.3.-Meliponas: abejas nativas.....	15
II.1.4.-Apis Melifera.....	17
II.1.5.-Composición de la miel.....	20
II.1.6.-Cristalización de la miel.....	22
II.1.7.-Mitos sobre la cristalización.....	27
II.1.8.-La pasteurización de la miel.....	27
II.2.- CLASES DE MIEL .....	31
II.3.- PROPIEDADES FÍSICAS.....	31
II.4.- COLORES DE LA MIEL .....	32
II.5.- ESPECIFICACIONES QUÍMICAS DE LA CALIDAD DE MIEL EN MÉXICO.....	34
III.- OBJETIVOS.....	36
III.1.-Objetivo general.....	36
III.2.-Objetivos particulares.....	36

IV.- METODOLOGIA SEGUIDA PARA EL ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE MIEL .....	39
IV.1 Metodología General.....	37
IV.2 Equipos e instrumental.....	37
IV.3 Muestras.....	37
IV.4.-Determinación de humedad.....	39
IV.5- Determinación de cenizas.....	39
IV.6.-Determinación de pH.....	40
IV.7.-Determinación de azúcares reductores. ....	41
IV.8.-Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF).....	42
IV.9.-Determinación de fructosa.....	43
IV.10.-Determinación de glucosa.....	44
IV.11.-Determinación de acidez.....	44
V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
V.1.- Humedad.....	47
V.2.- pH.....	48
V.3.- Determinación de cenizas.....	48
V.4.- Determinación de azúcares reductores ....	50
V.5.- Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF).....	52
V.6.- Determinación de fructosa.....	56
V.7.- Determinación de glucosa.....	60
V.8.- Determinación de acidez.....	62
V.9.- Discusión de resultados .....	66
VI CONCLUSIONES.....	69
VII BIBLIOGRAFÍA.....	71

## INDICE DE FIGURAS

---

Figura 1. Foto interior de la colmena de Meliponinas.....	16
Figura 2. Foto(a) de un nido aéreo (b)subterráneo.....	16
Figura 3. Panal de <i>Apis mellifera</i> .....	19
Figura 4. Cristalización en miel.....	23
Figura 5. La oxidación cuantitativa de d-glucosa a ácido d-glucónico mediante la Glucosaoxidasa (god).....	24
Figura 6. Abejas aguadoras .....	30
Figura 7. Colores en la miel .....	32
Figura 8. Metodología seguida para el estudio de la calidad en mieles.....	37
Figura 9. Valoración potenciométrica del reactivo de Fehling (5 mL de $\text{Cu}^{(II)}$ ) con una disolución de miel de la muestra de lote 5 (0.5113g/200mL) fase sólida.....	50
Figura 10. Señal de reducción del HMF. Polarograma obtenido por polarografía diferencial de impulsos de la muestra L5FL con adiciones (10 $\mu$ L) de patrón de HMF. Barrido de potencial de 1000 a -1500 mV, con una velocidad de barrido a 6mV/s. Se emplearon 10 mL de electrolito soporte.....	53
Figura 11. Curva de HMF presente por cada adición de intensidad de corriente vs ppm de HMF agregados.....	54
Figura 12. Polarograma trazado con las siguientes condiciones: técnica de polarografía diferencial de impulsos (pdi). barrido de potencial de -1300 a -1900 mv, con una velocidad de barrido de 2 mv/s [fructosa]= 0.0402m y 1 ml de muestra en 1.0035 g/ml de miel en 10 ml de solución de electrolito soporte.....	57
Figura 13. Regresión lineal para calcular el contenido de fructosa en mieles.....	58
Figura 14. Curva de calibración para glucosa.....	61
Figura 15. Determinación de acidez en miel.....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla no. 1 Composición de la miel.....	20
Tabla no. 2 Especificaciones químicas de la calidad de miel en México.....	34
Tabla no. 3 Contenido de humedad en mieles.....	47
Tablano. 4 Resultados de pH.....	48
Tabla no.5 Cenizas en miel .....	49
Tabla no. 6 Contenido de azúcares reductores totales.....	52
Tabla no. 7 Contenido de HMF .....	55
Tabla no. 8 Contenido de fructosa.....	59
Tabla no. 9 Contenido de glucosa .....	62
Tabla no. 10 Contenido de acidez en miel .....	64
Tabla no. 11 Tabla de resultados globales.....	65
Tabla no. 12 Tabla comparativa de resultados de distinción.....	67

## RESUMEN

---

En el presente trabajo se realizó un estudio de la calidad de la miel a través de la determinación de varios parámetros físicoquímicos, en muestras del Estado de Michoacán tomadas en la primavera de 2010 y que habían sufrido un proceso de envejecimiento; algunas de ellas presentaron separación de fases. Los valores encontrados se compararon con los obtenidos con mieles de la misma región, cosechadas en la misma época y conservadas frescas. Los parámetros determinados para las mieles envejecidas rebasan en varios rubros los niveles permitidos por la legislación mexicana.

Se realizó primero la cuantificación para azúcares reductores mediante el método clásico de Fehling modificado por Lane; sin embargo, la detección del punto de equivalencia se realizó de dos formas con indicador (azul de metileno) y por potenciometría (con electrodo de cobre); si hay un compuesto reductor, el Cobre cambia su estado de oxidación de (II a I), lo que se evidencia por el cambio de color y la aparición del precipitado rojizo de óxido cuproso. La cuantificación se realizó con indicador coloreado y por potenciometría.

Posteriormente, la segunda prueba para calidad de la miel fue la cuantificación de hidroximetilfurfural (HMF) por el método de adiciones patrón con el análisis electroquímico por polarografía diferencial de impulsos (PDI) (técnica voltamperométrica que utiliza un electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo). Se detectó la señal de reducción del HMF mediante el trazado de polarogramas (representación de intensidad de corriente contra potencial) donde se utilizó como electrolito soporte buffer de boratos a  $\text{pH}=10$ ; el dominio de electroactividad fue de  $-200 \text{ mV}$  a  $-1800 \text{ mV}$ , con una velocidad de barrido de  $5 \text{ mV/s}$ . Los valores de potencial de media onda se obtuvieron mediante un análisis matemático.

Para el análisis electroquímico de cuantificación de fructosa en las diferentes muestras de miel se realizó el mismo procedimiento detallado para la determinación de HMF pero con algunas variaciones en el electrolito soporte, que fue  $\text{CaCl}_2 1\text{M}$  con agua desionizada. La señal de reducción de fructosa se realizó con las condiciones de

barrido de potencial de -1100 mV a -2000 mV. Para el trazado de los polarogramas restantes (muestras de miel y volúmenes de patrón de fructosa) se hizo con el mismo barrido de potencial y la misma velocidad.

La cantidad de fructosa en la miel se calculó como porcentaje en masa mediante un análisis estadístico de regresión lineal de la gráfica de adiciones patrón. La cuantificación de glucosa en las muestras de miel se realizó mediante el empleo de un glucómetro. Para la preparación de la calibración por medio de una curva patrón de glucosa donde se tomó primero en cuenta los valores de glucosa tanto mínimos como máximos de lectura, la calibración no corresponde con precisión al real de glucosa (no son perfectas) donde se prepararon disoluciones a diferentes concentraciones de glucosa, se graficó las concentraciones reales contra las concentraciones indicadas por el aparato y mediante un análisis matemático se pudo cuantificar el contenido real de glucosa en la muestra.

La valoración ácido-base para la determinación de acidez libre se determinó por potenciometría con NaOH 0.001188 M utilizando fenolftaleína como indicador hasta obtener un pH cercano a 10. La valoración de acidez se hizo graficando el volumen de NaOH contra la variación de pH para determinar el punto de equivalencia y obtener el grado de acidez de cada muestra de miel.

El análisis de humedad se realizó utilizando la refractometría, tomando en cuenta la corrección de la temperatura calibrando a 20°C y el factor de corrección que se sumó al valor obtenido por escala del aparato.

El pH se determinó con pHmetro calibrado con disoluciones tampón/buffer.

La cuantificación de cenizas se hizo por conductimetría donde se prepararon volúmenes de muestras de miel de concentración aproximada a 0.1g/mL, se midió el valor de conductividad específica en  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . El valor obtenido se corrige con la sustracción de conductividad del agua desionizada.

## I INTRODUCCIÓN

---

La abeja y la miel son tan antiguas como el hombre mismo y al igual que él, en sus orígenes llevó una vida nómada. Quizá las dificultades con otros animales le obligaron a vivir en sociedad con los de su especie en un lugar fijo. En el mundo entero la miel es considerada como un regalo de la naturaleza y un símbolo de pureza. Son numerosos los cantos de alabanza que se han escrito a través del tiempo, ponderando a la miel y sus beneficios en el Viejo Testamento, los Vedas, así como en el Popol-Vuh e incluso con poetas contemporáneos<sup>1</sup>.

La miel es la sustancia dulce natural producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones o de otras partes vivas de la planta (glándulas diferenciadas en la base de los estambres o de los pétalos), que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales, de los cuales se extrae el producto sin ninguna adición<sup>3</sup>.

La miel es una disolución sobresaturada en azúcares y es susceptible de cristalización, a un ritmo influenciado por el contenido de agua, la presencia de semillas de nucleación, el grado de sobresaturación y la viscosidad (los dos últimos están relacionados con la temperatura y el tiempo). Mientras que algunas mieles monoflorales (por ejemplo los cítricos) cristalizan naturalmente con frecuencia de manera fina y homogénea, para la mayoría de las mieles comerciales la cristalización es todavía un fenómeno relativamente poco estudiado. En algunos casos, la granulación espontánea puede conducir a indeseables cristales gruesos que se consideran de menor calidad e incluso se puede llegar a la separación de fases, sedimentación y aumento en la actividad del agua, que puede llegar a aumentar hasta niveles que pueden permitir procesos de fermentación microbiana.

Se dice que durante la cristalización de la miel, cristaliza principalmente glucosa por la formación de monohidrato de glucosa y que la fructosa, por ser más soluble, permanece en la solución durante más tiempo. El agua asociada a la glucosa en solución se libera durante el proceso de cristalización, lo que significa que el agua aumenta su actividad en la fase líquida. Miel con mayor contenido de agua a veces se separan en una fase que

cristaliza en la parte inferior y una fase líquida en la parte superior. Esta fase que contiene alto porcentaje de agua aumenta el riesgo de deterioro de la miel a través de la fermentación<sup>4</sup>.

Es necesario contar con métodos analíticos de rutina para el control de la calidad de la miel que sean útiles, funcionales, prácticos y que permitan a los pequeños y medianos apicultores mantener el interés en que estas pruebas de calidad se reflejen en un correcto etiquetado y comercialización.

Mediante el uso de métodos electroquímicos se busca hacer un análisis de algunos componentes de la miel que permitan conocer su calidad para consumo humano directo no sólo para respaldar la exportación sino también para el consumo local.

## Capítulo II

### Antecedentes



Códice en pergamino del siglo XV. Ilustración del libro “Las Bucólicas” de Virgilio que se encuentra en la Biblioteca Real del Monasterio de El Escorial.

## II ANTECEDENTES

---

### II.1 Generalidades

---

La norma NMX-F-036-981. MIEL DE ABEJA. ESPECIFICACIONES. NORMA MEXICANA define a la miel como la sustancia dulce producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas, que dichas abejas recogen, transforman y almacenan después en sus panales; de los cuales se extrae el producto que es objeto de esta Norma, sin ninguna adición.

Durante el proceso de la elaboración, la miel contiene altos porcentajes de humedad. El exceso de humedad se elimina por evaporación como resultado del rápido abanico de alas de las abejas sobre las células de néctar en la colmena donde la sacarosa es invertida enzimáticamente. Cuando la miel contiene menos del 20% de agua, los microbios tales como bacterias y hongos no pueden crecer en ella. Por esta razón, la miel se puede almacenar durante un largo tiempo. La miel contiene azúcares simples que son fácilmente absorbidos por el cuerpo. Cuando en el panal, la miel ha “madurado” (menor porcentaje de humedad de sacarosa) las celdillas que la contienen son operculadas (selladas) por las abejas.

Las diferencias de color miel, aroma y sabor se determinan por la fuente floral principalmente, no por las abejas. Cuando la miel se ha dejado de pie en un lugar fresco, se forman cristales de los distintos azúcares presentes como fructosa y glucosa principalmente. Este es un proceso natural y se puede "revertir" por el calentamiento de la miel. Las abejas utilizan la miel como una fuente de carbohidratos para alimentarse.

### II.1.1 Historia de la miel en México

---

Los datos históricos más remotos provienen de Babilonia, Egipto, India, China y Grecia, donde existen abundantes datos iconográficos y literarios sobre la explotación de la colmena.

Las variedades de abeja más conocidas en el México prehispánico fueron la melipona y la trigona, la primera aún explotada en el sureste del país, especialmente en Yucatán y a la que en idioma maya se denomina Xuna`an-Kab, Kolel`Kab o Po`ol-Kab. “Los mayas tuvieron una deidad apícola identificada con la abeja, Amuzenkab, a la que le rendían culto y ofrecían ceremonias rituales para solicitarle beneficios. Las culturas mesoamericanas lograron cultivar diversas variedades de los géneros Trigona y Melipona, entre las que tuvo particular importancia la especie *Melipona beecheii*bennett, que se sigue utilizando actualmente en este Estado. Había mitos relacionados con su existencia y dedicaban un día a festejar a la melipona”.<sup>6</sup>

En el México prehispánico era apreciada la abeja no sólo por su miel sino también por la cera. Aún ahora en la península de Yucatán se cree que la cera negra de la abeja sin aguijón tiene gran fuerza como ofrenda. Estas ofrendas se hacen en forma de velas negras. La cera ocupa un lugar importante dentro de los subproductos de la miel, en la antigüedad los indígenas la utilizaron en la metalurgia en la técnica llamada “a la cera perdida”, para darle forma a las figuras de oro. A la fecha esta entidad ocupa el primer lugar con el 35% de la producción nacional de miel. En Teotihuacán la cera se ocupó en las ceremonias religiosas; los mayas hicieron figuras de animales, de hombres y de dioses, otras veces la ocuparon para hacer velas para alumbrarse, principalmente en los recintos religiosos. Se han encontrado evidencias de que los indígenas “cachitas” (mezcla de mayos y yaquis) que habitaban las barrancas del Estado de Sonora, ya cosechaban la miel de abeja. En México y América Central la apicultura se practicó colocando las colmenas cerca de los hogares, mientras que en América del Sur, para obtener miel, los habitantes tenían que ir al bosque, a las cuevas que estaban en las rocas o al lugar en que se encontraba el panal para hacerse

de miel, cuidando de no matar a las crías y a las mismas abejas, pues esperaban cosechar la miel al próximo año.

