



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**AUTENTIFICACIÓN DE MIELES MEXICANAS
UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA Y MÉTODOS
QUIMIOMÉTRICOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

FERNANDO GONZÁLEZ JARAMILLO



Ciudad Universitaria, Cd. MX., 2020.



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: Dra. María Isabel Aguilar Laurents

VOCAL: Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano

SECRETARIO: Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

1er. SUPLENTE: Dra. Berenice Ovalle Magallanes

2° SUPLENTE: Dr. Eduardo Rodríguez De San Miguel Guerrero

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio 111, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM

ASESOR DEL TEMA: DRA. MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS

SUPERVISOR TÉCNICO: DR. EDUARDO RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL GUERRERO

SUSTENTANTE: FERNANDO GONZÁLEZ JARAMILLO

CONTENIDO.

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	IV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 MIEL: DEFINICIÓN Y DESCRIPCIÓN.....	3
2.2 COMPOSICIÓN DE LA MIEL Y SU IMPLICACION EN LA CALIDAD.....	3
2.2.1. CARBOHIDRATOS.....	4
2.2.2. HUMEDAD.....	5
2.2.3. ENZIMAS.....	5
2.2.4 COMPUESTOS VOLÁTILES Y FENÓLICOS.....	6
2.2.5 OTROS COMPONENTES MINORITARIOS: VITAMINAS, MINERALES Y AMNOÁCIDOS.....	7
2.2 FORMACIÓN DE LA MIEL.....	8
2.3 HISTORIA DE LA MIEL.....	9
2.4 PRODUCCIÓN MUNDIAL.....	10
2.4.1 IMPORTANCIA DE LA INDUSTRIA APÍCOLA EN MÉXICO.....	12
2.5 LEGISLACIÓN NACIONAL APLICABLE A LA MIEL.....	15
2.5.1 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-145-SCFI-2001. INFORMACIÓN COMERCIAL-ETIQUETADO DE MIEL EN SUS DIFERENTES PRESENTACIONES.....	16
2.5.2 NMX-F-036-981. MIEL DE ABEJA.....	16
2.5.3 NMX-F-416-S-1982. PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA USO HUMANO MIEL DE ABEJA. MÉTODOS DE PRUEBA.....	18
2.6 FORMAS DE ADULTERACIÓN EN LA MIEL.....	19

2.6. 1. ALTERACIÓN ACCIDENTAL.....	20
2.6. 2. ADULTERACIÓN INTENCIONAL.	20
2.7 TIPOS DE ANÁLISIS PARA LA AUTENTIFICACIÓN DE LA MIEL.	21
2.7.1 CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS/GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.....	22
2.7.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO.	23
2.7.2 ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS.....	23
2.8 ADULTERACION DE MIEL: ANTECEDENTES.	24
2.9 FUNDAMENTO DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	25
2.10 FUNDAMENTO DE ESPECTROSCOPIA IR.....	27
2.11 PRINCIPIOS DE QUIMIOMETRIA.	28
2.11.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).....	28
2.11.2. PROYECCIONES ORTOGONALES PARA ANÁLISIS DISCRIMINANTE DE ESTRUCTURAS LATENTES (OPLS-DA).....	29
3. OBJETIVO GENERAL.	30
3.1 OBJETIVOS PARTICULARES.	30
3.2 JUSTIFICACION.....	30
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	32
4.1 RECOLECCIÓN DE MIELES.	32
4.2 REGISTRO DE LOS ESPECTROS DE UV-VIS.....	32
4.3 REGISTRO DE LOS ESPECTROS DE IR.....	32
4.4 ADULTERACIÓN DE MIELES.	32
4.5 PRETRATAMIENTO DE LOS ESPECTROS.....	33
4.6 OBTENCIÓN DE MODELOS OLPS-DA.....	33
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	34
5.1 ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.	34

5.2. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MONOFLORES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.	37
5.3. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MULTIFLORES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.	40
5.4. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS PROVENIENTES DE LA CIUDAD DE MÉXICO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	42
5.5. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR).	44
5.6. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MONOFLORES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.....	47
5.7. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MULTIFLORES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.....	49
5.8. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS PROVENIENTES DE LA CIUDAD DE MÉXICO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.	51
5.9 ANÁLISIS DE LA ADULTERACIÓN CON MIEL DE AGAVE Y JARABE DE ALTA FRUCTUOSA EN LA MIEL M28 UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	52
5.10. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES ADULTERADAS CON JARABE DE ALTA FRUCTUOSA.	53
5.11. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES ADULTERADAS CON MIEL DE AGAVE....	56
5.12. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO Y QUIMIOMÉTRICO DE LOS MODELOS MÁS EXITOSOS.	58
6. CONCLUSIONES.	62
7. PERSPECTIVAS.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS.

%	Porcentaje
A.C.	Antes de Cristo
Abs	Absorbancia
cm	centímetro
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés)
FAO	Organización para la Alimentación y la Agricultura
FAOSTAT	Base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Alimentación y la Agricultura
g	Gramo
GC	Cromatografía de gases (por sus siglas en inglés)
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia (por sus siglas en inglés)
IR	Infrarrojo
MS	Espectrometría de masas (por sus siglas en inglés)
nm	nanómetro
OPLS-DA	Proyecciones ortogonales para análisis discriminante de estructuras latentes (por sus siglas en inglés)
p/p	peso/ peso
PCA	Análisis de componentes principales (por sus siglas en inglés)
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SIMCA	Modelado independiente suave de análogos de clase (por sus siglas en inglés)
SVM	Máquinas de vectores de soporte (por sus siglas en inglés)
ton	Toneladas
UV-VIS	Ultravioleta-Visible

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Adaptación del Codex Alimentarius 2011.....	3
Tabla 2. Especificaciones físicas y químicas. Adaptación de la Norma NMX-F-036-981 y CODEX-STAN-012-1981. (REV. 2 2001).	18
Tabla 3. Métodos de prueba para la miel de abeja. Adaptación de la norma NMX-F-416-S-1982.....	19
Tabla 4. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras UV-VIS.	35
Tabla 5. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras monoflorales. UV-VIS.....	38
Tabla 6. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles multiflorales. UV-VIS. 40	
Tabla 7. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles provenientes de la Ciudad de México. UV-VIS.	42
Tabla 8. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras. IR.....	45
Tabla 9. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles monoflorales. IR.	47
Tabla 10. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles multiflorales. IR.	49
Tabla 11. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles provenientes de la Ciudad de México. IR.	51
Tabla 12. Parámetros de los modelos OPLS-DA para mieles adulteradas con jarabe de alta fructuosa.	54
Tabla 13. Parámetros de los modelos OPLS-DA para mieles adulteradas con Miel de Agave.	57
Tabla A 1. Información de las mieles analizadas.	69
Tabla A 2. Máximos de absorción de flavonoides en el propóleo. (Ristivojević et al., 2017).	72
Tabla A 3. Resumen de las principales señales para fenoles y flavonoides de FTIR (Wu, Sun, Zhao, Li, & Zhou, 2008).	73

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Principales estados productores de miel en México de los años 2003 a 2018 (SIAP, 2018).....	13
Figura 2. Componentes de espectrofotómetro UV-VIS (Díaz et al., 2012).	26
Figura 3. Componentes de un espectrofotómetro IR (Mondrag, 2000).....	27

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Producción mundial de miel de 1961 a 2017. Muestra la tendencia de crecimiento durante los últimos 57 años (FAOSTAT, 2019).....	11
Gráfica 2. Principales países productores de miel de 1992 a 2017 (FAOSTAT, 2019). 11	
Gráfica 3. Principales estados productores de miel en el país de 2003 a 2019 (SIAP, 2018).	14
Gráfica 4. Producción Nacional de miel de 1961 a 2018 (FAOSTAT, 2019) (SIAP, 2018).	15
Gráfica 5. Espectros UV-VIS de las mieles recolectadas en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.....	34
Gráfica 6. Modelo: M1.1. OPLS-DA de mieles puras considerando su año de recolección.	37
Gráfica 7. Modelo M 2.1. OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable el año de recolección.	39
Gráfica 8. Modelo: M 2.2 OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable el tipo de flor..	39
Gráfica 9. Modelo: M 2.3 OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable la región de recolección.	40
Gráfica 10. Modelo: M 3.1 OPLS-DA de mieles puras multiflorales considerando como variable el año de recolección.	41
Gráfica 11. Modelo: M4.1 OPLS-DA de mieles puras provenientes de la Ciudad de México considerando como variable su año de recolección.....	43
Gráfica 12. Espectros IR de las mieles recolectadas en un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} con un total de 3600 puntos de datos con una separación promedio.	44
Gráfica 13. Modelo: M5.3. OPLS-DA de mieles puras considerando el origen floral....	46
Gráfica 14. Modelo: M5.4. OPLS-DA de mieles puras considerando la especie de abeja productora.	46
Gráfica 15. Modelo: M6.1. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando su año de recolección.	48

Gráfica 16. Modelo: M6.2. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando su año de recolección.	48
Gráfica 17. Modelo: M6.3. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando el tipo de flor.	49
Gráfica 18. Modelo: M7.3. OPLS-DA de mieles multiflorales considerando la especie de abeja productora.....	50
Gráfica 19. PCA de las dos primeras variables (PC-2 vs PC-1) para M28, adulterantes y adulteraciones de la miel.....	52
Gráfica 20. Espectros UV-VIS de las mieles puras, del adulterante (Jarabe de alta fructuosa) y de la combinación entre ellos a 3 diferentes concentraciones (40, 20 y 10%) en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.	54
Gráfica 21. Modelo: M9. OPLS-DA de 12 mieles puras elegidas al azar, adulterante (Jarabe de alta fructuosa) y la combinación entre ambos a diferentes concentraciones.	55
Gráfica 22. Espectros UV-VIS de las mieles puras, del adulterante (Miel de agave) y de la combinación entre ellos a 3 diferentes concentraciones (40, 20 y 10%) en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.	56
Gráfica 23. M10. OPLS-DA de 12 mieles puras elegidas al azar, adulterante (Miel de agave) y la combinación entre ambos a diferentes concentraciones.	57
Gráfica 24. Gráfica de <i>loadings</i> , considerando los espectros UV-VIS de todas las mieles tomando en cuenta su año de recolección (Modelo M1.1.).....	60
Gráfica 25. Gráfica de <i>loadings</i> , considerando los espectros IR de todas las mieles tomando em cuenta su origen floral (Modelo M5.3.).	60
Gráfica 26. Gráfica de <i>loadings</i> , considerando los espectros UV-VIS las mieles elegidas al azar y adulteradas con jarabe de alta fructuosa a diferentes concentraciones (40, 20, 10 %) (Modelo 9).	61
Gráfica 27. Gráfica de <i>loadings</i> , considerando los espectros UV-VIS las mieles elegidas al azar y adulteradas con miel de agave a diferentes concentraciones (40, 20, 10 %) (Modelo 10).	61

Gráfica A 1. Modelo: M1.2. OPLS-DA de mieles puras considerando su origen floral.	64
Gráfica A 2. Modelo: M1.3. OPLS-DA de mieles puras considerando la región de recolección.	64
Gráfica A 3. Modelo: M 3.2 OPLS-DA de mieles puras multiflorales considerando como variable la región de recolección.....	65
Gráfica A 4. Modelo: M 4.2 OPLS-DA de mieles puras provenientes de la Ciudad de México considerando como variable su origen floral.....	65
Gráfica A 5. Modelo: M5.1. OPLS-DA de mieles puras considerando su año de recolección. ..	66
Gráfica A 6. Modelo: M5.2. OPLS-DA de mieles puras considerando su región de recolección.	66
Gráfica A 7. Modelo: M7.1. OPLS-DA de mieles multiflorales puras considerando el año de recolección.....	67
Gráfica A 8. Modelo: M7.2. OPLS-DA de mieles multiflorales considerando la región de recolección.....	67
Gráfica A 9. Modelo: M8.1. OPLS-DA de mieles provenientes de la Ciudad de México considerando su año de recolección.....	68
Gráfica A 10. Modelo: M8.2. OPLS-DA de mieles provenientes de la Ciudad de México considerando su origen floral.....	68

1. INTRODUCCIÓN.

En los últimos años la población ha volcado su atención a los productos de origen natural, siendo la miel un caso muy notorio, pues año tras año aumenta su consumo, no solo por su sabor y valor nutricional, sino también a que históricamente se le atribuyen numerosos efectos terapéuticos.

Los datos registrados por la FAO, en 2017, establecen a China como el primer productor mundial, con una participación de 29.6 por ciento de la producción total de miel (FAOSTAT, 2019). Para ese mismo año, México se encontraba en el séptimo lugar a nivel mundial en el mismo rubro, con una aportación del 2.7 por ciento, y el tercero en exportación a Reino Unido y Alemania. En promedio se exportan en el mundo alrededor de 40, 000 toneladas de miel por un valor de más de \$150 millones de dólares. Anualmente en nuestro país se producen aproximadamente de 57, 000 a 62,000 toneladas de miel, siendo la última década donde se ha reportado el mayor crecimiento en esta industria. El valor de la exportación de este producto, en el país, en 2016 ascendió a 93 millones 756 mil 485 (SAGARPA, 2018). En consecuencia, esto provoca que la demanda sea mayor que la oferta, haciendo que la miel sea un objetivo de adulteración a través de prácticas de producción inapropiadas y fraudulentas, así como también un etiquetado incorrecto de su origen. A nivel mundial, la autenticación de la miel enfrenta estas dos problemáticas. Por una parte, la producción, con las principales complicaciones, como: la adición de otros azúcares, el filtrado, el contenido de agua y el tratamiento térmico. Además, el inadecuado etiquetado de origen (geográfico y/o botánico) y la procedencia “orgánica” (Soares et al., 2017).

Los requerimientos más importantes para la clasificación de mieles son olor, sabor, nivel de color y origen. Las tres primeras son cubiertas por estudios sensoriales, aunque este tipo de evaluación no es fácil, resulta subjetiva y a menudo es imparcial y poco precisa. Por lo que se ha optado por el uso de sensores como lenguas y narices electrónicas. Por otra parte, el origen era determinado, principalmente, por el análisis de polen. Recientemente, los análisis con espectroscopía, entre ellos IR y UV-Vis, han recibido una amplia atención ya que son adecuados para el análisis no destructivo de materiales biológicos y biomédicos. Por ejemplo, puede discriminar entre muestras de

té, café, leche, entre otros materiales. Por lo que también es aplicable para la clasificación botánica de la miel así como la detección de posibles adulteraciones (Almaleeh et al., 2017).

Para el presente trabajo se recolectaron y se adquirieron comercialmente un total de 59 muestras de mieles de diferentes orígenes botánicos y geográficos. Cada una de las muestras se analizó utilizando espectroscopía UV-VIS e IR. Posteriormente, cada muestra fue adulterada a tres niveles: bajo, medio y alto, correspondientes a una concentración de 10, 20 y 40 %, respectivamente. Para este propósito se utilizó jarabe de maíz y miel de agave. Una vez adulteradas las muestras se registraron sus espectros de UV-Vis. Posteriormente, los datos se analizaron utilizando técnicas quimiométricas con la finalidad de agruparlas por origen y detectar posibles adulteraciones.

2. ANTECEDENTES

2.1 MIEL: DEFINICIÓN Y DESCRIPCIÓN.

La miel es una sustancia natural dulce producida por las abejas (*Apis mellifera*) a partir de la colecta de néctar de flores o de las secreciones de las partes vivas de las plantas, que las abejas colectan y transforman mediante la adición de sustancias específicas propias. Posteriormente se deposita, almacena y se deja madurar en el panal (Codex Alimentarius, 2001)

Su color varía de casi incoloro a marrón oscuro. La consistencia puede ser fluida, viscosa, parcial o totalmente cristalizada. Por otro lado, su sabor y aroma varían, dependiendo de su origen botánico y floral (Codex Alimentarius, 2001).

2.2 COMPOSICIÓN DE LA MIEL Y SU IMPLICACION EN LA CALIDAD.

La miel está compuesta esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente fructosa y glucosa, y en menor proporción sacarosa. Así como también de otras sustancias: ácidos orgánicos, enzimas, y partículas sólidas derivadas de la colección de la miel (**Tabla 1**).

Tabla 1. Adaptación del Codex Alimentarius 2011.

Componentes mayoritarios (99%)	g/100g
Fructosa	21.7- 53.9
Glucosa	20.4-44.4
Sacarosa	0.0-7.6
Otros azúcares	0.1-16.0
Componentes minoritarios (1%)	g/100g
Minerales	0.02-1.03
Nitrógeno	0.00-0.13
Enzimas	>0.1%
Aromas	>0.1%
Otros	>0.1%

En conjunto, estos componentes aportan a la miel características organolépticas y nutraceuticas específicas. Estos componentes dependen en gran medida de la ubicación geográfica, el origen botánico y floral, la estación del año y el clima del apiario. La composición representa la 'huella dactilar' de cada miel, que permite identificar su origen.

2.2.1. CARBOHIDRATOS.

Los carbohidratos en la miel se forman por la acción de varias enzimas que la abeja aporta a los azúcares del néctar. Éstas provienen de las glándulas de las abejas, entre las más importantes se encuentran la diastasa, invertasa y glucoxidasa (Pita-Calvo et al., 2017).

La miel es una mezcla compleja, compuesta en su mayoría de carbohidratos (70-80% p/p), agua (10-20% p/p) y un gran número de componentes minoritarios. De tal forma que los carbohidratos son 95% p/p del peso seco de la miel (Boussaid et al., 2015).

Utilizando cromatografía de gases, Nicholas y colaboradores lograron determinar 16 oligosacáridos en la miel, de los cuales, 11 eran disacáridos (turanosa, sacarosa, maltosa, isomaltosa, kojibiosa, celobiosa, palatinosa, gentiobiosa, laminaribiosa, neotrehalosa y nigerosa) y 5 trisacáridos (erlosa, panosa, isopanosa, maltotriosa, y teanderosa (Nicholas & Sporns, 1988)

Sin embargo, monosacáridos como la fructosa y la glucosa se encuentran en mayor proporción. Por otra parte, el porcentaje de sacarosa no solo sirve para determinar su procedencia botánica, sino también su estado de maduración (Serra-Bonvehi & Ventura-Coll, 2005). Si la miel es extraída del panal y aún no está madura, ésta podría tener un excesivo contenido de sacarosa, pudiendo superar lo establecido (mayor a 5% p/p) por la NMX-F-036-1997 "Miel de abeja. Especificaciones".

La determinación del contenido de glucosa y fructosa pueden proporcionar información acerca de una posible adulteración, pues la forma más común de hacerlo es la adición de jarabes con alto contenido de estos monosacáridos. Por otra parte, la relación de estos dos azúcares determina la velocidad de cristalización. La miel es una solución

sobresaturada, lo que la hace inestable en su estado líquido. La fructosa al ser más soluble en agua permanece fluida, siendo la glucosa la que cristaliza debido a su menor solubilidad, por lo que entre mayor sea la cantidad de fructosa que de glucosa, la velocidad de cristalización será menor (Hamdan, 2015). Actualmente, la determinación de glucosa, sacarosa y fructosa se llevan a cabo por HPLC (Codex Alimentarius, 2001).

2.2.2. HUMEDAD.

El contenido de agua en una miel varía de entre el 10 al 20 % p/p, lo que contribuye a su peso específico, viscosidad, sabor y calidad (Sáenz & Gómez, 2000). Este parámetro depende del origen botánico, las condiciones climáticas, la temporada de producción, la manipulación humana y las condiciones de almacenamiento (Gallina et al., 2010). Entre menor sea el nivel de agua en la miel dificulta la manejabilidad de la misma, por el contrario, entre mayor sea (> 20 % p/p) es más susceptible de fermentar por levaduras osmofílicas (ÜNAL, 2006).

2.2.3. ENZIMAS.

Las enzimas que se encuentran en miel provienen de las glándulas de las abejas o de su tracto gastrointestinal y tienen el propósito de transformar los azúcares del néctar o de los mielatos.

Las enzimas que tienen mayor relevancia en el procesamiento de la miel son: la invertasa y la glucoxidasa. Por su parte la invertasa, de origen animal, es la encargada de desdoblar la sacarosa en fructosa y glucosa. Esta enzima junto a la diastasa son utilizadas como indicadores de frescura (Bogdanov, 2011). Mientras que la glucoxidasa, actúa sobre la glucosa para producir ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Este último tiene actividad como antibacteriano protegiendo a la miel hasta que esté madura (White, 1978).

Otras enzimas que se encuentran en la miel son las diastasas (α -amilasas), las cuales son transformadoras de almidón, que proceden tanto de la abeja como del néctar, sin

embargo, no es clara su función en el proceso de la miel, puesto que el néctar no tiene almidón (White, 1978).

2.2.4 COMPUESTOS VOLÁTILES Y FENÓLICOS.

Los compuestos volátiles (ácidos alifáticos y aromáticos, aldehídos, cetonas y alcoholes, norisoprenoides, terpenos y derivados de furano y pirano), junto con los azúcares, los ácidos de la miel, así como ciertos componentes del néctar aportan el sabor y aroma a la miel. Por lo que éstos forman parte de su huella dactilar. La caracterización de estos compuestos en la miel ha permitido la autenticación de su origen botánico (Escriche et al., 2011). Aunque estos compuestos se encuentren en bajas concentraciones la determinación y estandarización de éstos puede ayudar a la calidad y a evitar el etiquetado fraudulento del producto. Montenegro y colaboradores identificaron más de 600 compuestos volátiles en la miel de diferentes familias químicas, provenientes de varias rutas biosintéticas (Montenegro et al., 2009). Generalmente los compuestos orgánicos volátiles (VOCs), pueden provenir de la planta o del néctar, de la transformación de los compuestos de la planta por parte del metabolismo de la abeja, del calentamiento o del procesamiento y almacenamiento de la miel o de la contaminación microbiana o ambiental (Manyi-Loh et al., 2011).

Los polifenoles son una familia heterogénea de compuestos químicos dividida en flavonoides (flavonoles, flavonas, flavanoles, flavanonas, antocianidinas, chalconas e isoflavonas) y no flavonoides (ácidos fenólicos). Todos estos compuestos son a menudo el producto del metabolismo secundario de la planta (sustancias que no participan en el desarrollo de la planta sino que aportan al individuo una ventaja frente a su entorno) (Cianciosi et al., 2018).

Ahora bien, los compuestos fenólicos son parte de la actividad antioxidante de la miel, así como también otros componentes: flavonoides, glucoxidasa, catalasa, ácido ascórbico, proteínas y carotenoides (Buratti et al., 2007). Esto hace que la miel sea una sustancia natural apreciada por sus capacidades terapéuticas, pues su efecto

antioxidante y antiinflamatorio está ligado con el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos (Cianciosi et al., 2018).

Tanto la actividad antioxidante como el contenido fenólico de las mieles ha sido relacionado positivamente con el color de la miel. Un estudio llevado a cabo en mieles de Brasil por Pontis y colaboradores, demostró que mieles con un color oscuro tenían un alto contenido de fenoles totales y por tanto una alta capacidad antioxidante. (Pontis et al., 2014). Por otro lado, las determinaciones hechas por Ferreres y colaboradores indican que mieles de diferentes regiones contienen el mismo perfil fenólico incluyendo al ácido *p*-cumárico, eugenol, ácido ferúlico, ácido cafeico, y flavonoides, como pinobanksina, pinocembrina, crisina, quercetina, apigenina, naringina, en diferentes porcentajes (Ferreres et al., 1993).

2.2.5 OTROS COMPONENTES MINORITARIOS: VITAMINAS, MINERALES Y AMINOÁCIDOS.

La cantidad de minerales en la miel puede ser variable (0.02-1.03 % p/p), el contenido depende del origen botánico, el ambiente y las condiciones de procesamiento. Los minerales que se pueden encontrar en mayor proporción en la miel son: calcio, magnesio, potasio y fósforo, y en menores cantidades se pueden hallar: hierro, cobre, zinc, cobalto, silicio, azufre, manganeso, flúor, molibdeno, cromo y yodo (Pita-Calvo et al., 2017).

La miel también puede contener pequeñas cantidades de vitaminas como ácido ascórbico (C), tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), ácido pantoténico (B5) y piridoxina (B6) (Alvarez-Suarez et al., 2013). Todas las vitaminas del complejo B se derivan principalmente del polen, y junto con la vitamina C, pueden estar influenciadas por reacciones de oxidación llevadas a cabo por la glucosa oxidasa (Ciulu et al., 2011).

Los aminoácidos en la miel se atribuyen a fuentes tanto animales como vegetales, la mayor de ellas es el polen. Estos pueden representar el 1% (p/p) de la miel. La prolina es el aminoácido que se encuentra en mayor proporción en un 50 a 85% (p/p) del total de aminoácidos. La cantidad de aminoácidos puede variar dependiendo del tipo de

miel, así como también de su origen. En un estudio realizado por Hermosín y colaboradores se logró la determinación y cuantificación de 22 aminoácidos en 31 mieles de 5 orígenes diferentes, utilizando HPLC. De estos aminoácidos los más importantes fueron la prolina la, fenilalanina, tirosina y lisina, seguida de arginina, ácido glutámico, histidina y valina (Hermosín et al., 2003).

La prolina está asociada con propiedades antioxidantes. De igual forma se relaciona con la madurez de la miel, así como también para detectar adulteraciones con algún tipo de azúcar, ya que los niveles de prolina disminuyen considerablemente si la miel es alterada. A pesar de que no se tiene un máximo establecido de prolina en la miel, se considera que si éste es menor a 180 mg / kg puede ser que no esté madura o que haya sido adulterada (Pita-Calvo et al., 2017).

2.2 FORMACIÓN DE LA MIEL.

La producción de la miel comienza en el momento en el que las abejas salen del panal a recolectar el néctar o secreciones azucaradas de ciertas plantas. Después de encontrar una buena fuente de comida las abejas lanzan sobre ella sus largas lenguas y sorben pequeñas cantidades de néctar hacia uno de sus dos estómagos (*honey stomach*). Para estar a la totalidad de su capacidad (su propio peso) una abeja tendría que beber más de mil flores (Hamdan, 2013).

De regreso a la colmena, enzimas digestivas empiezan el procesamiento del néctar. Una vez en el panal, la abeja recolectora vomita el néctar en la boca de otra abeja, y así consecutivamente, este proceso es importante, puesto que, cada abeja agrega más enzimas digestivas (diastasa, invertasa y glucoxidasa). En esta parte, el líquido azucarado tiene mucha agua, así que las abejas agitan sus alas para crear una corriente de aire dentro del panal para que éste quede con un 20 por ciento de agua. Finalmente se tapa la celda con cera de abeja para que esta mezcla con enzimas complete su formación en miel (Borrás, 2016).