Escritos de los misioneros españoles del siglo XVII señalan que este tipo de insecto habitaba en la mayor parte de los países sudamericanos, produciendo miel de calidad y sabor aceptable; aún en las islas más lejanas del Sur de Chile ya se conocía la miel.<sup>6</sup>

En las culturas prehispánicas del Golfo de México, Centroamérica y los diversos pueblos nahuas del Valle de México –Aztecas, Xochimilcas, Tlacopense, Acolhuas, Texcocanos—la miel era ampliamente conocida y se le comercializaba mediante trueque en los grandes mercados de Tlatelolco y Acolman.

Al paso de Hernán Cortés por Cozumel en 1519, los españoles se sorprendieron de su configuración y, aunque es más pequeña y oscura que la europea, probaron que la miel de la melipona era similar a la de abeja europea (*Apis mellifera*). Hoy, en gran parte del país existe una variedad afromestiza de *Apis Mellifera*. Hasta antes del implante de la caña de azúcar en México, el único edulcorante utilizado en la gastronomía indígena y novohispana era la miel de las abejas nativas.<sup>6</sup>

Los indígenas pagaban parte del tributo con miel y cera. Con la llegada de los primeros españoles se hubiera pensado también en la introducción de la abeja común europea y aunque desde los inicios de la conquista los españoles mostraron interés por traer abejas desde España, por su delicadeza se pensó que era imposible que soportaran los rigores de un viaje trasatlántico de dos o tres meses en las bodegas de un galeón; además, la corona siempre consideró la venta de miel y cera como un monopolio real y exclusivo de España. Sin embargo, se sabe de varios intentos fallidos de introducir abejas melíferas en sus colonias. Posteriormente, debido a las actividades religiosas surgió una fuerte demanda de la cera de abeja, utilizada para fabricar velas, que eran absolutamente indispensables para officiar la misa. Pero la llegada de *Apis mellifera* a la Nueva España no fue directa. Fueron introducidas primero por los colonos europeos por América del Norte, mérito que seguramente pertenece a los ingleses que supieron hacer mejores barcos. En 1622 ya había abejas en la colonia inglesa de Virginia mas no fue sino hasta 1711 que fueron llevadas a la Florida, que era por esos tiempos colonia de España. En 1763 los ingleses conquistaron la isla de Cuba a los españoles, ocupación que duró sólo 11 meses, pues se llegó a un acuerdo

entre las autoridades de ambas partes de intercambiar la Florida, que era colonia de España, por La Habana usurpada por los ingleses, y bajo estas circunstancias, entró la abeja melífera en la isla de Cuba. A pesar de que se tienen evidencias de que se introdujo a la abeja melífera al país –sólo en la región central- a finales de 1760, inicios de 1770; en 1797 no había referencias de la presencia de la abeja melífera en México ni en otras colonias españolas de la región. Se puede comprobar que los primeros testimonios de la llegada de la abeja melífera a Centroamérica y América del sur datan de los siglos XIX y XX. En 1834 fueron llevadas a Uruguay, en 1848 a Chile, en 1855 a Argentina, 1858 a Bolivia y 1911 a Yucatán. Probablemente, la lenta expansión de *Apis mellifera* por esta región, se debe a la resistencia que pudo haber tenido en aquel entonces por parte de los criadores de melipónidos o abejas sin aguijón. Cabe mencionar que con la introducción de la caña de azúcar y el desarrollo de las grandes haciendas azucareras en la región central de lo que era ya-la República Mexicana la miel pasó a segundo lugar como producto endulzante y la necesidad de utilizarla se redujo.<sup>7</sup>

## II.1.2 La apicultura durante el México independiente y el Porfiriato.

---

Por la situación económica y política del recién independiente país, la apicultura estuvo durante decenas de años compartiendo la utilización tanto de la abeja europea como de la melipona pero con un gran rezago. Ya en el siglo XIX, se trajeron otras variedades de abejas europeas para mejorar la calidad y cantidad de los apiarios. A pesar del aprovechamiento o de sus productos apícolas en la industria y la economía doméstica, se ignoraban por completo los métodos para obtenerlos en bastante cantidad de manera industrial.

Los tres grandes curas-guerreros del movimiento de Independencia iniciado en 1810, Miguel Hidalgo y Costilla, José María Morelos y Pavón y Mariano Matamoros fueron promotores de la apicultura entre sus feligreses antes de tomar las armas.<sup>6</sup>

Los agricultores en general acostumbraban cosechar las colmenas naturales que se encontraban casualmente; el poco conocimiento que se tuvo de nuestra abeja -la melipona- por el misterio de que estuvo rodeada la colmena y las pocas ventajas que ofrecía su explotación, contribuyó a que hasta esos momentos la apicultura fuese considerada como pasatiempo, como distracción, peor aún, como ocupación especial para los desheredados de la suerte. Por fortuna tal opinión errónea desapareció al introducirse la apicultura basada en el empleo de cubos de madera con marcos móviles (el uso de tal invención da pie a la apicultura moderna) y se veía a hombres adinerados y de gran habilidad comercial dedicados a este ramo por las abundantes utilidades que proporciona. Es de suponer que durante el mandato de Porfirio Díaz la apicultura recibió junto con otras actividades, un gran impulso y apoyo económico. En publicaciones de la época se mencionan una serie de recomendaciones para el nuevo apicultor –que no distan mucho de lo que se sabe en la actualidad, además de señalarse la poca inversión (de esfuerzo, tiempo y dinero) y experiencia que se requiere para instalar un apiario o colmenar. Durante el movimiento revolucionario de 1910 la apicultura, al igual que otras actividades, sufrieron un abandono que se transformaría a partir del establecimiento de orden y progreso en el México Postrevolucionario<sup>8</sup>.

### II.1.3 Meliponas: abejas nativas

---

Las abejas de la subfamilia *Meliponinae* (*Hymenoptera, apidae*), son conocidas como “abejas nativas sin aguijón” ya que poseen su órgano de defensa (aguijón) atrofiado, por lo tanto, son incapaces de introducir su estilete. Se encuentran en América del Sur, América Central, Asia, Islas del Pacífico, Australia, Nueva Guinea y África. Taxonómicamente están subdivididas en dos tribus: Meliponini formada apenas por el género *Melipona*, encontrado exclusivamente en la región Neotropical (América del Sur, Central e Islas del Caribe), y Trigonini que agrupa a un gran número de géneros y que se encuentra distribuida en toda el área de distribución de la subfamilia.

Todas las especies de *Meliponinae* son sociales, esto es, que viven en colonias constituidas por muchas operarias (desde algunas centenas hasta más de un millar según la especie) y que realizan las tareas de construcción y manutención de la estructura física de la colonia, colecta y procesamiento del alimento, cuidado de la cría y defensa del nido. Tienen reina (en algunas pocas especies son encontradas hasta cinco reinas) que es la responsable de la postura de huevos que van a dar origen a hembras (reinas y obreras) y a por lo menos parte de los machos (en diversas especies parte de los machos son hijos de obreras). Los machos son producidos en gran número en ciertas épocas del año y pueden realizar esporádicamente algunas tareas dentro de la colonia, además de fecundar a la reina durante el vuelo nupcial. Normalmente algunos días después de nacer (cuando la abeja ha terminado su desenvolvimiento y sale de su celda) los machos son expulsados de la colonia.<sup>8</sup>



Figura 1

Foto interior de la colmena de Meliponinas– disposición de las crías (cacho, espiral y horizontal)



(a)

(b)

Figura 2

Foto(a) de un nido aéreo (b)subterráneo

## II.1.4 Apis mellifera

---

La abeja de la miel, *Apis mellifera*, es un insecto que pertenece, dentro del orden de los Himenópteros a la familia Apidae y al género Apis; este género comprende 4 especies todas ellas sociales:

- *Apis mellifera*. Es la especie de abeja con mayor distribución en el mundo. Originaria de Europa, África y parte de Asia, fue introducida en América y Oceanía.
- *Apis cerana*. Es una especie de himenóptero apócrito de la familia Apidae. Es una abeja melífera propia del sudeste asiático: China, India, Japón, Malasia, Nepal, Bangladés, Papúa Nueva Guinea, e Indonesia la otra mitad de la Isla Nueva Guinea anteriormente llamada Irian Jaya o Irían.

Ambas viven en nidos cerrados (rocas, huecos de árboles, etc). Cabe en este momento hacer la distinción entre nido y colmena. Un nido es el albergue natural de un enjambre, siendo la colmena el albergue artificial, construido por el hombre.

- *Apis dorsata* y *Apis florea*. Es una abeja melífera nativa del sudeste asiático, Indonesia y Australia. Su recolección es de forma natural. Al presentarse un único panal y ser poco productivas se utiliza poco en la apicultura.

Si nos centramos en *Apis mellifera* hay 23 razas o subespecies distribuidas en 7 zonas: Sur y Este de Europa, Norte y Oeste de Europa (*Apis mellifera*sp ibérica), Islas Mediterráneas, Norte de África, Sur de África, Este de África y Oeste de África. En Europa las 4 principales variedades de abejas más conocidas son:

- *Apis mellifera mellifera*. Originaria de Europa del Norte y del centro-oeste de Rusia hasta la península Ibérica. Es de color marrón oscuro, tirando a negro.
- *Apis mellifera ligúistica*. De origen italiano; es una abeja muy popular en todas partes del mundo. Es de color claro y tiene largos segmentos amarillos sobre el abdomen. Es una abeja muy dócil.
- *Apis mellifera carnica*. Esta abeja originaria de los Alpes del Sur de Austria es de color marrón ó gris. Es muy popular para muchos apicultores en razón de su docilidad.
- *Apis mellifera caucásica*. Esta abeja de color un poco gris plomo es originaria de los altos valles del centro del Caúcaso.<sup>10</sup>

Económicamente son de gran valor para el hombre por sus productos, especialmente la miel pero su mayor importancia está en el trabajo de polinización que realizan. En este sentido no hay insecto comparable a la abeja melífera debido al manejo que el hombre puede hacer con ella. *Apis mellifera* consta como mínimo de 30 razas diferentes y algunas diferencias entre ellas son: color, tendencia a enjambrar, reinas, actitud defensiva, tendencias en cuanto a desarrollo de cría, etc. Las razas se pueden también dividir, a grandes rasgos, en abejas europeas y abejas africanas. Las abejas que existen hoy en América son una heterogénea mezcla de razas de abejas europeas excepto la abeja africanizada que es el resultado de un cruce de europeas con africanas donde predominó el carácter agresivo, la tendencia a formar enjambres y la laboriosidad de estas últimas. Las razas más usadas son: *A. m. ligustica* o italiana, *A. m. mellifera* o abeja negra, *A. m. carnica* o carniola, *A. m. caucasica*. A partir de las razas existen las líneas que son el resultado de cruces en busca de las mejores características de cada raza.<sup>10</sup>



Figura 3. Panal de Apis melifera

## II.1.5 Composición de la miel

---

La composición de la miel (tabla 1) depende de muchos factores: especies florales cosechadas, naturaleza del suelo, raza de abejas, estado fisiológico de las abejas, estado fisiológico de la colonia, etc.

La miel es una solución saturada de azúcares simples con predominancia de fructosa y glucosa y en menor proporción, una mezcla compleja de otros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, cera y granos de polen. Las características sensoriales y fisicoquímicas del producto están muy asociadas con su origen geográfico y botánico.

Los constituyentes menores, tales como los compuestos del sabor, pigmentos coloreados, ácidos, etc, participan en gran parte de las diferencias entre las distintas mieles.

La miel es una sustancia formada principalmente por fructosa y glucosa, pero además es una maravillosa fuente de minerales y vitaminas.

Tabla 1  
Composición de la miel<sup>17</sup>

Compuesto	Porcentaje (%)
Hidratos de carbono	70-80
Agua	10-20
Proteínas	Hasta 0.40
Sustancias minerales	Hasta 1%: potasio, calcio, sodio, magnesio, silicio, hierro, fosforo, etc.
Oligoelementos	Zinc, molibdeno, yodo, etc.
Vitaminas	B2, ácido pantoténico, niacina, tiamina, B6, K, ácido fólico, biotina.

En la miel de una colmena sana no se encuentran ni bacterias en forma vegetativa ni sustancias antifúngicas. Por el contrario, la miel cuenta con dos clases de sustancias, unas antibacterianas termoestables, que provienen de las plantas pecoreadas, y las otras sensibles al calor, de las glándulas hipofaríngeas de las obreras durante la elaboración de miel en la colmena.

La miel contiene granos de polen (de 100 a 5.000 por g de miel) que ponen de manifiesto su origen botánico y geográfico. Cada miel puede ser así determinada con precisión por su composición polínica; siendo una herramienta muy utilizada en los servicios de la represión de fraudes.<sup>11</sup>

## II.1.6Cristalización de la miel

---

Se dice que la tendencia de la miel para cristalizarse depende fundamentalmente del contenido de glucosa y del nivel de humedad de la miel.

Adicionalmente, la cristalización puede ser estimulada por cualquier partícula pequeña de polvo, polen, pedacitos de cera o propóleos, burbujas de aire, que están presentes en la miel. Estos factores están relacionados al tipo de miel pero también con la forma de manejo y procesamiento de ésta. Las condiciones de almacenamiento, tal es como: temperatura, humedad relativa y tipo de envase, pueden también afectar la tendencia de la miel para cristalizarse.<sup>12</sup>

La cristalización de la miel es un fenómeno natural importante, ya que del mismo depende, en parte, sus propiedades cualitativas y su comercialización. Las mieles son perfectamente fluidas en el momento de su extracción, pero en general no se quedan así de un modo indefinido. Al ser soluciones sobresaturadas de diferentes azúcares, son inestables, y se produce fácilmente la cristalización. No todas las mieles cristalizan con igual rapidez, algunas lo hacen a los pocos días de su recolección y otras, incluso, al cabo de años si tienen la temperatura adecuada.

La miel se produce en estado líquido pero después de cosechada permanece muy poco tiempo en ese estado y pasa al “estado sólido” o “cristalizado”. Al cristalizarse la miel, se considera que la glucosa precipita primero. De esta manera se forman fases sólidas acompañadas de fases líquidas con mayor contenido de humedad. Este estado de sobresaturación ocurre porque hay mayor contenido de glucosa y fructosa en la miel (más del 70%) con relación a la cantidad de agua (a menudo menos del 20%). El color de la miel también puede cambiar: puede pasar por ejemplo de negro u oscuro a marrón o blanquecina.