2.3 HISTORIA DE LA MIEL.

La miel ha sido usada por la humanidad desde hace millones de años con propósitos nutricionales y curativos, sin embargo, no se tiene registro de cuando ocurrió esto. Una de las primeras evidencias de la recolección de miel se encuentra en una pintura rupestre que data de hace 6000 años, en Valencia España (Stewart, Tabori & Chang, 2011). Posteriormente, en el año 3000 A.C. la miel sería mencionada en los pasajes de los libros sagrados de la India antigua y para el siglo VI antes de Cristo se volvería a hacer alusión a ella en libros de medicina de la China antigua, atribuyéndole efectos terapéuticos sobre el estómago y el bazo. En Egipto, en el siglo II antes de Cristo, las abejas y la miel ya eran retratadas en dibujos murales, así como también en pergaminos, haciendo mención de su uso para curar heridas y como edulcorante. En la vieja Grecia, las abejas tenían una gran influencia, pues esta era el símbolo de Artemisa (Diosa de la caza, los bosques y los animales y protectora de la virginidad). Consecutivamente, Aristóteles era de los primeros en describir el proceso de la producción de la miel. Y después, en el año 323 A.C. Alejandro Magno era embalsamado en un ataúd relleno de miel. Los hechos anteriores evidencian que la miel formó parte de la vida de civilizaciones antiguas alrededor del mundo, pues en libros sagrados, como la Biblia y el Korán hacen mención de ella (Bogdanov, 2011).

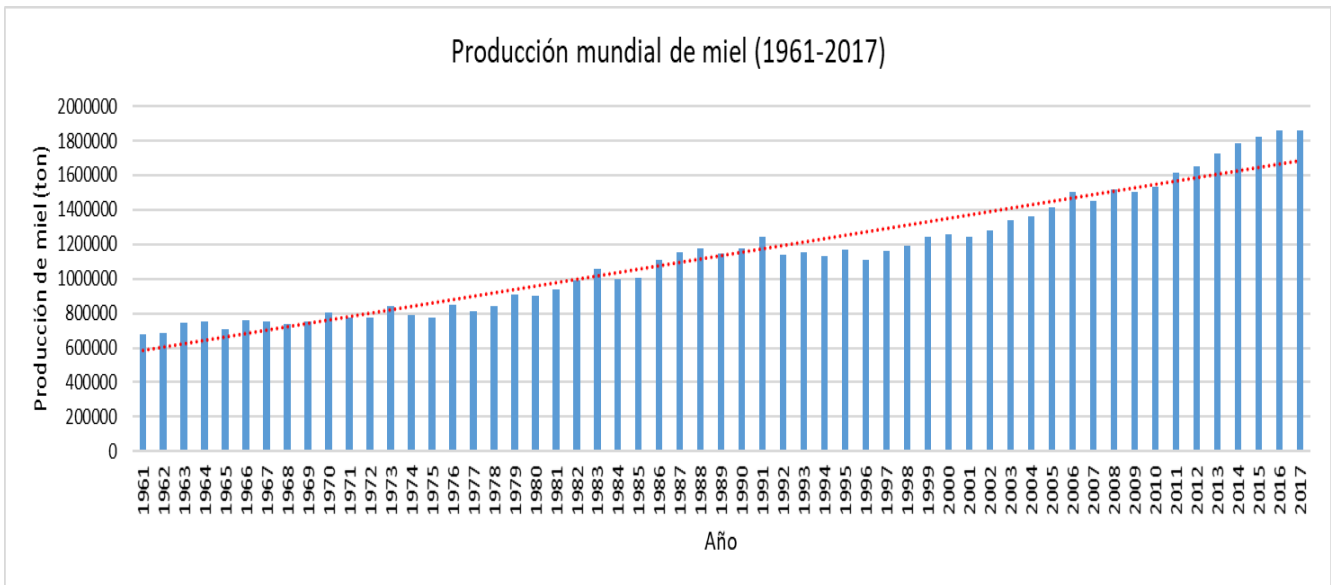
En la actualidad el mayor productor de miel en México es el estado de Yucatán, sin embargo, esta entidad ha sido relevante desde la era de la conquista, ya que, antes de la llegada de los españoles los mayas eran los mayores productores de miel de toda América. La influencia que las abejas y la miel tuvieron en la cultura maya se ve reflejada en la zona arqueológica de Cobá (lugar de las abejas), en donde está la representación de un dios llamado “el dios descendiente”. El cual está asociado, por diversos arqueólogos y antropólogos, con el dios maya de las abejas, *Ah Mucen Kab*. Según las creencias, en Cobá habitaban abejas de tipo sobrenatural llamadas *Mulzencabob*, quienes informaban a *Nohymcab* (gran dios de las colmenas) de todo lo que acontecía en la casa de las abejas. Los sacerdotes mayas indican que ambos dioses tenían forma de abejas grandes que regían sobre todas las demás. Desde esa época la miel ya tenía una importancia económica pues era utilizada como moneda de

cambio y fue uno de los primeros tributos que se ofreció a los españoles (México Desconocido, 2010)

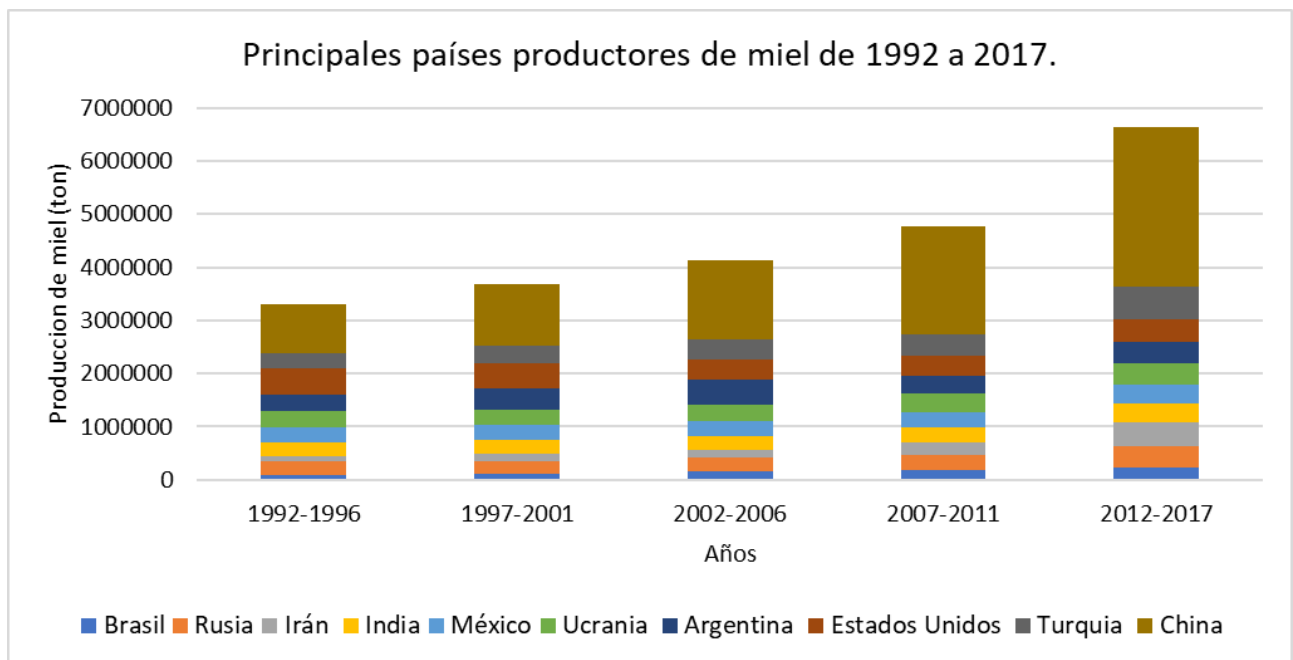
2.4 PRODUCCIÓN MUNDIAL.

Existe registro de la producción mundial de la miel desde 1961, y año tras año hasta el 2017 (**Gráfica 1**) el crecimiento ha ido al alza con algunos periodos irregulares (FAOSTAT, 2019). En el sector agropecuario la industria apicultora ha mostrado uno de los mejores crecimientos. En años recientes China se ha mantenido como líder en producción, para 2017 ocupaba el primer lugar con el 29.6 por ciento. Los siguientes nueve puestos eran ocupados, de manera descendente por: Turquía, Estados Unidos, Argentina, Ucrania, México, India, Irán, Rusia y Brasil (Sanchez et al., 2018).

En el periodo de 1992 a 2017 son diez los países que han predominado en el mercado de la miel, durante ese lapso China se ha mantenido como el mayor productor en el mundo (**Gráfica 2**). De igual forma el gigante asiático es el principal exportador seguido por Argentina, que ocupa el segundo puesto. En la actualidad el tercer lugar se disputa entre México, India, Vietnam y Ucrania. En cuanto al valor de las exportaciones, para México, entre los años 2013 a 2017 el valor por tonelada de miel aumentó en un 12.5 %, teniendo el mejor crecimiento, después de Nueva Zelanda, quien en los mismos años logró aumentar el precio de sus exportaciones en un 89.9 % (Sanchez et al., 2018).



Gráfica 1. Producción mundial de miel de 1961 a 2017. Muestra la tendencia de crecimiento durante los últimos 57 años (FAOSTAT, 2019).



Gráfica 2. Principales países productores de miel de 1992 a 2017 (FAOSTAT, 2019).

En el 2016 el volumen total de miel exportada fue de 659 mil toneladas con un valor de 2.000 millones de dólares. Los principales países exportadores para ese año, de acuerdo con el volumen exportado fueron: China con un 19% de las toneladas mundiales, seguido de Argentina (12%), Ucrania (8%), Vietnam (6%) e India (5%). A nivel de valor exportado, los principales exportadores son China (13%), Nueva Zelanda (10%), Argentina (8%), Alemania (7%) y España (5%). Paradójicamente, no existe relación entre los países exportadores y los productores, por ejemplo, países como Estados Unidos, Turquía y Rusia, no figuran entre los principales exportadores pero forman parte de los grandes productores de miel a nivel mundial (Comisión Honoraria de Desarrollo Apícola, 2018).

2.4.1 IMPORTANCIA DE LA INDUSTRIA APÍCOLA EN MÉXICO.

La apicultura a través de los años ha tomado gran importancia socioeconómica y ecológica, es una actividad que se practica desde hace varios siglos y representa una fuente importante de empleos e ingresos en el medio rural. Esta actividad no solo se asocia con la producción de miel, polen, jalea real y propóleos, sino que también las abejas fundamentan el equilibrio del medio ambiente, pues a la par de que éstas obtienen alimento de las flores, fomentan en las plantas la capacidad de fecundarse. En un inicio la apicultura surgió con fines alimenticios, pero con el paso del tiempo, la miel comenzó a tener aplicaciones en la vida cotidiana de la humanidad, como su uso en heridas, aliviar el dolor de garganta, elaboración de cosméticos y hasta para embalsamientos (Instituto Nacional de Economía Social, 2018).

En México se pueden encontrar 5 tipos de miel representativas del país, las cuales varían de color y sabor. La primera de ellas es la miel de mezquite, que suele ser de un color ámbar claro y es producida en zonas semiáridas. La segunda es la miel mantequilla que se produce en estados como: Puebla, Tlaxcala y Estado de México. Proviene de la planta acahual, pero también se le conoce como champote o gigantón. La siguiente es la miel de azahar, que se produce en las regiones citrícolas (Veracruz, Tabasco, Tamaulipas) en huertos de naranjo en los meses de marzo y abril. El cuarto tipo es la miel de los huertos de aguacate, la cual se caracteriza por su color oscuro, un

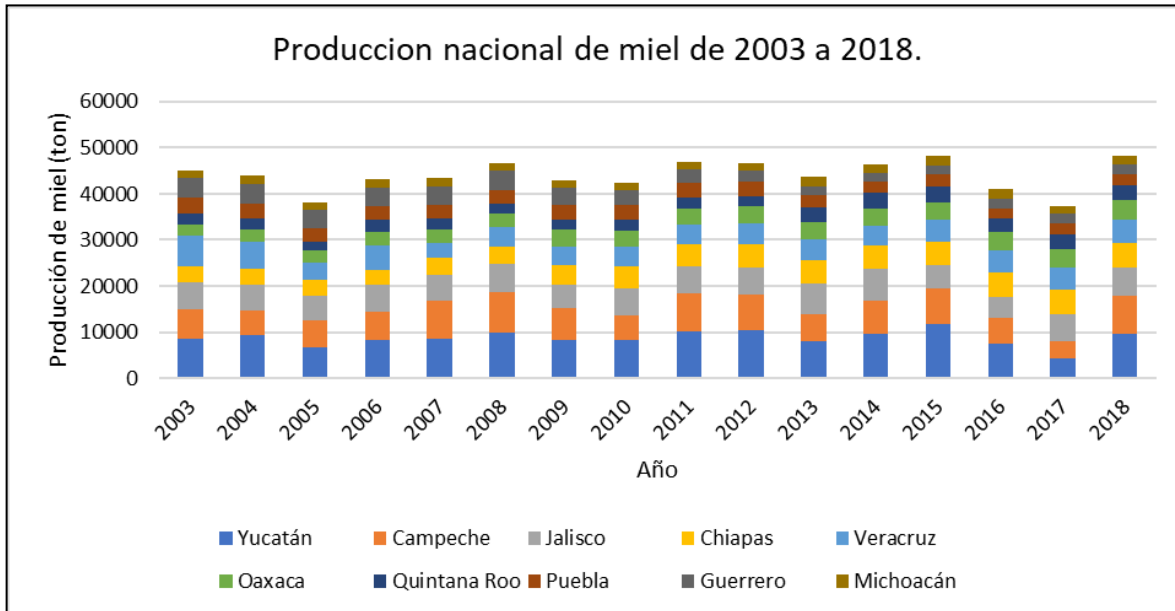
alto contenido de humedad y un sabor fuerte. Por último, la miel de Melipona producida en la península de Yucatán, Quintana Roo y Campeche, la cual se deriva a partir de la planta de tajonal y dzidzilché (Olguín & Medina, 2019).

La industria apícola en México ha mostrado un crecimiento significativo en los últimos años, de acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), México es el séptimo productor de miel a nivel mundial. Cuenta con cinco regiones productoras de miel, las cuales son: la Región Norte, Región de la Costa del Pacífico, Región del Golfo, Región del Altiplano y la Región Sureste. Cada una produce una clase de miel diferente (SAGARPA, 2018).

Entre los años 2003 a 2018 la producción nacional de miel se ha concentrado, principalmente, en estados del sureste del país, como: Yucatán, Campeche, Jalisco, Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Guerrero y Michoacán. De tal forma que Yucatán tienen la mayor aportación y la menor Michoacán (**Figura 1**) Durante ese periodo de 15 años Yucatán contribuye con la mayor cantidad de miel a la producción nacional con un promedio de 8,700 toneladas anuales (**Gráfica 3**).



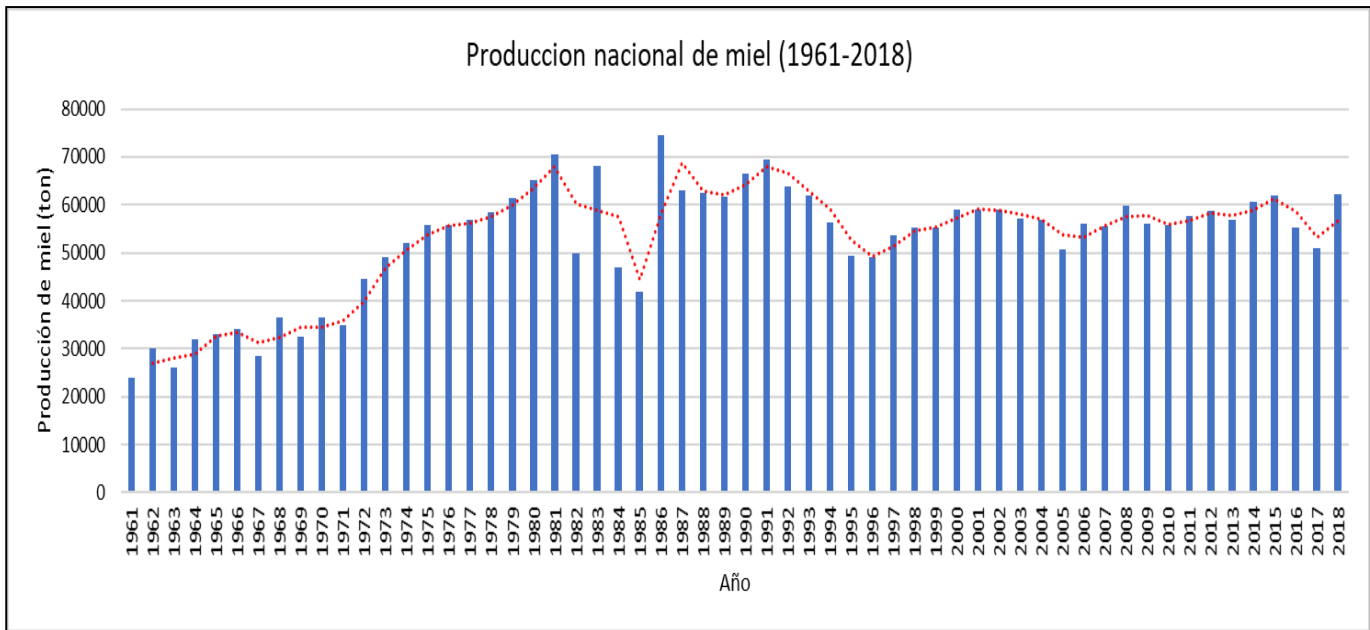
Figura 1. Principales estados productores de miel en México de los años 2003 a 2018 (SIAP, 2018).



Gráfica 3. Principales estados productores de miel en el país de 2003 a 2019 (SIAP, 2018).

Esto se refleja en aportaciones a la economía, por ejemplo, México es el tercer lugar en exportación de miel a la Unión Europea, principalmente a Reino Unido y Alemania; el valor de la exportación de este producto en 2016 ascendió a 93 millones 756 mil 485 dólares.

Desde el año 1961 México aumentó su producción de miel gradualmente hasta llegar a un pico máximo en el año 1981, en los cuatro años siguientes abría una baja en la cantidad de este producto. Para 1986 se produjo la mayor cantidad de miel hasta donde se tiene registro: 74, 613 toneladas de miel (**Gráfica 4**). Para el año 2000 en adelante no existieron cambios bruscos, hasta 2017 en donde la cantidad de miel disminuyó hasta 10 mil toneladas, sin embargo, en 2018 la producción se restableció al nivel de la última década.



Gráfica 4. Producción Nacional de miel de 1961 a 2018 (FAOSTAT, 2019) (SIAP, 2018).

2.5 LEGISLACIÓN NACIONAL APLICABLE A LA MIEL.

Los estándares de calidad aplicables a la miel son establecidos por diferentes dependencias de gobierno como: la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA), La Secretaría de Economía (SE), la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI) y otras empresas e instituciones del sector privado. Esto se logra a través de normas oficiales mexicanas (NOM) y normas mexicanas (NXM), las primeras son de carácter obligatorio, elaboradas por dependencias del gobierno federal, mientras que las segundas son de ámbito primordialmente voluntario, promovidas por la Secretaría de Economía y el sector privado, a través de los Organismos Nacionales de Normalización (Secretaría de Economía, 2016). Cabe mencionar que las normas mencionadas a continuación están basadas en normas internacionales establecidas por el Codex Alimentarius y la Comisión Europea.

Normas específicas como: NOM-145-SCFI-2001, NMX-F-416-S-1982 y NMX-F-036-981 son específicas para la miel, sin embargo, al ser un producto preenvasado debe de cumplir con los requisitos establecidos en otras normas oficiales mexicanas que contemplan a la miel como cualquier otro alimento.

2.5.1 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-145-SCFI-2001. INFORMACIÓN COMERCIAL-ETIQUETADO DE MIEL EN SUS DIFERENTES PRESENTACIONES.

Para que la miel pueda ser comercializada debe de cumplir con requisitos como cualquier alimento, la norma oficial mexicana NOM-145-SCFI-2001 establece la información comercial que debe exhibir el etiquetado de la miel preenvasada que se comercializa dentro del territorio de los Estados Unidos Mexicanos en sus diferentes presentaciones. Esta norma no es aplicable a la miel que contenga productos o sustancias diferentes a los componentes naturales, en tal caso se debe de aplicar la norma NOM-051-SCFI-1994 (NOM-145-SCFI-2001. Información comercial-etiquetado de miel en sus diferentes presentaciones).

2.5.2 NMX-F-036-981. MIEL DE ABEJA.

En esta norma se establecen los requerimientos de calidad mínimos necesarios con los que debe cumplir la miel para su consumo humano. Presenta la definición básica de la miel, así como sus diferentes tipos de clasificación y designación: miel de panal, miel de abeja líquida y miel de abeja a cristalizada.

Las especificaciones con las que debe de cumplir la miel se dividen en sensoriales (color, olor y sabor), que son propias de cada tipo de miel y las físicas y químicas, para las cuales se establecen cantidades mínimas y/o máximas.

Las siguientes especificaciones en la norma son las microbiológicas, indicando así que la miel no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas e inhibidores microbianos. De igual forma la miel no debe de contener fragmentos microscópicos de insectos y excretas de roedores, así como cualquier otra materia extraña. Tampoco se permite el uso de aditivos alimentarios con el fin de alterar su conservación, consistencia o contenido de azúcares. Respecto a los contaminantes químicos la miel no deberá contener ningún tipo de plaguicida en cantidades que represente un riesgo para la salud (NMX-F-036-981. Miel de abeja. Especificaciones.)

En el rango de las especificaciones de calidad en las normas: NMX-F-036-981 y CODEX-STAN-012-1981. (REV. 2 2001), no hay una diferencia significativa a excepción del límite permitido de hidroximetilfurfural (HMF), puesto que la Norma

Mexicana establece como máximo 150 mg/Kg en contraste con los 80 mg/Kg que propone el Codex Alimentarius (**Tabla 2**).

En versiones anteriores (CODEX-STAN-012-1981) de la norma del Codex Alimentarius los límites de glucosa y fructuosa se tomaban como un único parámetro, estableciendo que la suma de ambos monosacáridos debe de ser como mínimo 60g/100g, no obstante, en revisiones posteriores (REV. 2 2001) se omite el nombre de los azúcares para denominarlos únicamente como: azúcares reductores, de igual forma cambian la cantidad mínima que debe de contener la miel a 65g/100g (CODEX STANDARD FOR HONEY CODEX STAN 12-1981, REV. 2 2001) (**Tabla 2**).

Respecto a su marcado y etiquetado la norma mexicana indica que en la etiqueta debe tener los siguientes datos visibles: denominación de producto, marca comercial registrada, el contenido neto, nombre o razón social del fabricante y domicilio donde se envase el producto, la leyenda 'producido en México' y el número de registro correspondiente. El envase en el que se presente la miel debe de garantizar la estabilidad y calidad de la miel, por lo que debe de ser de un material atóxico, resistente e inocuo.

Tabla 2. Especificaciones físicas y químicas. Adaptación de la Norma NMX-F-036-981 y CODEX-STAN-012-1981 (REV. 2 2001).

FACTORES ESENCIALES DE COMPOSICIÓN Y CALIDAD	NMX-F-036-981.	CODEX-STAN-012-1981. (REV. 2 2001)
Contenido aparente de azúcar reductor %(g/100g) mín.	63.88	65
Contenido de sacarosa % (g/100g) máx.	8	5
Contenido de glucosa % (g/100g) máx.	38	-
Humedad % (g/100g) máx.	20	21
Sólidos insolubles en agua % (g/100g) máx. (excepto la miel en panal)	0.3	0.1
Cenizas % (g/100g) máx.	0.60	0.60
Acidez expresada como miliequivalentes máx.	40	40
Hidroximetilfurfural (HMF) expresado en mg/kg máx.	150	80
Dextrinas % (g/100g) máx.	8	-
Índice de diastasa máx.	4	-

2.5.3 NMX-F-416-S-1982. PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA USO HUMANO MIEL DE ABEJA. MÉTODOS DE PRUEBA.

En esta norma se describen los métodos de prueba para verificar las especificaciones establecidas en la norma NMX-F-036. La toma de muestra varía dependiendo si es miel líquida o miel de un panal. En el primer tipo no existe ninguna complicación excepto que la miel tenga sólidos insolubles, si es así esta debe de ser filtrada a través de un tamiz. Para el segundo tipo se debe de cortar la parte superior del panal y de igual forma se filtra para eliminar todo aquello que pueda interferir con las pruebas.

La miel debe estar homogénea, si no es así, se calienta en baño maría durante 30 min a una temperatura de 60 a 65 °C, posteriormente se mezcla para que la toma de muestra sea uniforme. Los métodos de prueba se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Métodos de prueba para la miel de abeja. Adaptación de la norma NMX-F-416-S-1982.

Nombre	Fundamento
Determinación de humedad	Método refractométrico de Wedmore.
Determinación de glucosa y sacarosa	Métodos de glucosa-oxidasa
Determinación de acidez	Titulación ácido-base
Determinación de cenizas (substancias minerales)	Pesado de las cenizas después de una carbonización
Determinación de sólidos insolubles en agua.	Pesado de sólidos insolubles a partir de una solución de miel en agua
Determinación de Dextrinas	Sedimentación de dextrinas
Determinación de hidroximetilfurfural (HMF)	Método de Winkler.

Los métodos propuestos en la Norma Mexicana no varían a los que incluye el Codex Alimentarius, sin embargo, en los últimos años la determinación de azúcares en la miel, así como el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) se realiza por técnicas más eficientes como lo es la cromatografía de líquidos, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear (RMN) (Food and Agriculture Organization, 2000).

2.6 FORMAS DE ADULTERACIÓN EN LA MIEL.

La adulteración de la miel es una práctica común pues representa obtener más ganancias por un menor esfuerzo. Por adulteración se entiende cualquier alteración en la pureza de un producto por agregación de algo que le es ajeno o impropio o la eliminación de alguna característica que lo identifica (Rico & Cáceres, n.d.).

La adulteración en la miel puede ocurrir de manera accidental o intencional, si bien el primer tipo de alteración puede evitarse el segundo constituye un fraude. En cualquiera

de ambos casos el valor nutricional disminuye y por lo tanto la mayoría de sus propiedades y beneficios para la salud. Al decaer en su calidad, la miel puede sufrir un desprestigio, ocasionando que su consumo y valor económico disminuya.

2.6. 1. ALTERACIÓN ACCIDENTAL.

Una alteración accidental en la miel puede ocurrir en distintos pasos de la producción de la miel, ya sea por un mal almacenaje, exposición a temperaturas altas o condiciones higiénicas inapropiadas.

La cantidad de miel que se produce está sujeta a la estación del año. Siendo la primavera la temporada del año que mayor favorece la producción, puesto que es cuando comienza la floración. Sin embargo, el clima o la deforestación pueden ser factores que provocan la disminución de flora que pueda beneficiar a las abejas, por lo que los apicultores alimentan a las colmenas con fórmulas que contienen los nutrientes necesarios para su supervivencia, empero, muchas veces este alimento no es el adecuado, pues pueden ser soluciones compuestas únicamente por concentrados de azúcares, como jarabes de azúcar refinada, miel de agave o soluciones de piloncillo. Si este tipo de alimentación no se hace con medida ocasiona un exceso anormal de azúcares en la miel.