Figura 4. Cristalización en miel

La presencia de cristales de glucosa en la miel (hállanse presentes naturalmente o sean agregados) inicia el proceso de cristalización. Se afirma que los cristales de cualquier sustancia que tenga el mismo sistema de cristalización de glucosa (cristales isomorfos) pueden actuar como punto de partida en la formación de cristales en una solución sobresaturada de glucosa. Sin embargo, esta cuestión no ha sido establecida definitivamente no es todavía no se conoce bien el papel que desempeñan los pequeños cristales (y partículas no cristalinas) de otras sustancias fuera de la glucosa que se encuentran presentes en la miel. Es evidente que la presencia de burbujas de aire finamente divididas que se incorporan a la miel en el proceso de batido acelera el comienzo de la cristalización. En muchos casos se ha observado que la formación del primer cristal “núcleo” en la miel, que acelera el comienzo de la cristalización (cuando no había cristales ya presentes), tiene lugar en la superficie. Esto es debido evidentemente a la presencia de una capa muy delgada en la superficie de la miel que es de concentración mayor que el resto del producto. Esta concentración puede ser debida a la evaporación de una pequeña cantidad de agua que provoca una mayor concentración de glucosa en la película superficial estableciendo así las condiciones más favorables para la formación del cristal núcleo que actúa como centro

para la cristalización de la glucosa. La presencia de un gran número de burbujas de aire en la miel aumenta enormemente el área de la superficie, puesto que cada burbujita representa en realidad una superficie entre la miel líquida y el espacio de aire que en ella encierra, de este modo se favorece extraordinariamente la formación de cristales.

Se dice que los principales factores para producir la cristalización de la miel que se pueden encontrar son:

**Cantidad de glucosa y fructosa:** a mayor cantidad de glucosa más rápido se produce la cristalización y a la inversa, cuanto mayor es la cantidad de fructosa menor es la tendencia a cristalizar.

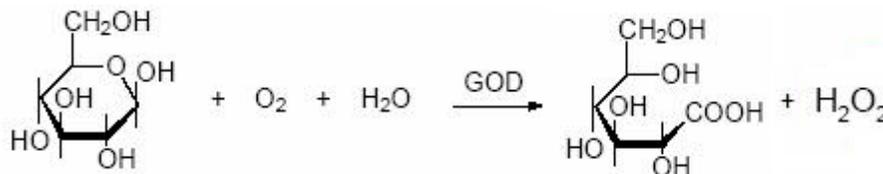
**Cantidad de agua:** cuanto mayor sea su contenido, menor es la tendencia a cristalizar.

**Temperatura.**

- Frías: por debajo de los 10°C , se frena la cristalización.
- Moderadas (10-15°C), promueven la cristalización.

La proporción de las diferentes azúcares de una miel tiene un efecto decisivo en sus propiedades físicas y químicas. Las azúcares principales de la miel son la fructosa y la glucosa y en promedio éstas contabilizan cerca del 77% de lo que llamamos miel.<sup>13</sup>

La oxidación cuantitativa de D-glucosa a ácido D-glucónico hace uso de la enzima glucosa oxidasa, que da lugar a la formación intermedia de la lactona-1,5 (un éster intramolecular) del ácido. La reacción es utilizada comúnmente para medir la concentración de D-glucosa en alimentos y otros materiales biológicos, incluida la sangre. El ácido D-glucónico es un constituyente natural de los zumos de frutas y de la miel.



**Figura 5. La oxidación cuantitativa de D-glucosa a ácido D-glucónico mediante la glucosa oxidasa(GOD)**

A pH 7, la glucosa está presente en solución en forma de hemiacetal cíclico, siendo un 63,6% β-D-glucopiranososa y un 36,4% α-D-glucopiranososa (la proporción de moléculas

lineales y de furanosa es despreciable). La glucosa oxidasa se une específicamente a la  $\beta$ -D-glucopiranososa y no interacciona con  $\alpha$ -D-glucopiranososa.

Es capaz de oxidar toda la glucosa en la solución, dado que el equilibrio entre los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  es conducido hacia la forma  $\beta$  conforme ésta va siendo consumida en la reacción.

La glucosa oxidasa cataliza la oxidación de  $\beta$ -D-glucosa en D-glucono-1,5-lactona, que es hidrolizada a ácido glucónico.<sup>13</sup>

Como resultado de una serie de interesantes experiencias, el químico ruso Kucharenko según Pierre Jean-Prost (2007) llegó a la conclusión de que es virtualmente posible preparar soluciones de azúcar de cualquier grado de sobresaturación que no cristalizarán a menos de que se les introduzca un cristal de azúcar disuelto. Los estudios de Kucharenko señalan la posibilidad de tratar la miel de modo que se vuelva libre de cristales en cuyo caso únicamente la introducción de cristales de glucosa producirá la granulación. Debe entenderse bien, sin embargo, que las condiciones necesarias para producir soluciones “libres de cristales” serán muy rigurosas. Por ejemplo, la exposición al aire aunque sea, contaminará la solución, puesto que, según Kucharenko, los cristales o fragmentos de cristales de cada sustancia cristalizable corrientemente conocida se pueden encontrar flotando en el aire.

Otra teoría propuesta para explicar el comportamiento de las soluciones sobresaturadas, y que es más generalmente aceptada, es la de Ostwald (1900). En los estudios realizados con soluciones sobresaturadas, Miers demuestra que la cristalización espontánea de una solución sobresaturada depende del grado de sobresaturación. En otras palabras este investigador reconoce dos zonas precisas de sobresaturación, siendo una de intensidad relativamente reducida señalada como meta-estable en la cual los cristales aumentarían en número si ya se hallan presentes en la solución pero no se formarían nuevos cristales espontáneamente. En la clase “labil” en cambio la concentración de la sustancia disuelta es mayor, teniendo lugar una formación espontánea de cristales nuevos haya o no cristales ya presentes.

Dado que la miel es una solución acuosa que esta sobresaturada con glucosa y fructosa, surge la pregunta si el grado de sobresaturación de dicho azúcar de la miel es tal

como para constituir una solución “meta-estable” o “lábil”. Poco se sabe respecto a las concentraciones de glucosa necesarias para producir uno u otro tipo de solución de modo que la pregunta de si los cristales de glucosa se pueden producir espontáneamente en la miel o si, por el contrario, la granulación tiene lugar en todos los casos alrededor de cristales ya existentes queda aun sin contestar.<sup>11</sup>

Es importantísimo que mediante campañas de promoción, divulgación e información, se fomente el consumo de mieles de calidad frente al resto de la oferta. La cristalización de la miel es un fenómeno natural importante, ya que del mismo depende, en parte, su calidad. Las mieles son perfectamente fluidas en el momento de su extracción, pero con el paso del tiempo tienden a solidificarse. La granulación o cristalización consiste, sencillamente, en la formación de cristales de glucosa en su interior, es decir, es la separación de glucosa en forma sólida, ya que la miel es químicamente una solución sobresaturada de azúcares, por lo que estos tienden a precipitar, es decir, a formar cristales sólidos según las proporciones de glucosa, fructosa y agua.

No todas las mieles cristalizan con igual rapidez, algunas lo hacen a los pocos días de su recolección (girasol) y otras, incluso lo hacen al cabo de años (anís), si tienen la temperatura adecuada.

Como hemos indicado anteriormente la cristalización de la miel es un fenómeno natural y no significa que sea defectuosa. La miel no cristaliza por debajo de los 5°C ni por encima de los 25°C. La temperatura óptima de cristalización es la de 14°C, debiéndose evitar el intervalo de 12 a 16°C si se quiere preservarla de este fenómeno. A una temperatura de 10°C el proceso de cristalización se hace tan lento que prácticamente puede considerarse como nulo, ya los 78°C se destruyen los cristales y desaparece totalmente el fenómeno. Por ello, el proceso de pasteurización que utilizan las grandes industrias que comercializan la miel hace que ésta se mantenga líquida por más tiempo, aunque desde luego, tiene otras características negativas como la producción de HMF.

Si queremos licuar la miel cristalizada sin que se pierda ninguna de sus características, basta con que la calentemos a baño María sin sobrepasar la temperatura de 45°C de 5 a 10 minutos.<sup>9</sup>

## II.1.7 Mitos sobre la cristalización.

---

El consumidor debe saber que la miel pura, es decir que no ha sufrido ninguna adulteración, cristalizará inexorablemente más tarde o más temprano.

*La cristalización es, en definitiva, un sello de garantía de la pureza de la miel pero...*

Además, otro fenómeno que puede acontecer en la miel cristalizada es la contracción de la masa cristalina generando unas manchas blanquecinas en las paredes de los envases de la miel. Esto puede ser el resultado de bruscos cambios en la temperatura durante su almacenamiento en el envase final o se puede producir por la incorporación excesiva de burbujas durante el envasado. Es un defecto estético que no compromete la calidad de la miel. Por último, puede existir un tercer caso con el cual nos podemos encontrar: miel separada en dos fases. Aparece cristalizada en la base y líquida en la parte superior. Se dice que esto puede ocurrir en mieles que posean un elevado tenor de humedad. El problema radica en que la fase líquida es susceptible de fermentar debido justamente a su elevada humedad.<sup>15</sup>

Muchos autores realizaron amplias investigaciones acerca de la granulación de las mieles, (por lo que comprobaron) que este proceso presenta ciertas desventajas. Cuando se deja cristalizar naturalmente la miel, sin previo calentamiento, aparecen ciertos inconvenientes. La textura del producto puede ser fina y uniforme, o bien grosera, lo que determina a los consumidores a rechazarla, y a que muchos de entre ellos consideran, quizás por su ignorancia que la miel cristalizada es adulterada.<sup>16</sup>

## II.1.8 La pasteurización de la miel

---

La pasteurización de la miel es un proceso por el que se la somete a un choque térmico elevado (78-82°), aunque reducido de duración (2-3 minutos), que destruye la mayor parte de las estructuras cristalinas iniciales que favorecen la total o parcial cristalización de la miel, permitiendo que ésta permanezca líquida durante más tiempo.

Según el profesor Lavie, de la Estación Experimental de Montfavet-Cantarel, en Francia, "La pasteurización mata las levaduras, destruye los cristales, un 80 por ciento de la invertasa y el 25% de la amilasa, no modifica los azúcares y provoca la formación de hidroximetilfurfural (HMF), sustancia característica de las mieles calentadas o viejas". Desde luego, las vitaminas y otros compuestos orgánicos termolábiles también desaparecen.

La pasteurización disminuye la riqueza aromática, al ser ésta, principalmente, debida a componentes volátiles que con las elevadas temperaturas se pierden. Asimismo, la pasteurización, sobre todo la realizada defectuosamente, se traduce en una pérdida de la diversidad en sabores, al producir una parcial caramelización de los azúcares, situación a la que debe atribuirse, igualmente, el oscurecimiento en tonalidad de la miel, fenómeno que acompaña a este proceso.

Si consideramos a la miel como un alimento vivo, no solo un edulcorante, hay que indicar que la pasteurización la convierte en un producto en el que se ha reducido su riqueza enzimática que es la verdadera garantía de un procesado artesanal y el fundamento de la acción bacteriostática de la misma.

En la actualidad, el consumidor está acostumbrado a ver que en los comercios la mayoría de las mieles son líquidas, olvidándose, desconociendo e incluso rechazando el otro tipo de mieles, las cristalizadas, que son las que ofrece generalmente el productor artesanal que por lo dicho anteriormente suelen reunir unas características superiores a las mieles líquidas.

También hay que ser prudente al relacionar de manera inequívoca, calidad con cristalización, dado que una miel pasteurizada y con algunos defectos cualitativos, puede cristalizarse natural o artificialmente; Es decir, que puede haber miel cristalizada de deficiente calidad. Por otra parte, si el proceso de pasteurización esta bien hecho y la materia prima es buena, se pueden producir mieles líquidas que conservan gran parte del aroma y del contenido enzimático inicial.

Toda esta información va encaminada a aumentar la base de conocimientos del consumidor. Éste debe tener capacidad suficiente para tener criterios de selección diferenciales sobre el producto que desea comprar. Es decir, debe conocer que existen:

- Miel monofloral con una singularidad y personalidad específica frente a las multiflorales.
- Miel cristalizada y líquida con sus características diferenciales.
- Miel artesanal frente a las industriales.
- Miel con características terapéuticas diferentes, unas de otras.

Por otra parte hay que hacer especial hincapié en el concepto de miel de calidad, significando que se aplica a aquellas mieles que están amparadas por una figura de calidad: Denominaciones de Origen, Genéricas, Específicas, por etiquetas, marcas etc. dados por las diferentes comunidades productoras y que naturalmente cumplen unas normas de calidad y un procesamiento más estrictos que otras que se encuentran en los mercados.<sup>10</sup>

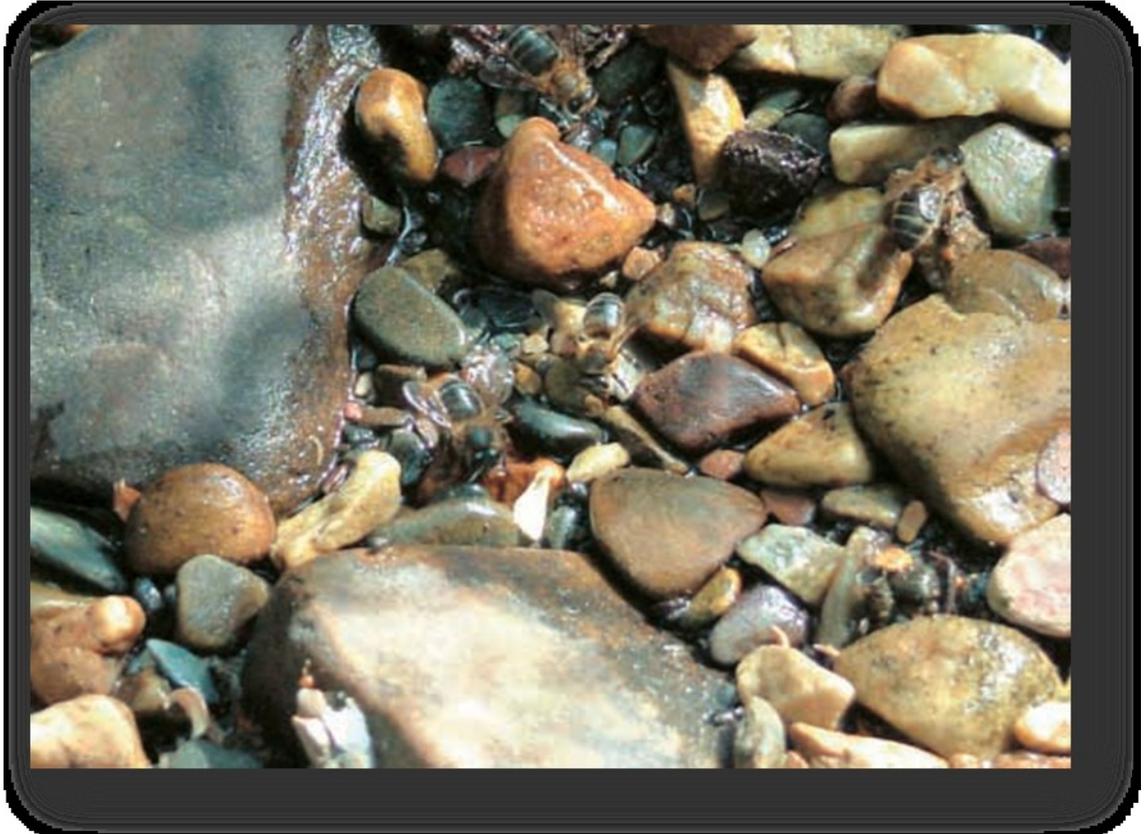


Figura 6. Abejas aguadoras

## II.2 CLASES DE MIEL

---

La Norma Mexicana NMX-F-036-2006 ALIMENTOS – MIEL- ESPECIFICACIONES Y METODOS DE PRUEBA, menciona que la miel por su presentación, se clasifica en las siguientes modalidades:

- Miel en panal: es la miel que no ha sido extraída de su almacén natural de cera y puede consumirse como tal.
- Miel líquida: es la miel que ha sido extraída de los panales y que se encuentra en estado líquido, sin presentar cristales visibles.
- Miel cristalizada: es la miel que se encuentra en estado sólido o semisólido granulado, es resultado del fenómeno natural de cristalización de los azúcares que la constituyen. También establece que la miel puede designarse con el nombre de la región geográfica, si ha sido producida exclusivamente en el área a que se refiere la denominación. Asimismo, señala que la miel también puede designarse de acuerdo con el origen, ya sea este floral o extrafloral de plantas, si procede total o parcialmente de esas fuentes en particular y si posee las características sensoriales y fisicoquímicas que corresponden a dicho origen.