Los niveles de sacarosa se pueden ver afectados si la miel se extrae cuando no está madura. La maduración de la miel conlleva el procesamiento de los azúcares del néctar de las flores para convertirlos en moléculas más simples, por lo que en un inicio la miel tiene una mayor concentración de sacarosa, posteriormente ésta es transformada por la invertasa a glucosa y fructuosa (White, 1978).

2.6. 2. ADULTERACIÓN INTENCIONAL.

Este tipo de adulteración se lleva acabo de forma consciente por parte de los apicultores. La forma más habitual de hacerlo es a través de la adición de jarabes con alto contenido de azúcares (fructuosa, glucosa y sacarosa).

La ultrafiltración de la miel es otro tipo de adulteración, se hace con el propósito de eliminar el polen para evitar el reconocimiento de su origen floral. Por lo que los análisis palinológicos han sido desplazados por métodos analíticos más eficientes.

Otro tipo de adulteración es la adición de antibióticos, que se administran para favorecer la sobrevivencia de la colonia. En el año 2005 se detectó la presencia de cloranfenicol en miel importada de Polonia hacia los Estados Unidos. Dicho antibiótico actúa sobre un grupo numeroso de bacterias, durante años se ha usado sin restricciones como fármaco para humanos y uso veterinario. La progresiva detección de efectos secundarios ha llevado a las autoridades sanitarias a limitar su uso (Rodríguez Jerez, 2005).

2.7 TIPOS DE ANÁLISIS PARA LA AUTENTIFICACIÓN DE LA MIEL.

La adulteración de la miel no es fácil de detectar por parte del consumidor. El sabor, color y aroma de la miel están determinados por el tipo de flor que visiten las abejas, por lo que estos parámetros no pueden ser utilizados para determinar si la miel fue adulterada. La única forma de reconocer la calidad del producto es a través de estudios de laboratorio especializados (Olguín & Medina, 2019).

En 2018 la Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO) realizó un análisis de las mieles comerciales disponibles en el supermercado. De 20 diferentes marcas, resultó que solo una estaba adulterada. No obstante, gran parte de la miel que se consume en el país se adquiere en negocios informales, lo que dificulta la detección de posibles alteraciones (PROFECO, 2018).

De acuerdo con la definición de la norma NMX-036, la miel no tendrá ningún agregado ni tampoco se eliminará ningún componente particular de la miel. Sin embargo la miel está sujeta a adulteraciones con edulcorantes de bajo costo como lo pueden ser jarabes de maíz de alta fructuosa, jarabes invertidos (azúcar de mesa con agua) y jarabes de inulina (Pascual-Maté et al., 2018). La disponibilidad de jarabes de inulina en México es mucha ya que este polisacárido es un derivado del agave. Aunado a que la mayor plantación de agave en el país se encuentra en el estado de Jalisco (tercer

productor de miel a nivel nacional), lo que provoca que la miel sea susceptible a alteraciones con este tipo de jarabe. La adición de soluciones con un alto contenido de glucosa y/o fructuosa dificultan la identificación de adulteraciones, puesto que ambos azúcares son componentes naturales de la miel.

2.7.1 CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS/GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Ambas técnicas están basadas en la separación de componentes de una mezcla ya sea de un líquido o en un gas, a partir de sus diferentes interacciones de solutos a medida que se desplazan por una fase estacionaria. Los dos tipos de cromatografía se han empleado simultáneamente para analizar azúcares en la miel, sin embargo, también pueden ser acoplados a otro tipo de técnicas como espectrometría de masas. Ruiz y colaboradores desarrollaron un método (GC-MS) que permite la detección de adulteraciones en la miel con jarabe de inulina de alta fructuosa, lo que permitió detectar fructuosa, sacarosa, dianhídridos de fructosa (inulobiosa, cetosas e inulotriosa) en todas las muestras, las cuales fueron adulteradas a tres diferentes concentraciones (5, 10, 20 %) (Ruiz-Matute & Rodríguez-Sánchez, 2010).

A pesar de que la miel es una mezcla compleja compuesta en su mayoría por azúcares existen otros compuestos minoritarios que pueden servir como marcadores, y así facilitar su autenticación. La capacidad antioxidante de la miel es una de las propiedades mas atractivas para los consumidores y la cual está determinada por su perfil polifenólico. Siguiendo esta premisa Dabic y colaboradores determinaron en un grupo de 58 muestras de mieles de diferentes regiones de Serbia su perfil fenólico y su capacidad antioxidante a través UHPLC-LTQ (Cromatografía líquida de ultra-alto-rendimiento-acoplado a un detector de masas de triple cuadrupolo), lo que permitió identificar 36 compuestos: 24 flavonoides, dos ácidos abscísicos y 10 ácidos fenólicos y sus derivados (Dabic et al., 2014).

2.7.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO.

Este tipo de técnicas son útiles para evaluar la adulteración de muestras de miel en tiempo real. Otras ventajas son que es un método rápido, no destructivo y relativamente económico, lo que favorece que pueda ser valorado como método de rutina en control de calidad. Woodcock y colaboradores determinaron la eficacia de este método al analizar 167 muestra de miel sin filtrar (88 irlandesas, 54 mexicanas y 25 españolas) y 125 muestras de miel filtradas (25 irlandesas, 25 argentinas, 50 checas y 25 húngaras). Los espectros obtenidos fueron procesados con varios modelos: análisis de componentes principales (PCA), modelo de mínimos cuadrados parciales (PLS) y modelado independiente suave de análogos de clase (SIMCA). Para la miel sin filtrar, el modelo SIMCA fue el mejor, clasificando correctamente 95.5%, 94.4% y 96% para miel irlandesa, mexicana y española, respectivamente. El PLS logró identificar correctamente el 100% de cada una de estas clases de miel. En el caso de miel filtrada, los mejores modelos fueron producidos usando SIMCA; clasificación correcta se obtuvo en 91.7%, 100%, 100% y 96% para las mieles de origen argentino, checo, húngaro, e irlandés, respectivamente. El análisis discriminante PLS2 identificó correctamente el 96%, 100%, 100% y 100% para las muestras de miel Argentina, checa, húngara e irlandesa, respectivamente. En general, SIMCA y PLS dieron resultados alentadores, pero mejor clasificación se logró utilizando la regresión PLS (Woodcock et al., 2007).

2.7.2 ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS.

Esta técnica presenta la misma eficiencia que la espectroscopía IR puesto que no es destructiva y es fácil de llevar a cabo. Almaleeh y colaboradores tomaron tres muestras de tres marcas comerciales de miel de Malasia, las cuales analizaron utilizando espectroscopía UV-VIS en un rango de longitud de onda de 200 a 400 nm. Posteriormente, los espectros resultantes se modelaron utilizando un análisis de componentes principales (PCA), los tres principales componentes lograron clasificar el 98.03 % de los datos, los espectros se combinaron por separado con la máquina de vectores de soporte (SVM) para el desarrollo del modelo (PC-SVM), el cual logró una precisión de discriminación del 100% (Almaleeh et al., 2017).

2.8 ADULTERACION DE MIEL: ANTECEDENTES.

La adulteración de un alimento se puede definir como la adición fraudulenta de sustancias que no son auténticas o la sustitución de sustancias auténticas sin el conocimiento del comprador, para que el vendedor obtenga beneficios económicos. La comisión europea en 2017 indicó que la miel se encuentra en el quinto puesto de los alimentos más adulterados. Esta práctica deshonesta se lleva a cabo por la adición de jarabes de azúcar, sin embargo, no es la única forma pues también se pueden agregar antibióticos (Chavarrías, 2017)

Para finales de la década de los noventa China contaba con más de 7 millones de colmenas. El gran número de colmenas y la adulteración llevada a cabo por parte de los productores con jarabe de arroz, provocaron un excedente masivo de miel. Este exceso fue vendido a Estados Unidos, uno de los mayores importadores del mundo. Al ser mayor la oferta que la demanda provocó la depreciación del valor de la miel, evitando que los productores locales pudieran competir con los bajos precios a los que se vendía la miel proveniente de China, obligando a algunos apicultores a abandonar el mercado. En 2001 el gobierno estadounidense detectó esta problemática, conocida como *dumping*¹ y optó por darle prioridad a los productores de su país, aplicando grandes aranceles a la miel que se importaba desde China, aumentando su valor hasta tres veces más. Sin embargo, China buscó otras acciones para evitar estas restricciones, como: la importación a través de otros países y la ultrafiltración para eliminar los restos de polen de la miel y así dificultar la identificación de su origen botánico y geográfico (Berfield, 2013).

Para el año 2008, Estados Unidos emprendió una investigación en contra de empresas encargadas de la importación de miel, dicho proceso duró hasta el año 2015, evidenciando uno de los mayores fraudes en la industria alimenticia, pues cerca de 80 millones de dólares se perdieron al evitar cargos de importación de miel adulterada proveniente de China (Berfield, 2013).

¹ El *dumping* o competencia desleal consiste en vender un producto a un precio inferior al coste incurrido para producirlo, con el objetivo de competir más eficazmente en el mercado (Debitoor, n.d.).

En el caso de México el Comité Nacional Sistema Producto Apícola estima que tres de cada cuatro frascos de miel son adulterados y puestos a la venta en la ciudad. Esta competencia desleal ha llevado a disminuir en 42 pesos el kilo de miel nacional. Estas acciones han afectado directamente a los apicultores pues los obliga a bajar el valor de su producto para poder competir contra las mieles adulteradas (Notimex, 2018).

Acciones fraudulentas como lo es la adulteración de la miel afectan tanto al consumidor como a la economía de un país. Por una parte, la población no tiene la certeza de que lo que consume es miel pura, afectando la confianza que se tiene al consumir productos de origen natural y restando todos los efectos benéficos que puede llegar a presentar este producto.

Entre los años 2000 a 2016, China, el mayor productor en el mundo, aumentó su producción de 230 mil a casi 500 mil toneladas, más del doble, y exporta al menos 120 mil toneladas a diferentes países. Esto crea un excedente en el mercado que no solo afecta a los países que importan miel desde el gigante asiático, ya que se malbarata la miel en el mercado mundial, por lo que otros países se tienen que ver en la necesidad de disminuir el valor de sus importaciones para competir con el exceso de ésta (Notimex, 2018).

2.9 FUNDAMENTO DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

La espectroscopía visible es una herramienta altamente utilizada en el análisis químico, por su facilidad de uso y su costo relativamente bajo.

Para que una sustancia sea activa en el espectro visible debe de ser colorida, pues se fundamenta en que se absorben ciertas frecuencias o longitudes de onda y se transmiten otras más. La absorción y transmisión de longitudes de onda varía, ya que de un mismo color existe una gama extensa de tonalidades. El rango visible se considera de los 380 a los 750 nm y del ultravioleta cercano o del cuarzo es de 190 a 380 nm. La base de la espectroscopía visible y ultravioleta consiste en medir la intensidad del color (o de la radiación absorbida en UV) a una longitud de onda

específica comparándola con otras soluciones de concentración conocida (soluciones estándar) que contengan la misma especie absorbente (Skoog, 1998).

La medición de la absorbancia de la luz por las moléculas de una muestra se realiza en equipos llamados espectrofotómetros. Aunque existen diferentes diseños el fundamento es el mismo. Una fuente de energía radiante (lámpara de deuterio y tungsteno) emite un haz de luz que atraviesa un monocromador para determinar la longitud de onda, esta radiación llega a un compartimiento en donde se encuentra la muestra, el cual puede ser de vidrio, cuarzo (específico para medir radiación UV) o plástico; la luz que no es absorbida llega a un detector y a un amplificador que convierte las señales luminosas a eléctricas, finalmente esto es procesado por un registrador (**Figura 2**) (Díaz et al., 2012).

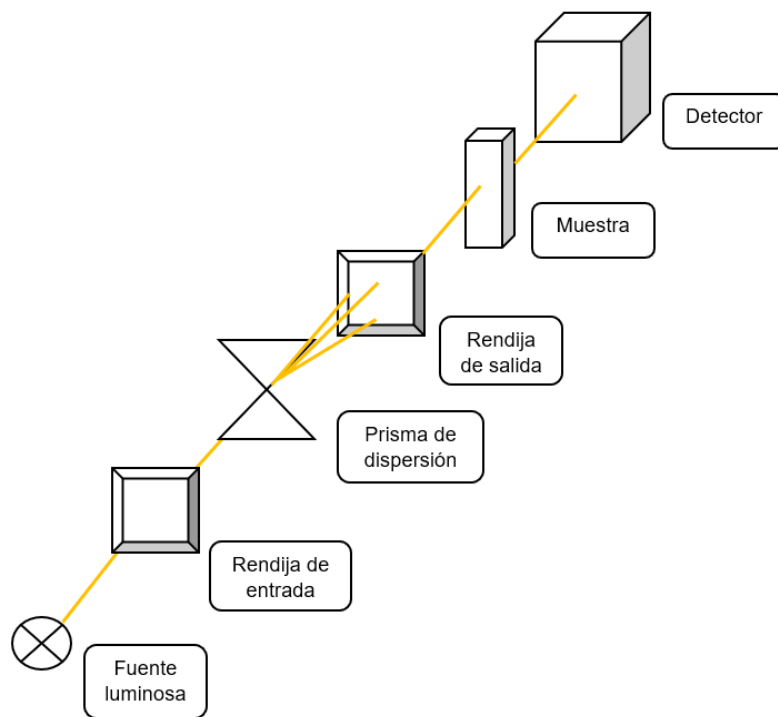


Figura 2. Componentes de espectrofotómetro UV-VIS (Díaz et al., 2012).

2.10 FUNDAMENTO DE ESPECTROSCOPIA IR.

Esta técnica forma parte de la espectroscopía vibracional, recibe su nombre a partir de la región del espectro que implica. Este intervalo se encuentra entre 12800 a 10 cm^{-1} . Sin embargo se puede dividir entre tres zonas dependiendo de sus aplicaciones como en los equipos empleados: IR cercano (NIR): 12800 - 4000 cm^{-1} , IR medio: 4000 - 400 cm^{-1} ; IR lejano: 400 - 10 cm^{-1} , siendo en el IR medio donde se dan la mayoría de las aplicaciones analíticas tradicionales, aunque desde la década de los 80 la utilización del NIR ha experimentado un innegable auge (Serrano-Martínez, 2002).

El funcionamiento de un espectrofotómetro de IR (**Figura 3**) se basa en la radiación que emite una fuente, se separa en el divisor y una parte se dirige al espejo móvil y otra al espejo fijo, posteriormente estos dos rayos se recombinan de un manera constructiva o destructiva dependiendo de la posición del espejo. El resultado es un interferograma (intensidad en función del tiempo) el cual se convierte via un algoritmo matemático (transformada de Fourier) en un diagrama de intensidad en función de la frecuencia (espectro) (Mondrag, 2000).

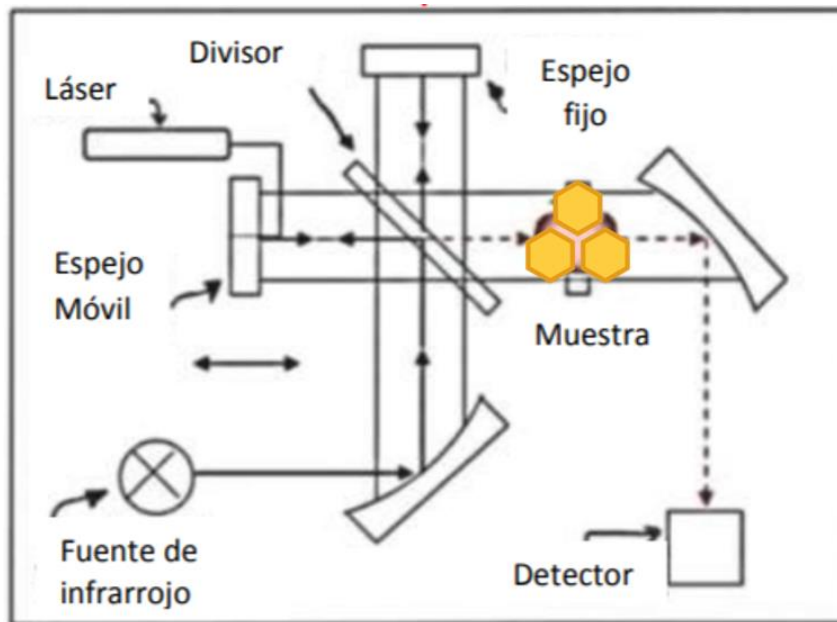


Figura 3. Componentes de un espectrofotómetro IR (Mondrag, 2000).

2.11 PRINCIPIOS DE QUIMIOMETRÍA.

Los métodos analíticos permiten la adquisición de una gran cantidad de datos, sin embargo, la posesión de esta información no siempre proporciona respuestas adecuadas. Por lo que estos datos deben de ser interpretados y colocados en el contexto correcto para facilitar su comprensión. La quimiometría es la disciplina que tiene esta finalidad, por lo que su uso se ha hecho imprescindible en el análisis químico. Es una disciplina que aplica métodos de origen matemático, estadístico y otros procedentes del campo de la lógica, por todo ello, la quimiometría se sitúa en un campo interdisciplinario (Mongay, 2005).

Es aplicable a cualquier proceso en donde se tenga un gran número de datos que dependan de diferentes variables. Por ejemplo, en la fabricación de un fármaco, si se fabrican 10 lotes por semana y se toman 12 muestras (que sean representativas de las fases inferior, media y superior del reactor donde se han producido, por ejemplo), se obtiene un conjunto de 120 muestras. Si cada muestra individual se caracteriza por 7 parámetros distintos (que sean un reflejo de su composición, forma, tamaño u otras propiedades que la caractericen), el conjunto de datos a considerar estaría formado por 120×7 datos. De este conjunto de información se podría conocer: si las muestras son homogéneas o no, si existe una muestra atípica (*outlier*), si un grupo de muestras tienen un comportamiento característico (y si este se puede entender a partir de las variables que comparten), o si una variable es suplantaría a otra y qué relación hay entre ellas (Universitat Rovira i Virgili, n.d.).

2.11.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).

El PCA es la base de los análisis de datos multivariados. Tiene la capacidad de disminuir un grupo de datos con múltiples variables a uno más pequeño para observar tendencias, agrupaciones o valores atípicos (*outlier*). Su objetivo es extraer la información más importante de los datos y expresarla como un conjunto de índices llamados componentes principales (Eriksson, 2018). La cantidad de información incorporada en una componente está dada por su varianza, es decir, cuanto mayor sea su varianza mayor es la cantidad de información que lleva incorporada dicho componente. Por ello se selecciona como primera componente aquella que tenga la

mayor varianza, mientras que la última componente es la de menor varianza. De igual forma cuando las variables originales están muy correlacionadas entre sí, la mayor parte de su variabilidad se puede explicar en muy pocas componentes. Por el contrario, si las variables originales estuvieran completamente intercorrelacionadas entre ellas, este tipo de análisis carecería de interés, ya que en ese caso las componentes principales coincidirían con las variables originales (De la Fuente, 2011).

2.11.2. PROYECCIONES ORTOGONALES PARA ANÁLISIS DISCRIMINANTE DE ESTRUCTURAS LATENTES (OPLS-DA).

Métodos como el PCA permiten la discriminación y reducción de un gran número de variables, sin embargo, no indica porque las clases son diferentes, en cambio el OPLS-DA permite indicar como agruparlos. Por lo que el PCA se describe como un análisis exploratorio mientras que el OPLS-DA se define como un análisis discriminatorio. El OPLS-DA calcula un modelo de regresión para las diferentes clases. Por lo que, para cada una, podrá clasificar las observaciones en un conjunto de predicciones por proximidad en una de las clases. Posteriormente, dado que los límites de la clase se encuentran definidos, se podrán agregar muestras nuevas y predecir si es similar a alguna de las clases.

El OPLS-DA se basa en una proyección de datos en el eje X como el PCA, con la diferencia que se pasa de un modelo de máxima varianza a uno de separación máxima. Esta diferenciación es posible porque la proyección de datos en el eje X se guiará por la información proporcionada que se le dé a la clase conocida, por lo tanto, se pasa de un enfoque de modelado no supervisado (PCA) a un enfoque de modelado supervisado (OPLS) (Eriksson, 2017).

3. OBJETIVO GENERAL.

El objetivo primordial del presente proyecto de investigación es desarrollar una metodología que permita la clasificación de las mieles y la detección de adulteraciones utilizando métodos espectroscópicos.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Recolectar mieles de diferentes orígenes botánicos y de diferentes regiones apícolas de la República Mexicana.
2. Analizar las mieles utilizando espectroscopía de UV-VIS e IR
3. Realizar el análisis quimiométrico de los datos obtenidos por espectroscopía de UV-VIS e IR.
4. Adulterar las mieles recolectadas con miel de agave y jarabe de maíz de alta fructuosa a tres niveles diferentes: bajo, medio y alto, correspondientes a una concentración de 10, 20 y 40 % de cada adulterante.
5. Analizar las diferencias de los espectros obtenidos por IR y UV-VIS de las mieles puras mediante un análisis de proyecciones ortogonales para análisis discriminante de estructuras latentes (OPLS-DA).
6. Analizar las diferencias en los espectros obtenidos UV-VIS de las mieles adulteradas en diferente grado, por medio un análisis OPLS-DA.

3.2 JUSTIFICACION.

La miel es parte de la dieta del ser humano y año tras año la demanda de este producto aumenta, lo que impacta positivamente en el valor de la industria apicultora. Como cualquier alimento dentro del sector agropecuario, su producción se ve afectada por factores ambientales, causando variaciones en la cantidad de miel que se obtiene de las abejas.

El beneficio monetario que implica el mercado de la miel ha ocasionado que su producción se vea afectada por prácticas fraudulentas. Los métodos de adulteración, así como los análisis para determinar cualquier alteración en la miel avanzan

paralelamente, convirtiéndose en una competencia. Inicialmente, la manera más sencilla de determinar el origen floral de una miel era a través del estudio microscópico del polen (palinología), sin embargo, prácticas como la ultrafiltración eliminan cualquier rastro de estas partículas en la miel evitando que se pueda conocer el origen floral y geográfico, por lo que se ha buscado el desarrollo de métodos analíticos que permitan autentificar la miel. Actualmente, la resonancia magnética nuclear (RMN) es una de las técnicas más utilizadas y eficientes para determinar alteraciones en las ciencias alimenticias, pues permite obtener una huella digital molecular que se puede cotejar con una base de datos de muestras con cobertura mundial para así identificar cualquier tipo de alteración (Marcinkevicius, 2007). Sin embargo, esta técnica es costosa y poco accesible.

Estudios espectrofotométricos de UV-VIS e IR representan alternativas viables para realizar estos análisis, ya que son técnicas de más bajo costo y eficientes. Estos análisis combinados con técnicas estadísticas multivariadas (quimiometría) permiten determinar las diferencias entre mieles de diferentes orígenes o mieles adulteradas (Gan et al., 2016). Los métodos quimiométricos son utilizados para reducir la dimensionalidad de una gran cantidad de datos y así extraer datos cuantitativos útiles de espectros complejos. Las bandas de absorción obtenidas en los espectros son características de grupos funcionales y del ambiente químico, por lo que es único para cada muestra. Por lo tanto, cualquier alteración en su composición tiene el potencial de ser detectada (Gallardo-Velázquez et al., 2009) Para el caso de la miel, al tratarse de un grupo en específico de alimentos, sus espectros pueden ser similares, sin embargo, la composición química de cada muestra puede ser distinta, debido a variables como: origen floral, origen geográfico, especie de abeja productora y el año de recolección. Estas diferencias pueden ser identificadas mediante un análisis quimiométrico.

El desarrollo de métodos analíticos basados en espectroscopía resulta ser una alternativa viable para la autentificación de la miel, ya que representa una ventaja sobre otros tipos de técnicas, por su bajo costo, rápido procesamiento, por su accesibilidad, así como la reducción en la cantidad de muestra a utilizar. Aunando a las ventajas dichas anteriormente se suma que los datos obtenidos por este tipo de análisis pueden

ser procesados por quimiometría, facilitando su entendimiento y asegurando su efectividad.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

4.1 RECOLECCIÓN DE MIELES.

La visita a diferentes apiarios y el contacto directo con los apicultores permitió que se recolectaran un total de 59 muestras de mieles de diferentes regiones de México. Estas corresponden a 16 monoflorales y 43 mieles multiflorales. Todas las mieles fueron recolectadas en el periodo de 2016 a 2019.

4.2 REGISTRO DE LOS ESPECTROS DE UV-VIS.

Siguiendo la metodología reportada por Almaleeh y colaboradores, se prepararon disoluciones de 1:10,000 de cada miel con agua destilada y desionizada. Los espectros se registraron en un equipo Thermo Scientific GENESYS 10 (Software VISIONite Scan V7.1) Para el registro de los espectros de UV se utilizó una celda de cuarzo y agua destilada desionizada como blanco. El barrido se realizó en un rango de longitud de onda de 200 a 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio (Almaleeh et al., 2017).

4.3 REGISTRO DE LOS ESPECTROS DE IR.

Sin ningún tratamiento previo se tomó aproximadamente 1 mg de cada miel y se colocó en la celda del equipo. Los espectros se registraron en un espectrofotómetro Perkin Elmer FT-IR modelo Platinum con accesorio ATR (Software Spectrum). El barrido se realizó en un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.4 ADULTERACIÓN DE MIELES.

Se eligieron 12 muestras de miel al azar (M07, M08, M11, M13, M19, M27, M30, M40, M44, M52, M57 y M60). Estas mieles se adulteraron a tres niveles: bajo, medio y alto, correspondientes a concentraciones de 10, 20 y 40 %, respectivamente. Para dicho propósito se utilizó jarabe de fructosa y miel de agave. Una vez adulteradas se prepararon disoluciones de 1:10,000 de cada miel con agua destilada y desionizada y se realizó un barrido UV-VIS en un rango de longitud de onda de 200 a 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.

4.5 PRETRATAMIENTO DE LOS ESPECTROS.

Los datos obtenidos tanto para UV-VIS como para IR se pretrataron con Unscrambler X v. 1.1 para obtener los espectros sin tratamiento, ajustados a la línea base y derivados (primera y segunda derivada).