Aun cuando en dicha Norma no se hace referencia al destino final de la miel, éste puede clasificarse en dos: para consumo directo o como materia prima para la elaboración industrial de productos alimenticios (cereales, derivados lácteos, repostería, etc.).<sup>3</sup>

## II.3 PROPIEDADES FÍSICAS

---

El paso de las mieles de estado líquido al cristalino depende de la temperatura y de su origen. Se considera que cuanto más ricas en glucosa, más rápidamente cristalizan. Por encima de 25°C, las mieles cristalizan con dificultad. La temperatura óptima de cristalización se sitúa en unos 14°C. El peso específico de la miel es de 1.422 kg/m<sup>3</sup> aproximadamente a 20°C. Su viscosidad disminuye hasta una temperatura de 38°C. A partir de los 50°C, su constitución cambia y determinados principios beneficiosos para el hombre empiezan a inactivarse y a destruirse. Las mieles de castaño y de trébol blanco

cristalizan lentamente, mientras que muchas otras, como la de colza o de diente de león, cristalizan muy rápidamente e incluso se puede encontrar ya cristalizada en los panales en el momento de la recolección.

Hay que observar que las mieles a menudo presentan sabores múltiples y por cristalización ciertos aromas o sabores desaparecen, mientras que aparecen otros nuevos.<sup>16</sup>

#### II.4 COLORES DE LA MIEL

---

De acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-036-2006, ALIMENTOS – MIEL-ESPECIFICACIONES Y METODOS DE PRUEBA, el color es variable por lo que puede ser: blanca agua; extra blanca; blanca; extra clara ámbar; ámbar clara; ámbar y oscura. La miel se oscurece con el envejecimiento y la exposición a altas temperaturas. La magnitud de este proceso está influenciada por su origen botánico



Figura 7 Colores en la miel

Su olor y sabor deben ser los característicos, pero el calentamiento a altas temperaturas y el envejecimiento pueden afectarlos.

La consistencia de la miel en sí puede ser líquida, cremosa o sólida. Puede estar parcial o totalmente cristalizada. La miel generalmente cristaliza con el tiempo, este proceso es una característica natural altamente ligada a la composición de azúcares. Así, las mieles con mayor contenido de glucosa, generalmente, cristalizan en forma más rápida.<sup>2</sup>

El color de la miel se debe en parte a la formación de una serie de compuestos pardos que se originan cuando la materia orgánica de la miel reacciona con las sales minerales. Así pues, cuantas más sales minerales tenga una miel, más compuestos pardos se formarán y más oscura será la miel.<sup>17</sup>

El color oscuro no significa que sea de calidad inferior. Por el contrario, se sabe que cuanto más oscura es la miel, más rica puede ser en hierro (III) y, por lo tanto, más adecuada para satisfacer las necesidades de los organismos en crecimiento, de los individuos anémicos y de los intelectuales sometidos a esfuerzos mentales. La miel de color claro puede ser más rica en vitamina A. Las mieles oscuras pueden ser más ricas en vitaminas, B1 y C.<sup>9</sup>

## II.5 ESPECIFICACIONES QUÍMICAS DE LA CALIDAD DE MIEL EN MÉXICO.

---

La miel de abeja debe cumplir con las especificaciones químicas establecida en la tabla 2:

Tabla No. 2  
Especificaciones químicas de la calidad de la miel en México:

---

Componente	Porcentaje (%)
<b>Contenido aparente de azúcar reductor expresado como % de azúcar invertido</b>	mín. 63.88
<b>Contenido de sacarosa</b>	máx. 8
<b>Contenido glucosa</b>	máx. 38
<b>Humedad</b>	máx. 20
<b>Sólidos insolubles en agua</b>	máx. 0.3 (excepto la miel en panal)
<b>Cenizas</b>	máx. 0.60
<b>Acidez expresada como miliequivalentes</b>	máx. 40
<b>Hidroximetilfurfural (HMF) expresado en mg/kg</b>	máx. 150
<b>Dextrinas</b>	máx. 8
<b>Índice de diastasa</b>	máx. 4.

---

Objetivos y Metodología seguida para el estudio de la calidad de las muestras de miel



Sellos de Bélgica con motivos apícolas

## III OBJETIVOS

---

### III.1 Objetivo general

---

Aplicar una metodología analítica para el estudio de la calidad de la miel envejecida y comparar su composición con la de mieles frescas.

### III.2 Objetivos particulares

---

- Aplicar métodos analíticos para determinar los diversos componentes de la miel considerados como parámetros de calidad.
- Cuantificar el contenido de HMF, azúcares reductores, humedad, pH, acidez, contenido de fructosa, contenido de glucosa y cenizas en muestras de miel del Estado de Michoacán que presenten por envejecimiento una o dos fases.
- Comparar los resultados obtenidos para cada fase (líquida y sólida) con las de mieles envejecidas sin separación de fases.
- Comparar los resultados analíticos obtenidos con los de mieles frescas de la misma región.

## IV.1 Metodología General

La metodología desarrollada se encuentra resumida en el siguiente cuadro:



Figura 8. Metodología seguida para el estudio de la calidad en mieles

## IV.2 Equipos e instrumental

- Parrilla de agitación y calentamiento “Corning”
  - Potenciómetro “Tacussel”
  - Refractómetro “Atago N-3E”
  - pH metro “713 Metrohm”
  - Conductímetro “644 Metrohm”
- Polarógrafo “797 VA COMPUTRACE de la marca METROHM”
  - Glucometro “Accu-Check”

## VI.3 Muestras

Las muestras utilizadas fueron traídas del Estado de Michoacán; son de la cosecha de primavera de 2010 que con el paso del tiempo fueron cristalizando y algunas se separaron en dos fases (fase líquida y fase sólida) en el laboratorio 114 de la Facultad de Química.

Muestra	Datos de origen
<b>Miel en dos fases (FL y FS)</b>	L05FL
	Municipio de Nueva Italia Michoacán
	L05FS
	L07FL
	Rancho Santa Ana Amatlán Municipio Buena Vista Michoacán
	L07FS
<b>Miel en fase única (FU)</b>	L24FL
	Tiamba Uruapan Michoacán
	L24FS
	L31FU
	Pátzcuaro Michoacán
<b>Miel en fase única (FU)</b>	L32FU
	Morelia Michoacán
	L33FU
	L34FU
Zitácuaro Michoacán	

Los resultados de las mieles frescas (no especificados en esta tesis) que han de servir para comparar, han sido obtenidos en el mismo laboratorio.

## IV METODOLOGIA SEGUIDA PARA EL ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE MIEL

---

### IV.4 Determinación de humedad.

---

Existen diversas razones por las que puede ser elevado el porcentaje de humedad, la más común es la cosecha de la miel antes de que alcance la humedad adecuada (falta de maduración de la miel en panal), también puede originarse durante la extracción y al exponerla durante mucho tiempo en ambientes húmedos, aunque con cierta frecuencia también puede atribuirse al almacenamiento de la misma en condiciones inadecuadas como altas temperaturas o un rápido envasado.

Un alto porcentaje de agua favorece el desarrollo de mohos y levaduras, por lo que la miel con altos porcentajes de humedad se fermenta fácilmente. El contenido de humedad es otro factor importante que afecta el color, ya que a mayor concentración de solutos más rápida es la reacción de Maillard (pardeamiento no enzimático)

La humedad en la miel se determinó con el refractómetro tomando en cuenta la corrección de la temperatura: el refractómetro está calibrado a 20°C y la temperatura se hizo aproximadamente a 25°C; el factor de corrección para el refractómetro utilizado a la temperatura fue de 0.38°Brix (la corrección puede ser diferente según la diferencia de temperatura) y debe de sumarse al valor obtenido en la escala del aparato, del cual se obtiene el valor de humedad de cada muestra de miel.

### IV.5 Determinación de cenizas.

---

El contenido total de elementos minerales (cenizas) en la miel puede ser variable, con los valores al 0.1% para mieles de origen floral. En pequeña cantidad estos minerales tienen alto valor biológico, al encontrarse en forma de sales asimilables por el organismo. La composición final de elementos minerales en la miel depende de muchas variables, pero se puede considerar que se modifica en función de los siguientes factores a) existencia de los mismos en el suelo y en la atmósfera (metales pesados como  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Sb}^{5+}$ ) b) absorción específica de ciertos nutrientes; c) mecanismos de secreción en las células del néctar (la salida del néctar ocurre a través de la cutícula) y velocidad de transporte iónico d) presencia de polen y e) manipulación y filtrado, materiales usados, etc. por parte del

apicultor. El contenido de cenizas en la miel es generalmente pequeño y depende de la composición del néctar de la planta predominante que contribuye a la formación de la miel. El tipo de suelo en el cual la planta nectarífera original ha estado ubicada, también influye la cantidad de minerales presentes en las cenizas. Además, la variabilidad en el contenido de cenizas ha sido asociado de manera cualitativa con los diferentes orígenes botánicos y geográficos de la miel.

Los elementos minerales de la miel también han sido utilizados para detectar contaminantes inorgánicos y como indicador ambiental (como metales pesados, isótopos radiactivos y plaguicidas).

La determinación de este parámetro en la miel se determinó por conductancia a una temperatura aproximada de 25°C. Para poder obtener la conductancia se sustrajo el valor de la conductancia a la del agua desionizada empleada y se multiplicó por la constante de celda pasándose a miliSiemens. El total de sólidos se evaluó por medio de una ecuación para determinación de porcentaje de cenizas como conductividad específica.

#### IV.6 Determinación de pH.

---

Todas las mieles presentan reacción ácida, carácter que tiene un marcado efecto en el sabor. Algunas muestras de miel como las de mielato (el mielato son las secreciones provienen del ataque de insectos, normalmente ácidos “pulgonos” que parasitan las hojas y extraen la savia, son mezcla de miel y mielato) son ricas en elementos minerales y muestran valores altos de pH. Algunos tipos de miel presentan unas características diferenciadas según el origen floral. Los ácidos de la miel suman menos del 0,5% de los sólidos, pero este nivel no sólo contribuye al sabor, sino también es en parte responsable de la excelente estabilidad de la miel contra los microorganismos.

El pH de la miel se midió de forma directa con un pHmetro calibrado. Para la calibración del aparato se utilizaron dos disoluciones tampón o buffer, una con pH de 4 y la otra con pH de 7, y se siguieron las indicaciones con las que cuenta el pHmetro. Las mediciones para cada una de las muestras de miel se hicieron con la misma solución de cenizas.

#### IV.7 Determinación de azúcares reductores.

---

Los monosacáridos y la mayoría de los disacáridos poseen poder reductor, que deben al grupo carbonilo que tienen en su molécula. Este carácter reductor puede ponerse de manifiesto por medio de una reacción redox. Uno de los métodos más antiguos basados en la reacción hace uso del reactivo de Fehling. El reactivo de Fehling es una solución alcalina de cobre (II), que oxida una aldosa a un aldonato y en el proceso se reduce a cobre (I), el cual precipita como  $\text{Cu}_2\text{O}$ , de color rojo ladrillo.

Un aspecto importante de esta reacción es que la forma aldehído puede detectarse fácilmente aunque exista en muy pequeña cantidad. Si un azúcar reduce a óxido de cobre (I) rojo, se dice que es un azúcar reductor. La oxidación es una reacción química donde un compuesto cede electrones en cambio la reducción es cuando una especie química acepta electrones. Se utiliza como reactivo para la determinación de azúcares reductores, y es útil para demostrar la presencia de glucosa en la orina, y también para detectar derivados de la glucosa como la sacarosa o la fructosa.

Para realizar las determinaciones se montó un mecanismo formado por los siguientes elementos: una parrilla de agitación y calentamiento, un milivoltímetro con electrodo de referencia de calomel/ $\text{KCl}_{\text{aq}} 3 \text{ M}$  y un alambre de cobre como electrodo de trabajo, un termómetro, una bureta de 25.0 mL, una barra magnética de agitación y un vaso de precipitados de 250 mL.

En el vaso de precipitados se mezclaron 5.00 mL del reactivo A de Fehling (sulfato de cobre (II) pentahidratado con concentración 0.2083 M y 5.00 mL del reactivo B de Fehling (tartrato de sodio y potasio tetrahidratado en NaOH) previamente preparados. El vaso se colocó sobre la parrilla de calentamiento y agitación para que la mezcla se mantuviera agitada a una temperatura constante cercana a la ebullición, a lo largo de toda la titulación (la temperatura se supervisó todo el tiempo con el termómetro para evitar cambios mayores a 5 unidades de grado). Se preparó una disolución de miel con aproximadamente 0.5 g de miel llevados a un aforo de 200.00 mL con agua destilada, y con ella se llenó la bureta. Cuando la mezcla del vaso llegó a la temperatura deseada y se mantuvo más o menos constante, se comenzó la titulación del Cu (II) proveniente del

reactivo A de Fehling con la disolución de miel. La titulación se realizó por medio de mediciones potenciométricas con el electrodo de cobre; pero además se agregó azul de metileno cuando la mezcla del vaso perdió su color azul, para que indicara también el punto de equivalencia ya que con esta reacción en particular resulta ser un indicador muy preciso.

Finalmente, con los resultados de la titulación y la estequiometría de la reacción se calculó el porcentaje de azúcares reductores en cada una de las muestras de miel.