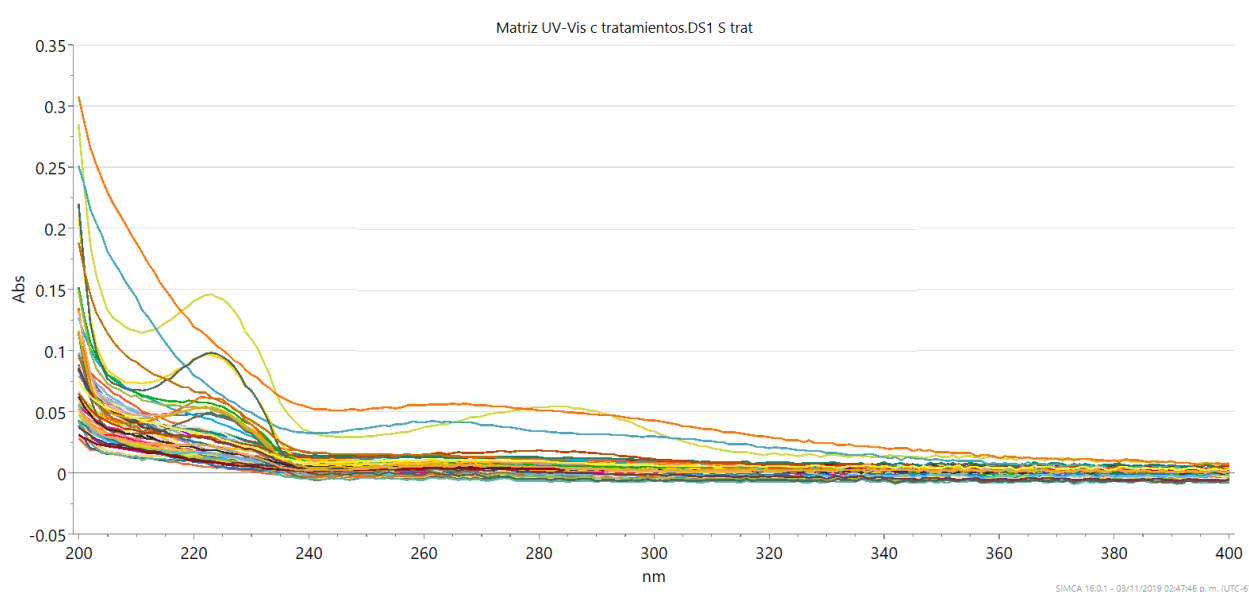
4.6 OBTENCIÓN DE MODELOS OLPS-DA.

El procesamiento de los datos se realizó utilizando el software SIMCA 16 para la construcción de cada modelo OPLS-DA. Se obtuvo un modelo para cada pretratamiento y en cada caso se eligió el que mostrará una mejor separación entre los grupos.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

5.1 ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

Se recolectaron 59 mieles, cada una con características diferentes, como: su origen floral, la especie de abeja productora, la región y el año de recolección y se realizó un barrido UV-VIS en un rango de 200 a 400 nm (**Gráfica 5**). Posteriormente, los datos fueron procesados con el software Unscrambler X v. 1.1 para obtener los espectros ajustados a su línea base, primera y segunda derivada. Para cada pretratamiento se realizó un modelo de OPLS-DA así como para cada una de sus variables. En todos los casos, aquellos a los que se les aplicó la primera derivada tuvieron una mejor separación entre los grupos (**Tabla 4**). Las gráficas de los modelos menos exitosos se encuentran en el apéndice de esta tesis.



Gráfica 5. Espectros UV-VIS de las mieles recolectadas en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.

Tabla 4. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras UV-VIS.

Modelo	Componentes (predictivo en X-Y) + (ortogonal en X) + (ortogonal en Y)	R²X	R²Y	Q²	Variable
M1.1	2+1+0	0.246	0.551	0.551	Año
M1.2	1+2+0	0.307	0.658	-0.132	Origen floral
M1.3	1+1+0	0.258	0.258	-0.0173	Región

La capacidad predictora de un modelo de OPLS-DA se puede ver limitada por diferentes factores, comenzando por las muestras, de las cuales se debe de tener información conocida, para que así sea más fácil diferenciar entre los grupos. Idealmente en cada grupo el número de muestras debería de ser el mismo, ya que entre más datos el modelo logra una mejor separación, empero no es un requerimiento esencial. De igual forma, entre menos grupos la diferenciación entre ellos es mejor (Eriksson, 2017).

Lo que determinará si un modelo es útil o no, son sus valores de R²X, R²Y y Q², los cuales pueden tener un valor entre 0 y 1. Si bien no hay valores predeterminados para estos parámetros que indiquen la viabilidad del modelo, la relación entre ellos puede ser de ayuda. El coeficiente de determinación para X (R²X) está definido por la variabilidad espectral, mientras que R²Y está dado por las variables con las cuales se alimenta el algoritmo (región, origen floral etc.). Por lo que se espera que R²X sea menor que R²Y, y a su vez que ambos valores sean menores que Q² (estimación de la capacidad predictiva del modelo), si lo anterior no se cumple se podría considerar que existe un posible ajuste excesivo del modelo, sin embargo esto no se debe de tomar como una regla definitiva, pues mientras que el valor de Q² sea positivo este indica que el modelo tiene capacidad predictiva, en contra parte, si es negativo no es en absoluto predictivo. Es decir, que el modelo no serviría per se para predecir el comportamiento de muestras

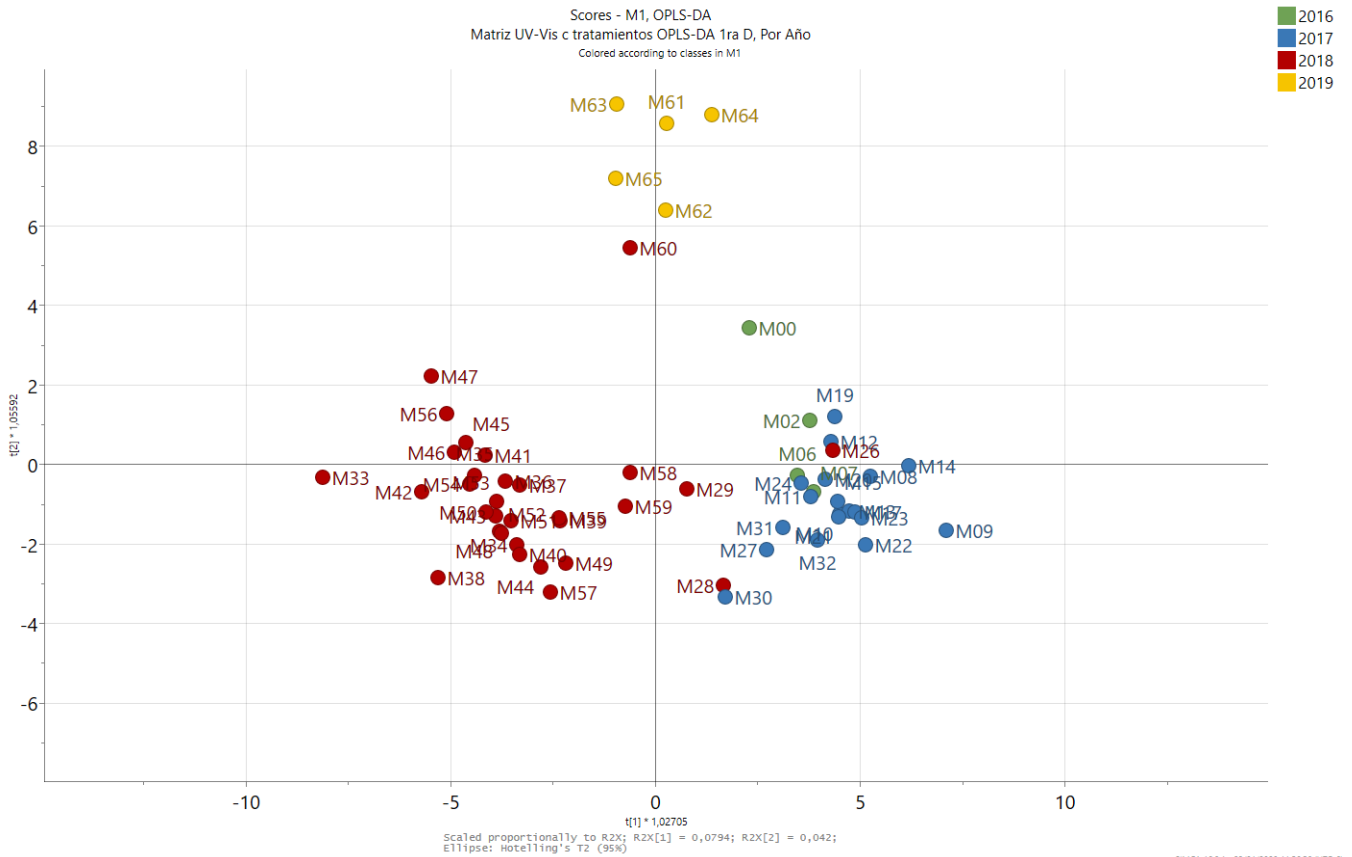
futuras, sino que su capacidad discriminadora solo sirve para los datos con los que fue hecho (Umetrics, n.d. ; Worley & Powers, 2013).

El coeficiente de determinación (R^2) es un valor adimensional, sirve como indicador del ajuste de la regresión y se define como el porcentaje de la variabilidad total de la variable dependiente que es explicada por el modelo, visto de otra forma, este parámetro ayuda a comprender qué tanta información logra conjuntar cada modelo (Laguna, 2019).

Los dos primeros modelos (**Gráficas 6 y A1**) muestran una diferenciación parcial entre cada grupo. Sin embargo, con respecto a sus valores de R^2X , R^2Y y Q^2 , el modelo que tiene una mejor capacidad predictiva es el M1.1 (**Gráfica 6**), ya que, de los tres, es el único con valor de Q^2 positivo. La separación de las muestras es parcial pues mieles de los años 2016 y 2018 no lograron diferenciarse, pues estas se agrupan con las del año 2017. Dicho lo anterior, se puede inferir que la variable que más influye en la diferenciación de las mieles es el año de recolección.

A pesar de que el modelo M1.2 tiene un valor negativo de Q^2 es evidente que en la gráfica de OPLS-DA (**Gráfica A1**) existe una separación parcial entre las mieles de origen mono- y multifloral, por lo que para modelos posteriores las muestras se dividirán en estos dos grupos.

Para el modelo M1.3 (**Gráfica A2**), en donde se toma en cuenta la región de recolección, no existe diferenciación alguna de las mieles. Debido a la cantidad excesiva de grupos y la poca cantidad en el número de muestras para cada uno de ellos.



Gráfica 6. Modelo: M1.1. OPLS-DA de mieles puras considerando su año de recolección.

5.2. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MONOFLORALES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

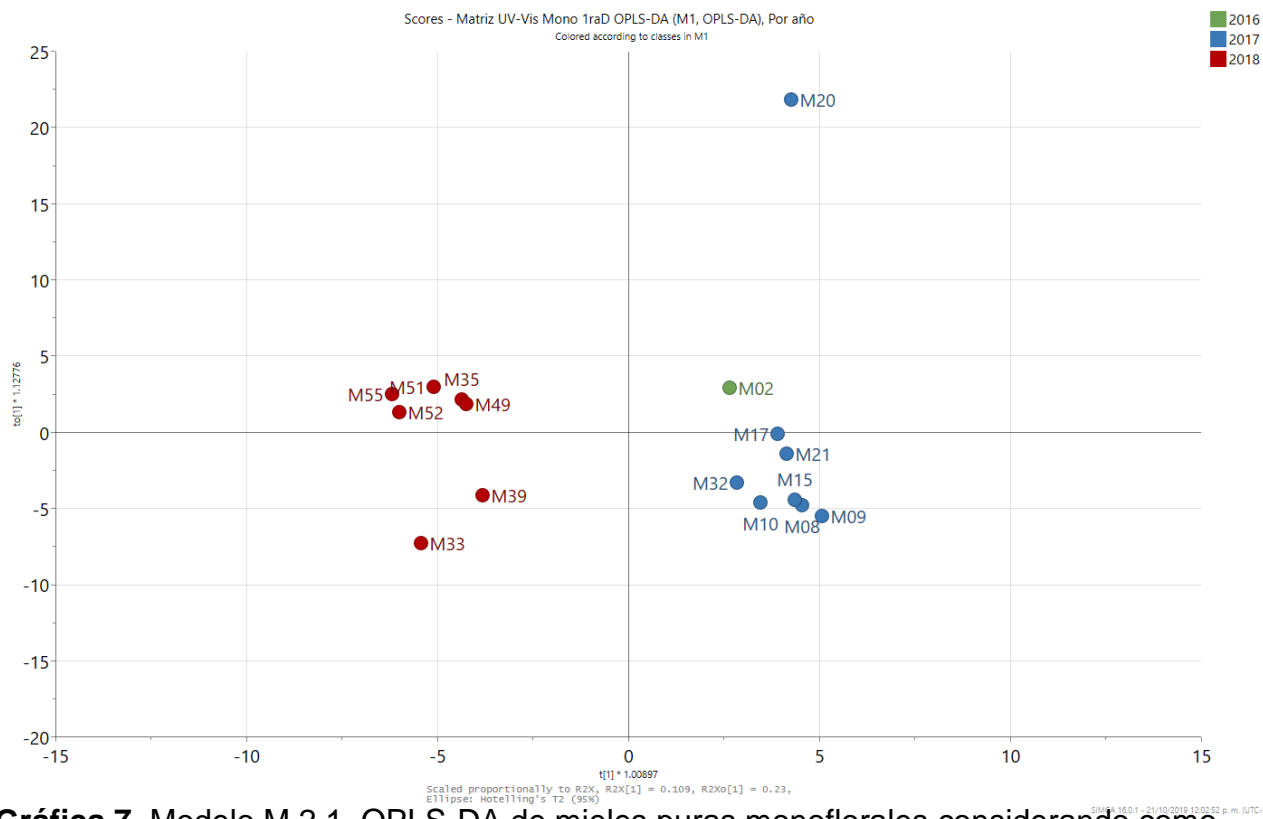
Para los siguientes modelos se tomaron en cuenta las 16 mieles monoflorales recolectadas, como variables se consideró el tipo de flor, la región y el año de recolección (**Tabla 5**).

Tabla 5. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras monoflorales. UV-VIS.