#### IV.8 Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF)

---

La miel, como producto azucarado, es también susceptible de transformaciones y envejecimiento que afectan las características organolépticas, terapéuticas, antisépticas, enzimáticas y vitamínicas. El envejecimiento y el calentamiento incrementan las cantidades de hidroximetilfurfural (HMF) y se favorece en mieles con mayor acidez. Esta propiedad hace que el contenido de HMF sea utilizado como el principal indicador de la pérdida de la calidad de la miel. La curva de formación del HMF en función del tiempo no es lineal. El HMF es el resultado de la descomposición de los monosacáridos (especialmente de la fructosa) en medio ácido. Las mieles frescas no contienen HMF o solamente un contenido muy bajo, menor a 0.6 mg/kg.<sup>25</sup>

Se dice que la fructosa se convierte en HMF por lo que la razón de fructosa a glucosa de la miel afectará la razón o velocidad con que se genera el HMF. Mientras más se calienta la miel o aumenta el tiempo de exposición al calor, aumentará la cantidad de HMF. Adulterar la miel con azúcar invertida aumenta drásticamente los niveles de HMF. El calentar o re-liquificar la miel utilizando un microondas también aumenta drásticamente el nivel de HMF y disminuye el de las enzimas deseables. El hidroximetilfurfural es un intermediario en la formación de los pigmentos oscuros que producen el pardeamiento y su aparición en la miel está directamente relacionado con alteraciones de color, desarrollo de sabores y olores extraños y con la pérdida del valor nutritivo (degradación de aminoácidos principalmente lisina, aromas generados por la reacción de Maillard por el calentamiento de glucosa, formación de CO<sub>2</sub>, aldehídos, cetonas). Después de la formación del HMF se da la aparición de la coloración oscura.

La determinación de HMF se realizó conforme al método desarrollado en el laboratorio (referente a tesis en bibliografía 22 y 24) mediante el uso de la electroquímica analítica y el método de adiciones patrón. Se detectó la señal de reducción del HMF mediante el trazado de los respectivos polarogramas de intensidad de corriente contra potencial, utilizando el método de *polarografía diferencial de impulsos*. Se colocaron 10 mL de electrolito soporte (disolución amortiguadora de pH (buffer) de boratos comercial en agua a pH=9.98). El dominio de electroactividad en este medio es de -1000 mV a -1900 mV ; la señal de HMF en el medio se presenta aproximadamente en -1175 mV por lo que el estudio se realizó en esta zona de potenciales comprendida de -1000 a -1300 mV.

Primero se hacen las adiciones de miel consecutivamente ( 2 g de muestra de miel diluidos en 5 mL de agua desionizada) hasta que se defina la señal correspondiente al HMF. Posteriormente se adicionaron alícuotas de disolución patrón [0.01M] de HMF comprobando así que la señal identificada corresponde al HMF; los incrementos de la señal con las adiciones patrón permite obtener, con un análisis estadístico, la cantidad de HMF en la miel estudiada.

#### IV.9 Determinación de fructosa

---

La fructosa es la única cetosa sencilla presente en la naturaleza. Se la encuentra libre, mezclada con glucosa (miel, dulces, tomates) o unida como componente del azúcar de caña y de diferentes hidratos de carbono similares al almidón. Como la fructosa tiene un sabor más dulce que la glucosa, es muy utilizada como endulzante<sup>20</sup>.

Para la determinación y cuantificación de fructosa en las diferentes muestras se realizó el mismo procedimiento que se usó para la determinación de HMF pero con algunos cambios:

Se pesa 1 g de miel, se disuelve en agua desionizada y se afora en matraz volumétrico a 10.0 mL. Para la preparación de la solución patrón  $2.22 \times 10^{-2}$  M se emplea fructosa R.A. "Sigma-Aldrich" como electrolito soporte se utilizan 10.0 mL de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1M.

En la celda electrolítica se colocan 10.0 mL de  $\text{CaCl}_2$  (electrolito soporte) y se burbujea nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) durante 400 segundos para eliminar el oxígeno presente en el electrolito soporte.

La señal de detección polarográfica de la reducción de la molécula de fructosa se realizó en condiciones de barrido de potencial de -1000 a -1900 mV con una velocidad de barrido de 5 mV/s añadiendo 25.0  $\mu\text{L}$  de la solución patrón de fructosa.

Se trazo las curvas (polarogramas) de cada disolución de muestra de miel con las adiciones de la solución patrón de fructosa, con el mismo barrido de potencial (-1000 a -1900 mV). La cantidad de fructosa presente en cada muestra de miel se calculó como porcentaje en masa.

#### IV.10 Determinación de glucosa

---

La medición de glucosa se determinó mediante el empleo de un glucómetro comercial y se trazó una curva de calibración para la glucosa, en la que se tomaron en cuenta los valores mínimos y máximos de glucosa de lectura posible con el aparato. Se elaboró una curva patrón con disoluciones patrón de glucosa y agua destilada. Se trazó la curva y determinó el valor para la muestra de miel ( $C_{\text{real(mg/mL)}}$  vs.  $\text{Lectura}_{\text{aparato}}$  (mg/dL))

#### IV.11 Determinación de acidez

---

La miel tiene un pH ácido generalmente entre (3.5 - 4.5); esta acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos y representa un importante factor antimicrobiano.<sup>32</sup>

La acidez contribuye, junto con los azúcares, peróxido de hidrógeno y otros factores, a dar estabilidad microbiológica al producto final. En la miel se distinguen tres tipos de acidez: libre, láctica y total. La acidez libre valora principalmente los ácidos orgánicos libres presentes en la miel. El más importante es el glucónico, que se forma a partir de la glucosa por acción de la enzima D (glucosa oxidasa). El resto de los ácidos orgánicos pueden ser de origen animal (como el ácido fórmico) o provenientes de las plantas libadas (como el cítrico, málico, oxálico o succínico). Los ácidos orgánicos que se

encuentran en forma de lactonas constituyen la acidez láctónica. Esta supone una reserva potencial de acidez, ya que, cuando la miel se alcaliniza, las lactonas originan los ácidos correspondientes. La suma de los dos tipos de acidez conforma la acidez total.<sup>21</sup>

En la norma mexicana (NORMA MEXICANA DE MIEL. Alimentos-miel-especificaciones y métodos de prueba) existe un método para la determinación de acidez, en el presente trabajo proponemos otro método de análisis más claro y fácil que se pueda realizar en el menor tiempo posible, que se indica de la siguiente manera: en un vaso de precipitado de 250 ml pesar 10 g de miel, agregar 25 ml de agua destilada libre de dióxido de carbono y aforar en un matraz de 50.00 mL. Introducir los electrodos del potenciómetro en la solución preparada de miel y calibrar el potenciómetro con soluciones reguladoras para asegurar la calibración en la determinación del valor del pH. Titular con hidróxido de sodio 0.01N, añadiendo de 0.1 a 0.1 ml hasta estabilizar el cambio de pH deteniendo la adición cuando el pH este cercano a 10.

## Resultados



“Cuentos de Pasión y Miseria” De una exposición en Rosenfeld Gallery. La vida futura de las abejas de la miel gouache y tinta de los medios de comunicación mixta sobre papel de Carrie Ann Baade

## V RESULTADOS

### V.1 Humedad

La presencia de agua es un factor determinante de la conservación, pues cuando su porcentaje es alto se incrementa el riesgo de fermentación por las levaduras. Los resultados obtenidos en °Brix sobre la escala graduada dentro del refractómetro visible en el visor, los sólidos contenidos en la muestra de miel, estos valores se corrigieron por temperatura. Después, esta diferencia el valor corregido de °Brix al 100% corresponde al porcentaje de humedad que tiene la miel.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1

#### *Contenido de humedad en mieles*

**Tabla 1**  
**Contenido de humedad en mieles**

<i>Muestra de miel</i>	<i>°Brix medidos</i>	<i>°Brix corregidos</i>	<i>% Humedad</i>
L05FL	82.8	83.18	16.82
L05FS	82.1	84.48	17.52
L07FL	84.2	84.58	15.42
L07FS	83.0	83.38	16.62
L24FL	82.4	82.78	17.22
L24FS	83	83.38	16.62
L31FU	84.2	84.58	15.42
L32FU	83.8	84.18	15.82
L33FU	84.2	84.58	15.42
L34FU	83.0	83.38	16.62

\*Corresponde a los °Brix medidos más el factor de corrección por temperatura indicado para el refractómetro utilizado, que en este caso fue de +0.38 °Brix (a 25 °C).

Humedad: expresada en, % (g/100g). Valor máximo permitido por la NMX-F-036-981.

MIEL DE ABEJA. ESPECIFICACIONES: menor a 20%

## V.2 Determinación de pH

---

El valor de pH se determinó con la dilución de miel de concentración aproximada de 0.1g/mL y se leyó el valor en el pHmetro previa calibración con disoluciones amortiguadoras pH 4 y pH 10.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2

**Tabla 2**  
**Resultados de pH**

<i>Muestra de miel</i>	<i>Concentración (g mL<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>
L05FL	0.229	4.28
L05FS	0.226	4.95
L07FL	0.243	5.30
L07FS	0.211	4.97
L24FL	0.201	5.77
L24FS	0.216	6.06
L31FU	0.229	4.40
L32FU	0.262	4.50
L33FU	0.201	3.81
L34FU	0.246	5.39

El pH de la miel depende de los ácidos ionizados de este alimento y sus elementos minerales e influye sobre el desarrollo de los microorganismos, la actividad enzimática y la textura, entre otras propiedades

---

### V.3 Determinación de cenizas

Se prepararon disoluciones de la muestra de miel de concentración aproximada a 0.1g/mL, se midió el valor de conductividad específica en  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . El valor obtenido se corrige con la sustracción de conductividad del agua desionizada empleada. El valor corregido se introduce en la fórmula para determinación de porcentaje de cenizas como conductividad específica (de acuerdo con la literatura<sup>22</sup>).

$$\% \text{Cenizas} = [\text{Conductividad Especifica (mS}\cdot\text{cm}^{-1}) - 0.14] \div 1.74$$

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3

**Tabla 3**  
**Cenizas en miel**

<i>Muestra de miel</i>	<i>Concentración (g mL<sup>-1</sup>)</i>	<i>Conductividad específica (mS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>% Cenizas</i>
L05FL	0.1043	0.24	0.0503
L05FS	0.1023	0.23	0.041
L07FL	0.1140	0.752	0.344
L07FS	0.1064	0.74	0.338
L24FL	0.1024	0.678	0.302
L24FS	0.1029	0.678	0.301
L31FU	0.1063	0.331	0.102
L32FU	0.1174	0.473	0.184
L33FU	0.1116	0.285	0.076
L34FU	0.1040	0.438	0.164

- Cenizas (Minerales) expresado en % (g/100g): Máximo permitido 0.60

Esta medida se relaciona con problemas de origen pero también con la higiene. La miel adulterada con melaza también puede presentar un alto porcentaje de cenizas.

#### V.4 Determinación de azúcares reductores

El método de Fehling permite la cuantificación de carbohidratos basados en la capacidad reductora de los azúcares. La determinación en las muestras de miel se realizó mediante una titulación de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  en la cual cinco moles de cobre reaccionan con una mol de azúcares reductores presentes en la miel (glucosa y fructosa).<sup>23</sup>

A continuación se presenta un ejemplo de una curva de valoración potenciométrica (potencial  $E$  contra volumen gastado de disolución de miel) del reactivo de Fehling con una disolución de una muestra de miel y en ella se indica el volumen gastado el punto de equivalencia de la reacción a una distancia aproximada de 5/6 del salto de potencial lo que coincide con el vire del indicador azul de metileno que pasa de azul rey a incoloro.

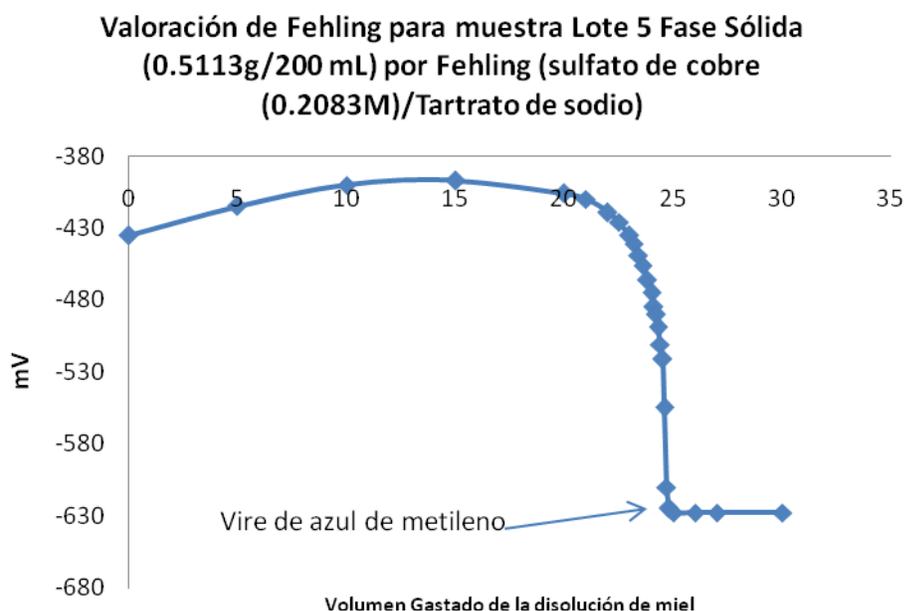


Figura 9. Valoración potenciométrica del reactivo de Fehling (5 mL de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) con una disolución de miel de la muestra de lote 5 (0.5113g/200mL) fase sólida.

Como 1 mol de monosacárido en cuestión pesa 180.16 g y con esa mol reaccionaron 5 moles de cobre (del reactivo A se colocaron 5.0 mL, por lo tanto se tienen  $0.2083 \text{ mmol/mL} \times 5 \text{ mL} = 1.0415 \text{ mmol}$  de cobre) la quinta parte de moles de cobre

presente es igual a lo que reacciona del monosacárido es decir reaccionan 0.2083 mmol de azúcares reductores de monosacárido reaccionante entonces

Para la estequiometría del cobre con el azúcar se sabe que:

5 mol  $\text{Cu}^{\text{II}}$  reaccionan con 1 mol de monosacáridos (glucosa o fructosa)

Como 1 mol de monosacárido reaccionante de Glucosa/fructosa son 180 g entonces se puede calcular la masa (en mg) de azúcares reductores en la miel consumida al punto de equivalencia:

$$(0.2083 \text{ mmol de azúcar reductor})(180.16 \text{ mmol})= 37.52 \text{ mg}$$

Con la titulación pudo obtenerse el volumen de la disolución al punto de equivalencia y para conocer la masa de miel consumida se multiplicó dicho volumen por la concentración de disolución, esta es la masa de miel que corresponde al 100%. El porcentaje que representa la masa de azúcares reductores se obtiene al dividir la masa gastada de azúcar reductor en la titulación entre la masa total de miel agregada (multiplicada al 100%).

Para el ejemplo en la gráfica anterior se obtienen 24.65 mL de solución de miel gastados al punto de equivalencia es decir para sacar la masa de miel consumida se obtienen:

$$\frac{511.3 \text{ mg miel pesados}}{200 \text{ mL de disolucion}} \times 24.65 \text{ mL al punto de equivalencia} = 63.01 \text{ mg de miel}$$

Esta es la masa obtenida de miel que reaccionó al punto de equivalencia de disolución de la miel. Los gramos de monosacárido reaccionante fueron 37.53mg que al dividirlos entre la masa de miel pesados se obtiene:

$$\frac{37.52 \text{ mg de monosacarido reaccionante}}{63.01 \text{ mg miel}} \times 100\%$$

**= 59.54 % de azúcares reductores totales.**

Los resultados obtenidos con las diferentes muestras se presentan en la tabla 4

**Tabla 4**  
**Contenido de azúcares reductores totales**

MUESTRA DE MIEL	% Azúcares reductores
L05FL	59.54
L05FS	58.60
L07FL	49.00
L07FS	32.67
L24FL	42.82
L24FS	49.99
L31FU	59.03
L32FU	58.71
L33FU	60.70
L34FU	53.09

Contenido de azúcar reductor expresado en % (g/100g) de azúcares reductores: la norma permite un mínimo de 63.88, ninguna de las muestras es consumible

La variación de estos valores puede deberse a adulteraciones, así como al tipo de alimentación que reciben las abejas y a su cosecha prematura, pero también al manejo del producto (calentamiento y tiempo de almacenamiento principalmente).

#### V.5 Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF)

---

La determinación de HMF para las muestras de miel se realizó por electroquímica analítica y el método de adiciones patrón. El método de las adiciones patrón consiste en añadir cantidades conocidas de analito al problema cuyo contenido se quiere determinar. A partir del gráfico obtenido (polarograma) se cuantifica el contenido de hidroximetilfurfural esta presente en la muestra de miel. Este método requiere una respuesta lineal frente al analito. Como medio amortiguado se utilizo un medio de boratos de pH 10. Para preparar la muestra se pesan con precisión unos 2 g de miel y se

llevan a un aforo de 5.0 mL y después se toma una alícuota de 1.0 mL (es decir cerca de 0.40g) en la celda para su determinación.

Si es necesario se hacen más adiciones de la disolución de miel para que se defina la señal correspondiente al HMF (o se confirme que no lo contiene). Posteriormente se adicionan alícuotas de la disolución patrón (0.01 M) de HMF (lo que comprueba además que la señal identificada en la miel corresponde al HMF); posteriormente, con un análisis de regresión lineal de adiciones patrón se obtiene la cantidad de HMF en la miel estudiada.

En los polarogramas resultantes, se lee la intensidad de corriente de pico para cada adición y se le sustrae la intensidad de la curva residual. Un ejemplo de los polarogramas que se obtuvieron se presenta en la figura 11.

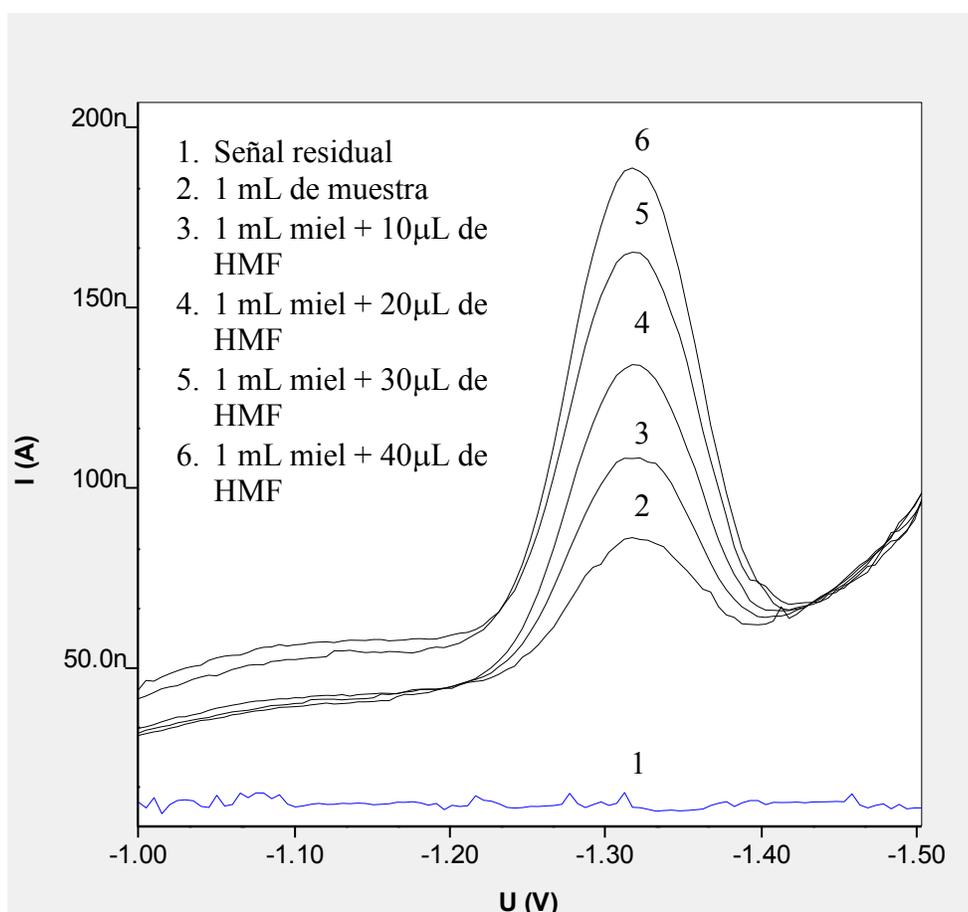


Figura 10 Señal de reducción del HMF. Polarograma obtenido por polarografía diferencial de impulsos de la muestra L5FL con adiciones (10µL) de patrón de HMF. Barrido de potencial de 1000 a -1500 mV, con una velocidad de barrido a 6mV/s. Se emplearon 10 mL de electrolito soporte

Con los datos obtenidos se realiza el gráfico de intensidad de corriente (nano Amperios) contra la intensidad añadida de HMF ( $\mu\text{g}$ ) a la celda electroquímica. En el ejemplo se emplearon  $0.8012 \mu\text{L}$  de miel ( $2.0 \text{ mL}$  de una disolución de concentración de  $0.4006 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Se hicieron 4 adiciones de  $10\mu\text{l}$  de una disolución de HMF ( $\text{PM} = 126.11\text{g}$ ) y la concentración de la disolución patrón de HMF fue  $[0.01014\text{M}]$ , para un total de  $51.15\mu\text{g}$  de HMF adicionado (en los  $40 \mu\text{L}$ ).

Ejemplo de cálculo para la muestra L5FL.

La cantidad de HMF, en  $\mu\text{g}$ , agregados en cada alícuota de  $10\mu\text{l}$  de HMF es:

$$\text{HMF}_{\text{agregado}} = (10\mu\text{l})(0.01014\mu\text{mol}/\mu\text{L})(126.11\mu\text{g}/\mu\text{mol}) = 12.787 \mu\text{g} \text{ de HMF agregado en la alícuota}$$

Con la cantidad de HMF presentes en cada adición estándar (hasta  $40 \mu\text{L}$ ) se hizo la tabla con la cual se graficaron las partes por millón de cada adición contra las lecturas de intensidad de corriente, previa substracción de la intensidad de corriente residual obtenida

Con la cantidad de HMF presente en cada adición estándar se hizo la siguiente tabla con la cual se graficó la cantidad de HMF agregado contra las lecturas de intensidad de corriente (previamente restada la residual obtenida  $-7.20 \text{ nA}$ ).

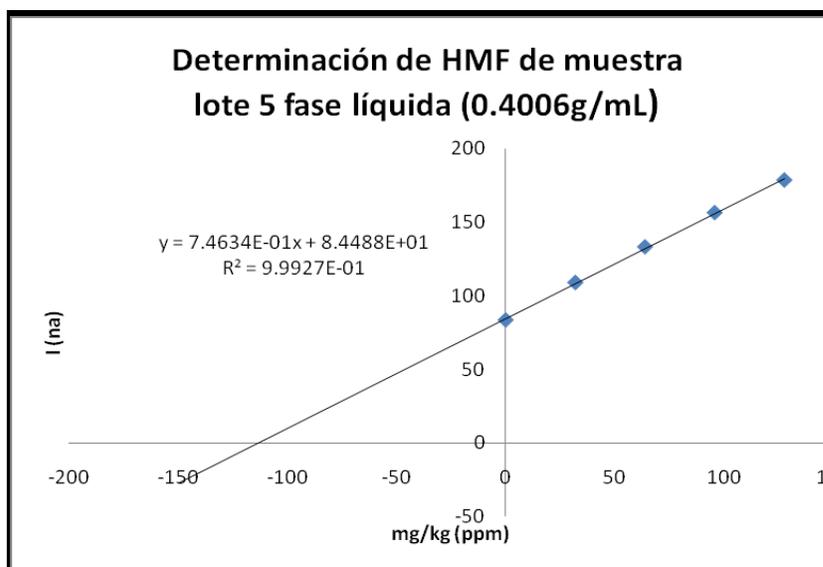


Figura 11 Curva de HMF presente por cada adición de intensidad de corriente vs ppm de HMF agregados

De la ecuación obtenida en la regresión lineal, el cociente de la ordenada al origen y de la pendiente de la curva de HMF se obtiene la abscisa al origen que corresponde (con signo negativo) a los  $\mu\text{g}$  de HMF en la muestra; al dividir esta cantidad entre la masa de miel (en gramos) agregada, se obtienen las ppm de HMF en la muestra.

$$\text{HMF proveniente de la miel} = (84.488 / 0.746) = 113.20 \text{ ppm}$$

Así, al enlistar los resultados de todas las muestras se tiene la tabla 5:

**Tabla 5**  
**Contenido de HMF**

MUESTRA	HMF ppm
L05FL	113.20
L05FS	49.94
L07FL	113.57
L07FS	54.68
L24FL	30.54
L24FS	40.99
L31FU	21.22
L32FU	122.96
L33FU	123.38
L34FU	29.39

Contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en miel envasada de menos de 6 meses según la Norma Mexicana : 40.00 mg/kg.

Los valores de HMF indican el grado de frescura de una miel, que se ve alterado por la acción del calor y el almacenamiento por tiempo prolongado.

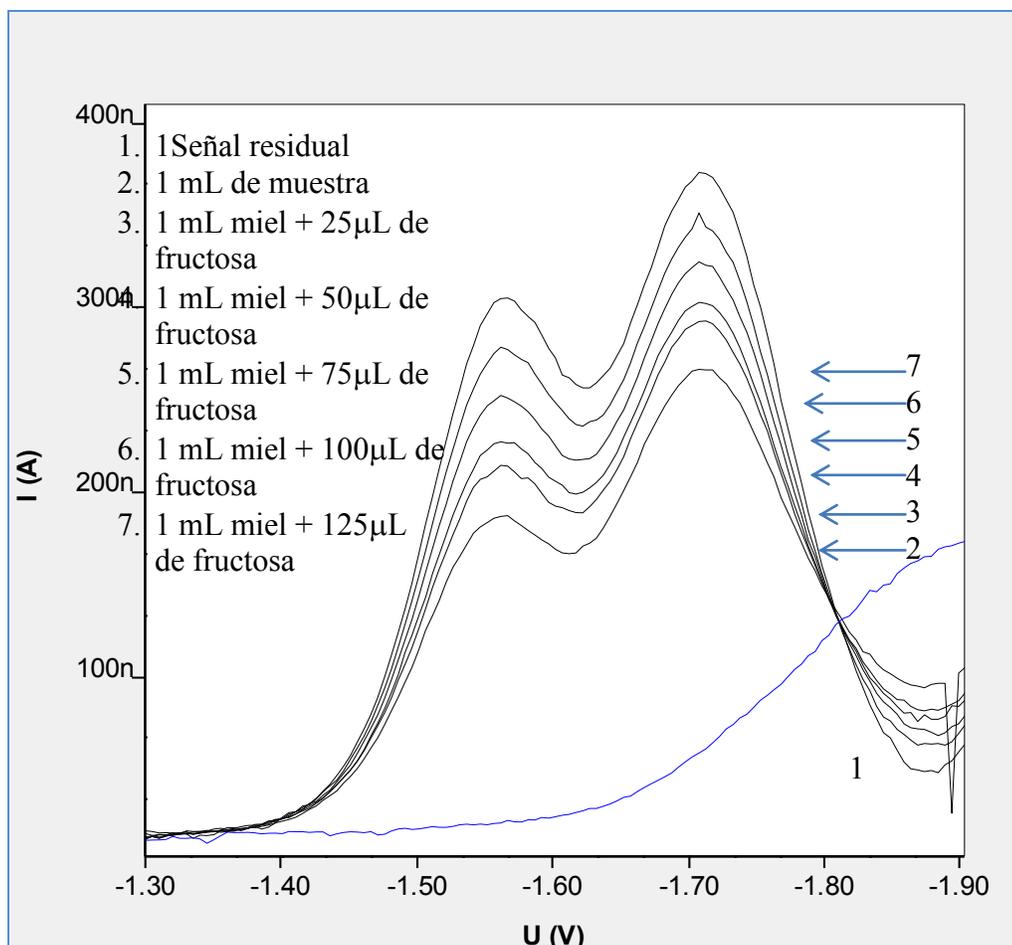
La miel recién extraída con buenas prácticas de manipulación no contiene HMF o sólo una pequeña cantidad. Si es sometida a altas temperaturas, parte de los azúcares de la miel se transforman aumentando el valor de HMF. Con el envejecimiento también se incrementa el valor del HMF, siendo este aumento más pronunciado si la miel es muy ácida.

#### V.6 Determinación de fructosa

---

La determinación de fructosa en miel se hizo por Polarografía Diferencia de impulsos y método de adición patrón. En una celda electrolítica donde se colocó el electrolito soporte  $\text{CaCl}_2$  con un volumen conocido de miel y los diferentes volúmenes de disolución patrón.

En el polarograma se lee el barrido desplazado verticalmente respecto al anterior. Para medir las alturas de los picos con relación a la muestra se resta el desplazamiento vertical. Con el valor absoluto de cada uno de los picos ( debe medirse desde la base hasta lo más alto), se realiza un gráfico donde se relacionan la magnitud de la corriente para la concentración correspondiente de cada adición.



Señal de reducción de fructosa

Figura 12. Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI). Barrido de potencial de -1300 a -1900 mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s [fructosa]= 0.0402M y 1 mL de muestra en 1.0035 g/mL de miel en 10 mL de solución de electrolito soporte.

Las siguientes gráficas corresponde a las curvas de adiciones patrón de fructosa de una muestra de dos fases (L24FL y L24FS), de la cual se obtienen los datos requeridos (pendiente, ordenada al origen y µg de fructosa en miel) para calcular el porcentaje de fructosa en miel.

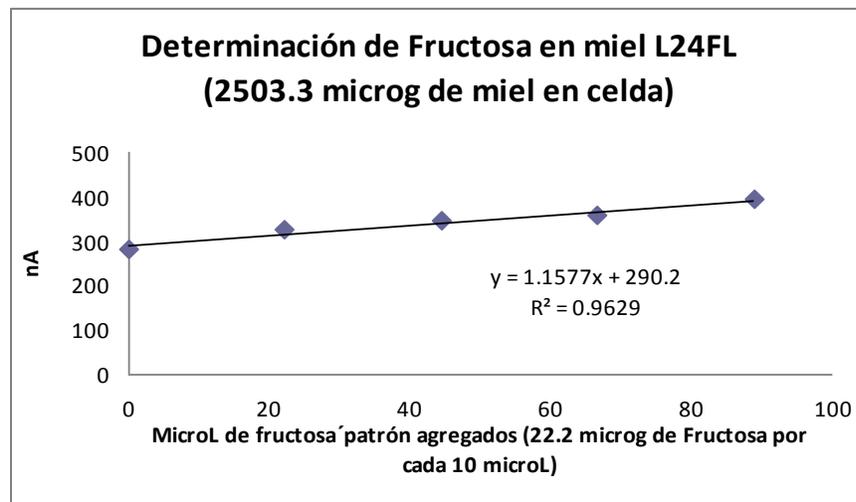
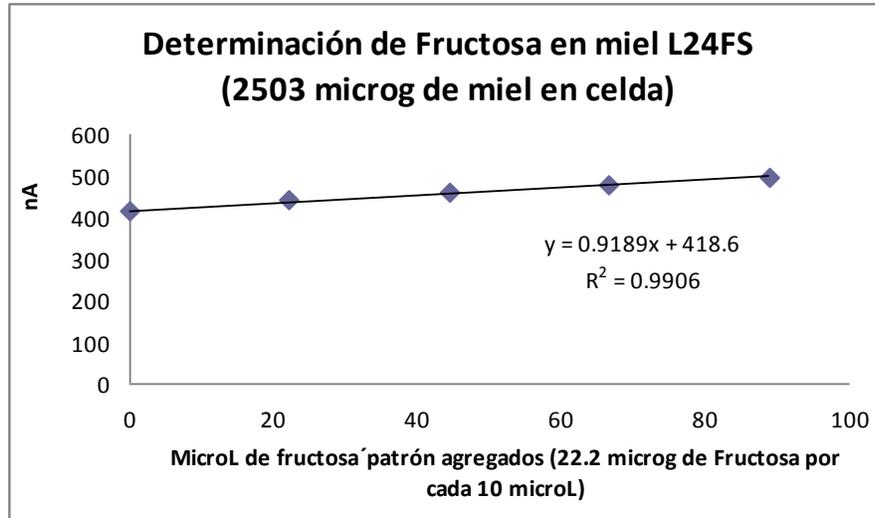


Figura 13. Regresión lineal para calcular el contenido de fructosa en mieles

Ejemplo de cálculo de la primera grafica (L24FS )

De la ecuación obtenida en la regresión lineal, el cociente de la ordenada al origen y de la pendiente de la curva patrón de fructosa se obtiene la cantidad de fructosa presente en la miel expresada en  $\mu\text{g}$ .

Fructosa presente en miel= $(418.6/0.9189)=455.54 \mu\text{g}$  implicados en la celda de reacción.

Se pesaron 1.0013g de miel y se aforaron en 10.0 mL es decir 100.13 mg/mL. Se adicionó 25µL es decir 2503.3µg de miel en celda.

$$\text{Fructosa en miel} = \left( \frac{(455.54 \mu\text{gmiel})(100\%)}{2503.3 \mu\text{gmiel}} \right) = 18.19\%$$

Se presentan a continuación los resultados de todas las muestras en la tabla 6

**Tabla 6**

**Contenido de fructosa**

MUESTRA	%FRUCTOSA
L05FL	10.05
L05FS	8.49
L07FL	21.56
L07FS	8.58
L24FL	9.77
L24FS	18.21
L31FU	6.62
L32FU	10.91
L33FU	8.63
L34FU	10.24

Generalmente en miel fresca el contenido de fructosa es alrededor de un 40% del contenido. Puede observarse que las muestras se encuentran muy abajo del contenido deseado, lo que significa que esta por debajo de lo deseado en miel.

## V.7 Determinación de glucosa

---

Se determinó mediante el uso de un aparato para medición de glucosa, “glucómetro”, mediante la preparación de una curva de calibración patrón en que se toma en cuenta los valores de glucosa mínimos y máximo de lectura para el aparato.

Para la preparación de la curva se toma en cuenta la mínima lectura que puede leer el aparato que es en este caso de 10 mg/dL a 600 mg/dL.

Se pesaron 0.1382 g de glucosa D(+) y se llevaron a un aforo de 25.0 mL, luego se tomaron de este mismo matraz aforado 7, 5, 3 y 0.5 mL respectivamente para aforar a 10.0 mL cada uno. Así se colocó en una gota cada una de estas soluciones en el glucómetro y se procedió a la lectura para la construcción de la curva patrón.

Se graficó la concentración real de glucosa vs. la lectura de concentración del glucómetro:

$C_{\text{real}}$ (mg/mL)	Lectura <sub>aparato</sub> (mg/dL)
3.87	422
2.76	330
1.65	189
0.55	54
0.27	27

Para la obtención de la curva de calibración y así alcanzar un coeficiente de regresión lineal. Esto corrige el error del glucómetro

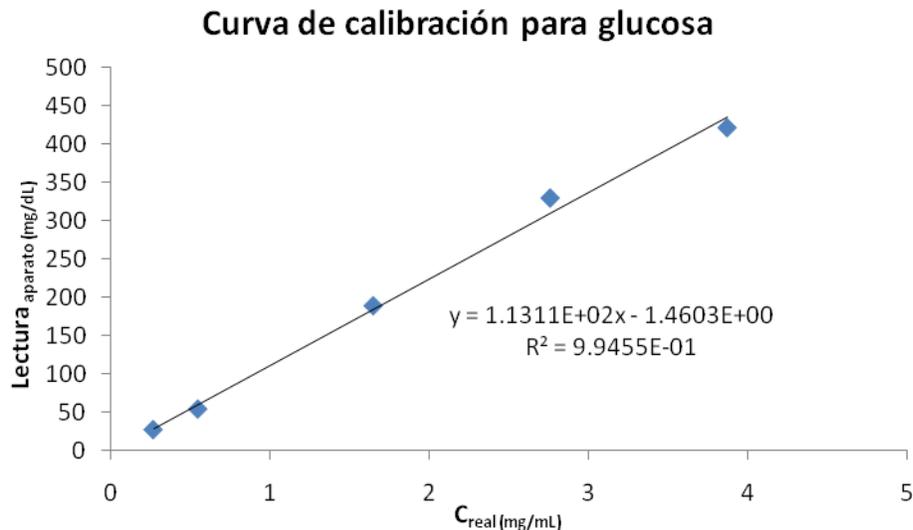


Figura 14. Curva de calibración para glucosa

De la ecuación con la letra (y) experimental se obtienen el coeficiente de regresión lineal se despeja X de la ecuación de la lectura (y) experimental ya que en este caso representa la concentración real de glucosa en la muestra de miel:

$$X = (Y + 1.4603) / 1.1311E+02$$

Como ejemplo tomaremos el peso de la muestra L05FS donde se pesaron 0.1175 g y se llevo al aforo de 10.0 mL, se tomaron unas gotas para medir y se obtuvo en lectura del aparato 294mg/dL. Así se sustituye en la ecuación de la recta:

$$X = (294 \text{ mg/dL} + 1.4603) / 1.1311E+02 = 2.612 \text{ mg/mL}$$

Sabemos que esta cantidad de mg de miel se encuentran en 10.0 mL y se calcula para los 1000 mL de disolución de miel

$$\frac{(0.1175 \text{ g miel})}{10 \text{ mL}} \times 10.0 \text{ mL} = 11.75 \text{ g}$$

Ahora sacando el porcentaje de la miel que se pesó se obtiene:

$$[(2.612 \text{ mg/mL})(100\%)] / 11.75 \text{ g} = 22.23\% \text{ de glucosa en muestra}$$

La tabla #7 presenta resultados de glucosa en las muestras analizadas:

**Tabla 7**  
**Contenido de glucosa**

<b>MUESTRA</b>	<b>GLUCOSA %</b>
L05FL	18.98
L05FS	22.23
L07FL	17.72
L07FS	17.57
L24FL	14.70
L24FS	16.39
L31FU	25.10
L32FU	12.46
L33FU	13.73
L34FU	12.13

El contenido común de glucosa en miel varía del 22 al 40% pero el contenido típico es alrededor del 31%. Todas las muestras se encuentran por debajo del contenido típico.

#### V.8 Determinación de acidez

---

Para evaluar la acidez en miel primero se pesaron alrededor de 10 g de muestra de miel y se disolvieron en agua destilada descarbonatada (libre de CO<sub>2</sub>) y se aforaron en 50.0 mL, posteriormente se tomó una alícuota de 5.0 mL (es decir alrededor de 1g de miel) en un vaso de precipitados (es decir, alrededor de 1g de miel) y se agregaron unas gotas de fenolftaleína como indicador universal.

Se tituló con NaOH 0.0141 M y se empleó un electrodo de vidrio y se registró el cambio de pH hasta llegar a 10.00; con los valores obtenidos se trazó la siguiente gráfica:

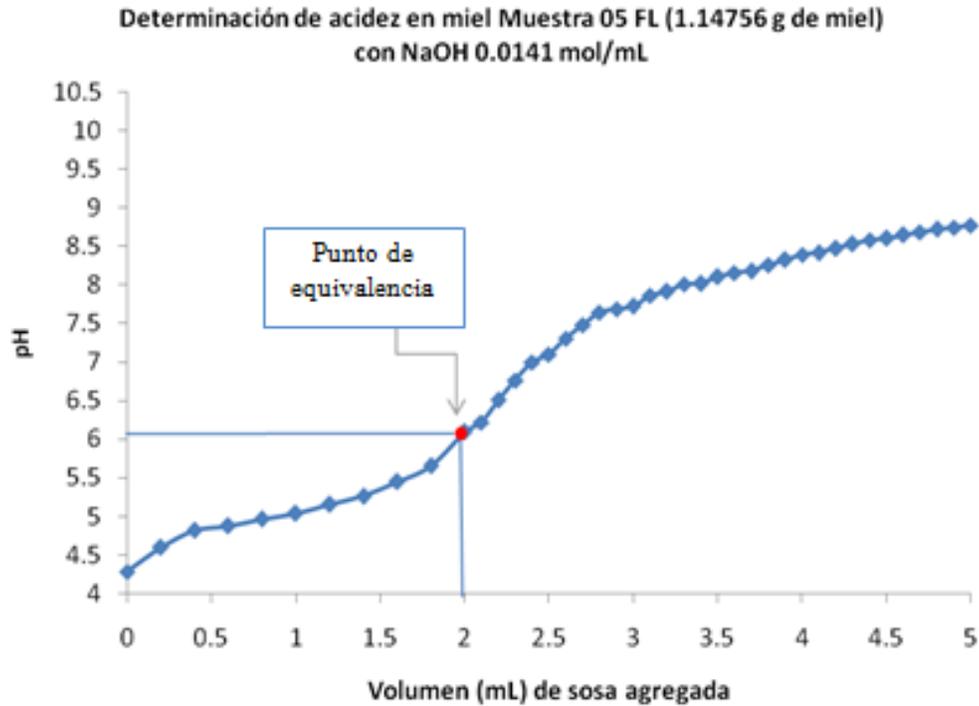


Figura 15. Determinación de acidez en miel

El punto de equivalencia está aproximadamente en 2 mL de NaOH gastados y un pH de 6.1 esto indica la presencia de un ácido. La acidez total es la suma de la acidez libre y lactónica. Existe una relación entre los tres tipos de acidez (libre, lactónica y total) el pH y el origen botánico de la miel. Así, se ha descrito que las mieles de pH más elevados suelen presentar una menor acidez lactónica.<sup>31</sup>

Para determinar la acidez libre se sustituye en la siguiente ecuación para poder obtener el valor :

X=

Sustituyendo los valores se obtiene:

$$\frac{(2 \text{ mL NaOH}) * \left(1.41 \times 10^{-2} \frac{\text{meq}}{\text{L}}\right) * (50 \text{ mL})}{(0.005 \text{ L}) * (1.14756 \text{ g})} = 24.57 \text{ meq/kg}$$

Sabemos que el ácido principal presente en la miel es el ácido glucónico, formado por la glucosa oxidasa, que existe en equilibrio con la gluconolactona. La cantidad de ácido glucónico depende principalmente del tiempo transcurrido entre la toma del néctar de las abejas y la consecución de la densidad final de la miel en el panal.

La tabla #8 da los resultados de acidez libre en las muestras

**Tabla 8**  
**Contenido de acidez en miel**

MUESTRA	mequiv/kg
L05FL	24.57
L05FS	9.94
L07FL	6.78
L07FS	14.67
L24FL	15.41
L24FS	29.93
L31FU	15.45
L32FU	27.97
L33FU	11.9
L34FU	23.49

- Acidez – expresada como miliequivalentes de ácido/kg: Máximo 40.00 mequiv/kg

La acidez relaciona también la probable fermentación por desarrollo de microorganismos. El sobrecalentamiento es otro factor que se refleja en un alto valor de acidez.

A continuación se presentan los resultados globales de las muestras de miel analizadas para la discusión de resultados.

**Tabla 9****TABLA DE RESULTADOS GLOBALES DE MUESTRAS DE MIEL ANALIZADAS**

MUESTRA	HUMEDAD	CENIZAS	pH	AZ RED	FRUC.	GLUC.	OTROS AZ. RED.	HMF	ACIDEZ
	%	%		%	%	%	%	ppm	mequiv/kg
<i>L05 FL</i>	16.82	0.0503	4.28	59.55	10.05	18.98	30.52	113.2	24.57
<i>L05 FS</i>	17.52	0.041	4.95	58.6	8.49	22.23	27.88	49.94	9.94
<i>L07 FL</i>	15.42	0.344	5.3	49	21.56	17.72	9.72	113.57	6.78
<i>L07 FS</i>	16.62	0.3375	4.97	32.67	8.58	17.57	6.52	54.68	14.67
<i>L24 FL</i>	17.22	0.3019	5.77	42.82	9.77	14.7	18.35	30.54	15.41
<i>L24 FS</i>	16.62	0.3019	6.06	49.99	18.21	16.39	15.39	40.99	29.93
<i>L31 FU</i>	15.42	0.1024	4.4	59.03	6.62	25.1	27.31	21.22	15.45
<i>L32 FU</i>	15.82	0.184	4.5	58.71	10.91	12.46	35.34	122.96	27.97
<i>L33 FU</i>	15.42	0.076	3.81	60.7	8.63	13.73	38.34	123.38	11.9
<i>L34 FU</i>	16.62	0.1639	5.39	53.09	10.24	12.13	30.72	29.39	23.49
<b>Promedio</b>	<b>16.35</b>	<b>0.19</b>	<b>4.94</b>	<b>52.42</b>	<b>11.31</b>	<b>17.10</b>	<b>24.01</b>	<b>69.99</b>	<b>21.45</b>
<i>Desviación estándar</i>	0.75	0.1218	0.71	8.61	4.50	3.98	10.31	42.79	9.77
<b>Mieles mexicanas y europeas 2012</b>									
<b>Prommieles mexic/europ</b>	<b>17.15</b>	<b>0.056</b>	<b>4.16</b>	<b>71.17</b>	<b>36</b>	<b>28.05</b>	<b>7.2</b>	<b>24</b>	
<i>Desviación estándar</i>	1.14	0.05	0.4	4.94	4.12	4.54	5.52	19.28	
<i>%Desviación estándar</i>	6.6	81.7	9.6	6.9	11.4	16.2	76.6	80.3	
<b>Mieles Frescas del Estado de Mich 2011</b>									
<b>Promedio miel Frescas</b>	<b>18.52</b>	<b>0.09</b>	<b>4.21</b>	<b>74.27</b>	<b>30.1</b>			<b>18.3</b>	
<i>Desviación Estándar</i>	1.75	0.074	0.59	3.9	11.2			18.4	
<i>%Desviación estándar</i>	9.4	82.2	14	5.2	37.1			100.8	

## V.9 Discusión de resultados

---

Se han determinado 8 parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de la miel: humedad, cenizas, pH, acidez, reductores libres, fructosa, glucosa y HMF para 7 muestras de miel envejecida. Estas muestras se recibieron frescas en el 2010 y fueron conservadas en una gaveta del laboratorio protegidas de la luz.

La miel envejecida puede presentarse en una sola fase o en dos fases (una líquida y otra sólida). Cuatro muestras estuvieron en una sola fase y tres muestras presentaron dos fases; cada fase fue analizada.

En la Tabla 9 pueden observarse los resultados obtenidos con las muestras de miel envejecidas, que han sido objeto de este trabajo y los promedios obtenidos en el mismo laboratorio con mieles frescas o relativamente frescas: 12 muestras del 2012 y 115 muestras del 2011.

Al comparar los resultados obtenidos para las mieles envejecidas con los de mieles frescas puede observarse lo siguiente:

El valor de pH y el % de cenizas no aportan diferencias significativas para distinguir unas mieles de otras. Incluso, el porcentaje de humedad, aunque resulta menor el de mieles envejecidas, es muy cercano aún con el de las mieles frescas.

La determinación de la acidez nos indica que ninguna de las mieles envejecidas analizadas tiene una acidez alta (cumple con los valores establecidos por la Norma Mexicana) pero no pueden ser comparados con los de las mieles frescas pues en ellas no se determinó este parámetro.

En lo que se refiere al contenido de azúcares y al de HMF sí se observan valores que permiten distinguir unas mieles de otras:

El porcentaje de Azúcares Reductores en las mieles envejecidas (52.42%) es por mucho (más de 20 puntos porcentuales) menor al de las mieles frescas; casi una tercera parte de azúcares reductores se transformaron en las mieles envejecidas.

Los azúcares reductores fueron analizados para determinar las cantidades de fructosa y de glucosa presentes; la diferencia entre los azúcares reductores totales con la suma de fructosa y glucosa quedan expresados en la tabla 9 como “otros azúcares reductores”.

La media del contenido de fructosa en las mieles envejecidas nos indica, al compararlo con el de las frescas, que prácticamente dos terceras partes se transformaron (media de 11.3

% contra 30 a 36% en mieles frescas). Es decir, el contenido de fructosa es el más claro indicador del envejecimiento de la miel, al menos con los resultados de estos estudios preliminares que deben ser ampliados para poder confirmar con certeza estas tendencias.

El contenido de glucosa también se ve disminuido en las mieles envejecidas pero solamente en un porcentaje poco mayor del 30 % del valor de mieles frescas; es decir, mucho menor de lo que disminuyó la fructosa (casi 70%).

El porcentaje de “otros azúcares reductores” es relativamente bajo en mieles frescas (del orden del 7%) mientras que en las mieles envejecidas es relativamente alto (media de 24%). Estos resultados indican pues, que una parte de la fructosa (y algo de glucosa) inicial ha debido transformarse en otros azúcares.

Finalmente, el contenido de HMF en mieles envejecidas sí es mayor al de las mieles frescas pero como el aumento no ha sido tan grande, puede deducirse que las mieles que envejecieron lo hicieron en condiciones adecuadas de temperatura.

Puede considerarse entonces, que el contenido de Azúcares reductores totales, el de fructosa, de glucosa y de “Otros azúcares”, junto con el de HMF, son parámetros “de distinción” para conocer un poco más el proceso de envejecimiento de la miel.

Cuando se observan de manera separada los promedios de los parámetros principales de distinción de las mieles envejecidas cuando están en dos fases o en fase única, como se presenta en la Tabla 12, se aprecia que el grado de transformación de la fructosa en otros azúcares es menor en muestras con dos fases.

**Tabla 12**  
**TABLA COMPARATIVA DE RESULTADOS DE DISTINCIÓN**

	AZUCARES REDUCTORES TOTALES	FRUCTOSA	FRUCTOSA / Az Red Totales	GLUCOSA	OTROS AZ. RED.	OTROS AZ. RED./Az. Red. Totales	HMF
Muestra	%MEDIO	% MEDIO	%MEDIO	%MEDIO	%MEDIO	%MEDIO	ppm MEDIO
<i>EN DOS FASES</i>	48.8	12.77	26.2	17.93	18.06	37	67.15
<i>FASE ÚNICA</i>	57.9	9.1	15.7	15.85	32.92	56.9	74.23

Así, observamos que en las mieles de dos fases, el 26.2 % de los azúcares reductores son fructosa, mientras que en las mieles con una sola fase, solamente el 15.9 % es fructosa y, de manera congruente, en las mieles envejecidas que quedan en una sola fase, la mayoría de los azúcares reductores (56.9%) que quedan, no son ni fructosa ni glucosa (contra un 37 % en las mieles con separación de fases).

El contenido de HMF, aunque es menor en las mieles separadas en fases, no difiere mucho del de las mieles en fase única.

Estos resultados nos llevan a considerar que la fructosa se conserva mejor en la miel separada en fases y que el proceso de transformación en otros azúcares es mayor al tener el envejecimiento en una sola fase. Desde luego, estos resultados obtenidos con una cantidad relativamente pequeña de muestras, nos indican una tendencia que deberá comprobarse o corregirse en el futuro cuando este tipo de estudio se amplíe a una mayor cantidad de muestras.

## VI CONCLUSIONES

---

- Los métodos electrométricos utilizados: potenciometrías, conductimetrías, polarografía, han resultado de gran utilidad para caracterizar la calidad de la miel.
- En el caso de las mieles envejecidas ha podido comprobarse que el principal aspecto afectado por el almacenamiento prolongado ha sido el de la disminución del contenido de los azúcares reductores principales: fructosa y glucosa, en casi una tercera parte.
- La transformación de la fructosa es en mayor proporción que el de la glucosa. Parte de su transformación produce otros azúcares reductores.
- El contenido de HMF aumenta con el almacenamiento prolongado, aunque en las muestras analizadas el aumento no fue tan drástico porque las mieles se mantuvieron en un ambiente en que la temperatura no fue muy elevada.
- El contenido de cenizas y el pH son importantes parámetros de calidad pero no reflejan el envejecimiento de la miel.
- La determinación de acidez en las muestras envejecidas, aunque no puede compararse con el de mieles frescas, se encuentra dentro de lo especificado en las normas. Sin embargo, al trazar las curvas potenciométricas, se observa que el aspecto de la curva es muy diferente para cada miel: algunas presentan un único punto de equivalencia (acidez libre o atribuida al ácido glucónico) y otras presentan un poco o mucha acidez atribuida a la lactona. Es necesario continuar estos estudios para ver si la proporción de acidez lactónica es o no un parámetro asociado con el envejecimiento de la miel.
- La humedad parece disminuir un poco con el almacenamiento prolongado pero no es un factor decisivo de degradación, al menos en las condiciones en que se trabajó, es decir, en que todas las mieles tuvieron menos del 20 % de humedad que es lo que se pide en la Norma Mexicana.
- Cuando se comparan los principales cambios producidos por el envejecimiento en las mieles que permanecen en una sola fase con las mieles que se separan en dos fases, lo que resulta más notorio es que la transformación de la fructosa y la

aparición de más azúcares reductores diferentes a fructosa y glucosa, son mayores en las mieles que permanecen en fase única, es decir, la degradación es mayor.

## VII BIBLIOGRAFÍA

---

1. Crane, E. (1983). La Arqueología de la Apicultura. Editorial Cornell University Press, USA, pp 19-21. Datos del documento información consultado en: [http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/miel/58\\_miel\\_maya\\_honing.pdf](http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/miel/58_miel_maya_honing.pdf). (acceso 20/02/2013)
2. Otero, A. Cristalización de la miel. Datos del documento información consultado en: <http://productosdelacolmena.wikispaces.com/file/view/CRISTALIZACION+DE+L+A+MIEL>. (acceso el 21/02/13).
3. García, D. (2009). Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Miel SENASICA SAGARPA. 2º edic. Pp 16-20
4. NMX-F-036-1981. MIEL DE ABEJA. ESPECIFICACIONES. NORMA MEXICANA.
5. Biolé, J. “Historia de la Apicultura”. Datos del documento información consultado en: [http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/historia/11\\_produccion\\_apicola\\_mexico.PDF](http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/historia/11_produccion_apicola_mexico.PDF). (acceso 21/02/2013)
6. Carrasco P, S. Miel: su historia en México. Programa Nacional para el control de la avispa Africana. SAGARPA. México pp 1-3. Datos del documento información consultado en: <http://www.terra.com.mx/Turismo/articulo/662355/Miel+su+historia+en+Mexico.htm>. (acceso 2/04/13)
7. Vredeling, M. (1996). La miel a través de los siglos. México desconocido No. 233. Datos del documento información consultado en: <http://www.mexicodesconocido.com.mx/la-miel-en-mexico-a-traves-de-los-siglos.html>. (acceso 19/11/2012)

8. Feversani, S. (1996)*Meliponas: abejas nativas. Características Generales.* Universidad Estatal de San Pablo. Brasil pp 1-9.
9. Prieto, I. Agricultura y ganadería. Argentina 2001 pp 1-2. Datos del documento información consultado en:  
[www.monografias.com/agricultura\\_y\\_ganaderia](http://www.monografias.com/agricultura_y_ganaderia). (acceso 21/02/2013)
10. La Apis Mielifera, subdivisión y división geográfica, aquí las mas comunes. 2011 España pp1-2. Datos del documento información consultado en:  
<http://apicultors.com/es/articulos/78-caracteristiques-generals-de-apismellifera.html>  
(acceso 19/11/2012)
11. Pierre J. (2007). Apicultura. Editorial Mundi-Prensa Madrid. 4º edic. pp.441.
12. Recinto Universitario Mayaguez. Universidad de Puerto Rico. Departamento de Apicultura. “Miel de abejas”. Datos del documento información consultado en:  
<http://academic.uprm.edu/dpesante/5355/lamieldeabejas.PDF>.(acceso22/01/2013)
13. Mottola, A. (2012).Glucosa oxidasa como reactivoanalítico. Datos del documento información consultado en:  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Glucosa\\_oxidasa](http://es.wikipedia.org/wiki/Glucosa_oxidasa).( 23/01/2013)
14. Mercado Urbano de Productos Orgánicos y Alimentos Naturales. Argentina. Datos del documento información consultado en:  
[puresfiel.com](http://puresfiel.com) [cristalización y mitos.com](http://cristalizacion.com)(acceso 29/11/2012)
15. Dittmar, L. La miel y el mercado local. Universidad de Buenos aires. 2008. Datos del documento información consultado en:  
[www.advertisingage.com.ar](http://www.advertisingage.com.ar) (acceso 30/11/2012).
16. Jean-Marie P. (2008). Guía del apicultor. Editorial Omega Barcelona 1º edic. pp 210-211
17. Frigerio T,C. (2010). Elaboración de miel crema (Apis mellifera) mediante el método de cristalización inducida, y evaluación de sus propiedades texturales. Tesis de licenciatura Santiago – Chile.
18. Espinosa, T. Laboratorios Gomensoro S.A. - Metrohm AG. España. 2012.

En línea <http://productos.metrohm.com/traceanalysis/prod-AB-060.aspx>.(acceso 4/01/2012)

19. Ureña V,M.(2007). Evaluacion de la posible adulteracion de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales proveniente de apiarios especificos. Centro de investigaciones Apicolas tropicales. Universidad Nacional, Costa Rica. pp 63-68.
20. Avallone, C. M. (2004). Alteraciones fisicoquímicas de los principales parámetros de la miel cuando es utilizada como materia prima de alimentos. Universidad Nacional del Noreste, Facultad de Agroindustrias, Argentina. pp1-4.
21. Caballero P.H.(2009).Nuevos criterios de calidad para miel basados en procedimientos electroquímicos. Tesis de licenciatura UNAM.
22. Fennema O.(1995).Química de Alimentos. España, Editorial Acribia, 2ª edic. pp233-236.
23. Preza De la Vega, J. (2007). Estudio Electroquímico de azucares en miel. Tesis de licenciatura UNAM. pp1-54.
24. Carmelo D, R. (1998). Determinación de algunos parámetros de calidad de la miel en la provincia de Huesca. Escuela Universitaria Politécnica de Huesca. Departamento de Química Analítica. España pp107-122.
25. Díaz R, A. (2012). Aporte analítico al conocimiento de la calidad de la miel. Comparación entre algunas mieles mexicanas y extranjeras. Tesis de licenciatura, UNAM pp.25-66.
26. Gazcón O, N. (2012). Aplicación de la electroquímica analítica al control de calidad de productos apícolas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED). España pp. 124-165.

27. Gleiter R.A. (1996). Influencia del tipo y el estado de cristalización en la actividad acuosa de la miel. Universidad de Hohenheim Alemania. pp 441–445.
28. Venir, E. (2010). La cristalización en miel italiana “Tarassaco” estudiada por DS . Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Udine, Italia. pp 410–415.
29. Sanz Cervera, S. (1994). Valores de acidez (libre láctica y total) y pH de las mieles de La Rioja. Universidad de la Rioja, Departamento de agricultura y alimentación. España 1994 pp. 193-204.
30. Estrada, H. (2005). Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiana. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Caracas pp 1-3