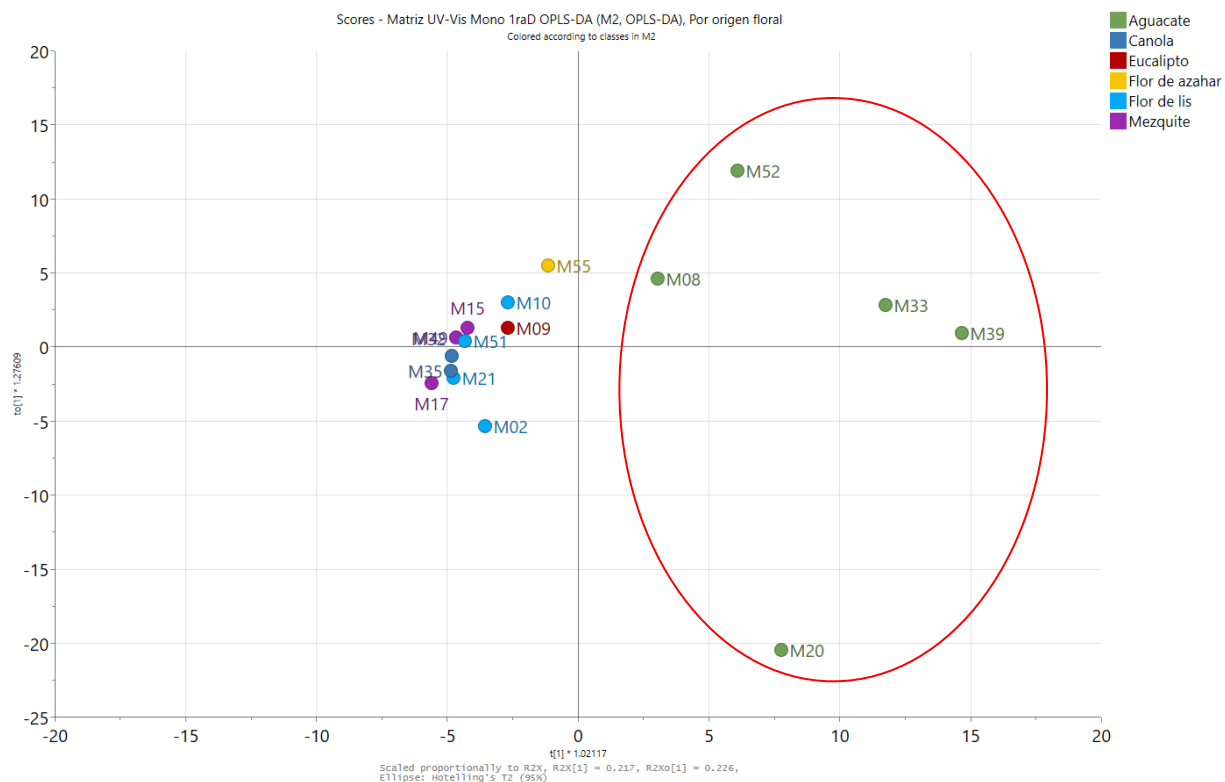
Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M2.1	1+2+0	0.559	0.609	0.395	Año
M2.2	1+2+0	0.443	0.209	0.042	Tipo de flor
M2.3	1+1+0	0.438	0.168	0.048	Región

El año de recolección es la variable que tiene una mayor influencia para su discriminación, ya que el modelo el M 2.1 tiene un valor de R²X (0.559) y de R²Y (0.609) similares, aunado a que su valor de Q² (0.395) es superior al de los demás. Para dicho modelo (**Gráfica 7**) se consideraron tres grupos correspondientes al año de recolección (2016, 2017 y 2018), para los dos últimos se tiene un número similar de muestras, sin embargo, para el año 2016 solo se contó con una miel. La mayor diferencia se encontró entre 2017 y 2018. Para 2016 pueden ser dos causas probables por las cuales la única miel en ese grupo no se puede diferenciar. La primera de ellas implica que no existe diferencia con las mieles del 2017 y la segunda, que la presencia de una sola muestra dificulta al algoritmo OPLS-DA separarlas del resto.

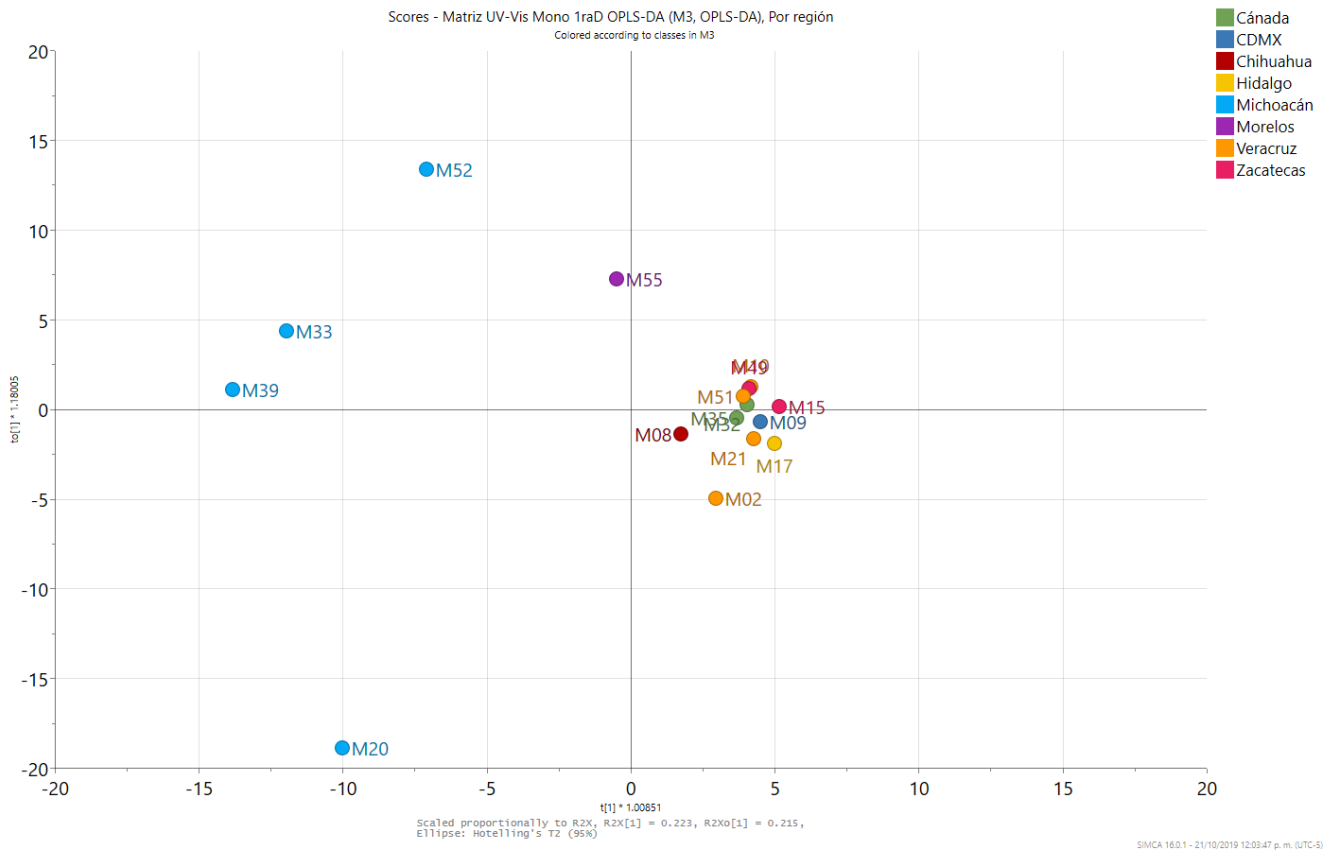
En el modelo siguiente (M2.2.) se consideró el tipo de flor, en donde las únicas muestras que lograron agruparse son las mieles de aguacate (M08, M20, M33, M39 y M52) (**Gráfica 8**). Cuando se consideró la región de recolección, las mismas mieles, todas ellas del estado de Michoacán (a excepción de M08, proveniente de Chihuahua), se separaron del lado izquierdo de la gráfica (**Gráfica 9**).



Gráfica 7. Modelo M 2.1. OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable el año de recolección.



Gráfica 8. Modelo: M 2.2 OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable el tipo de flor.



Gráfica 9. Modelo: M 2.3 OPLS-DA de mieles puras monoflorales considerando como variable la región de recolección.

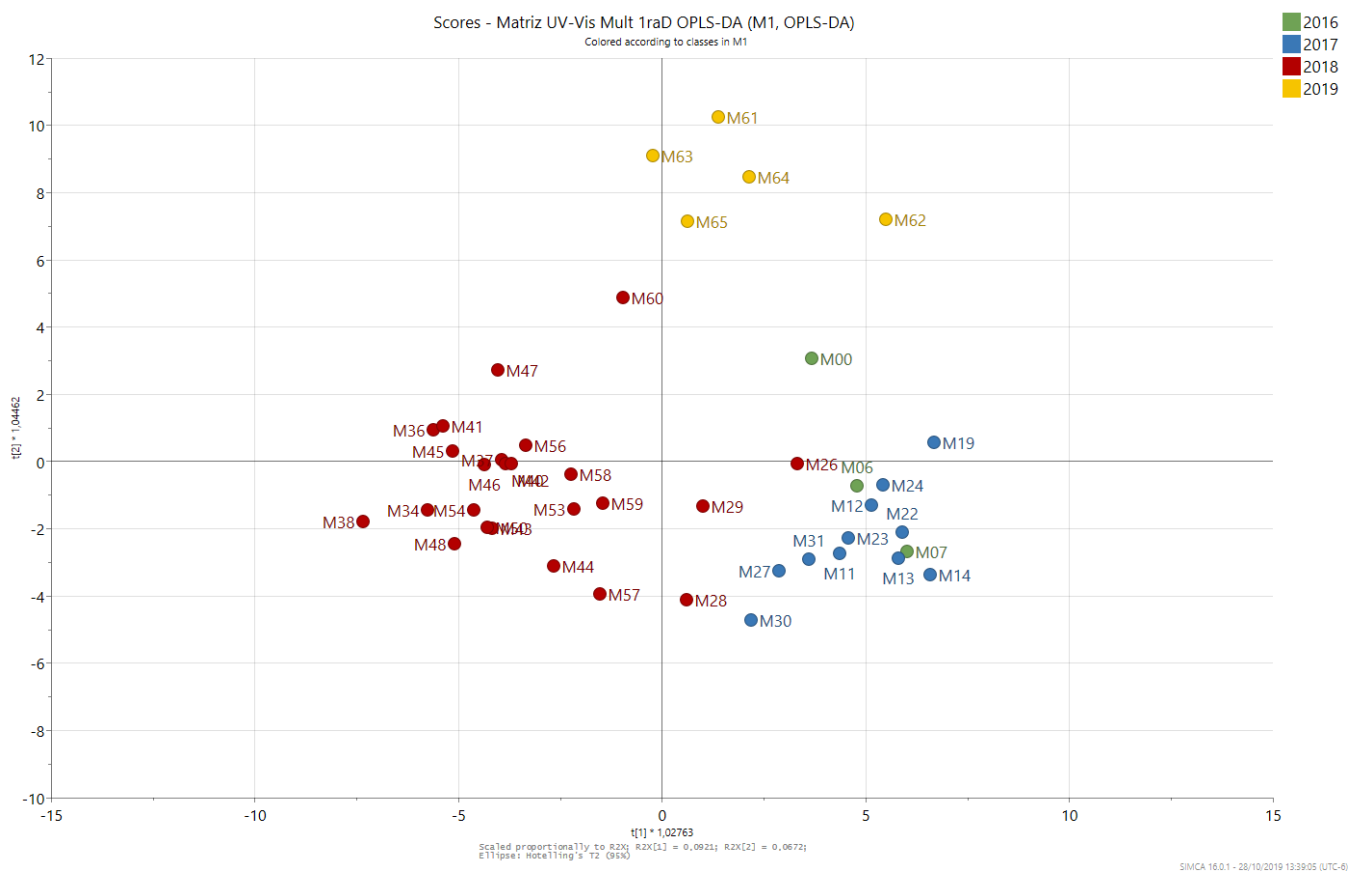
5.3. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MULTIFLORALES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

En los modelos siguientes se tomaron en cuenta las 43 mieles multiflorales restantes para la elaboración de dos modelos OPLS-DA tomando en cuenta el año y región de recolección.

Tabla 6. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles multiflorales. UV-VIS.

Modelo	Componentes (predictivo en X-Y) + (ortogonal en X) + (ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M3.1	2+1+0	0.359	0.549	0.329	Año
M3.2	1+1+0	0.264	0.0601	-0.0511	Región

Los parámetros obtenidos del análisis OPLS-DA (**Tabla 6**) permitieron determinar que la variable que tiene mayor influencia para la diferenciación de las mieles multiflorales es el año de recolección, lo cual se refleja en su valor de R^2X (0.359), R^2Y (0.549), Q^2 (0.339). En la **Gráfica 10** se puede observar una separación de las mieles recolectadas en los años 2017, 2018 y 2019. La escasa cantidad en muestras disponibles del año 2016 dificultan que el algoritmo logre una agrupación para estas mieles, las cuales no se diferencian de las muestras del año 2017. Con respecto al modelo M3.2 (**Gráfica A3**) no existe agrupación de ningún tipo, pues todas las mieles se concentran en el centro de la gráfica, empero, las mieles de la Ciudad de México se mantienen agrupadas. Estas muestras fueron las más numerosas en comparación con mieles de otras regiones geográficas.



Gráfica 10. Modelo: M 3.1 OPLS-DA de mieles puras multiflorales considerando como variable el año de recolección.

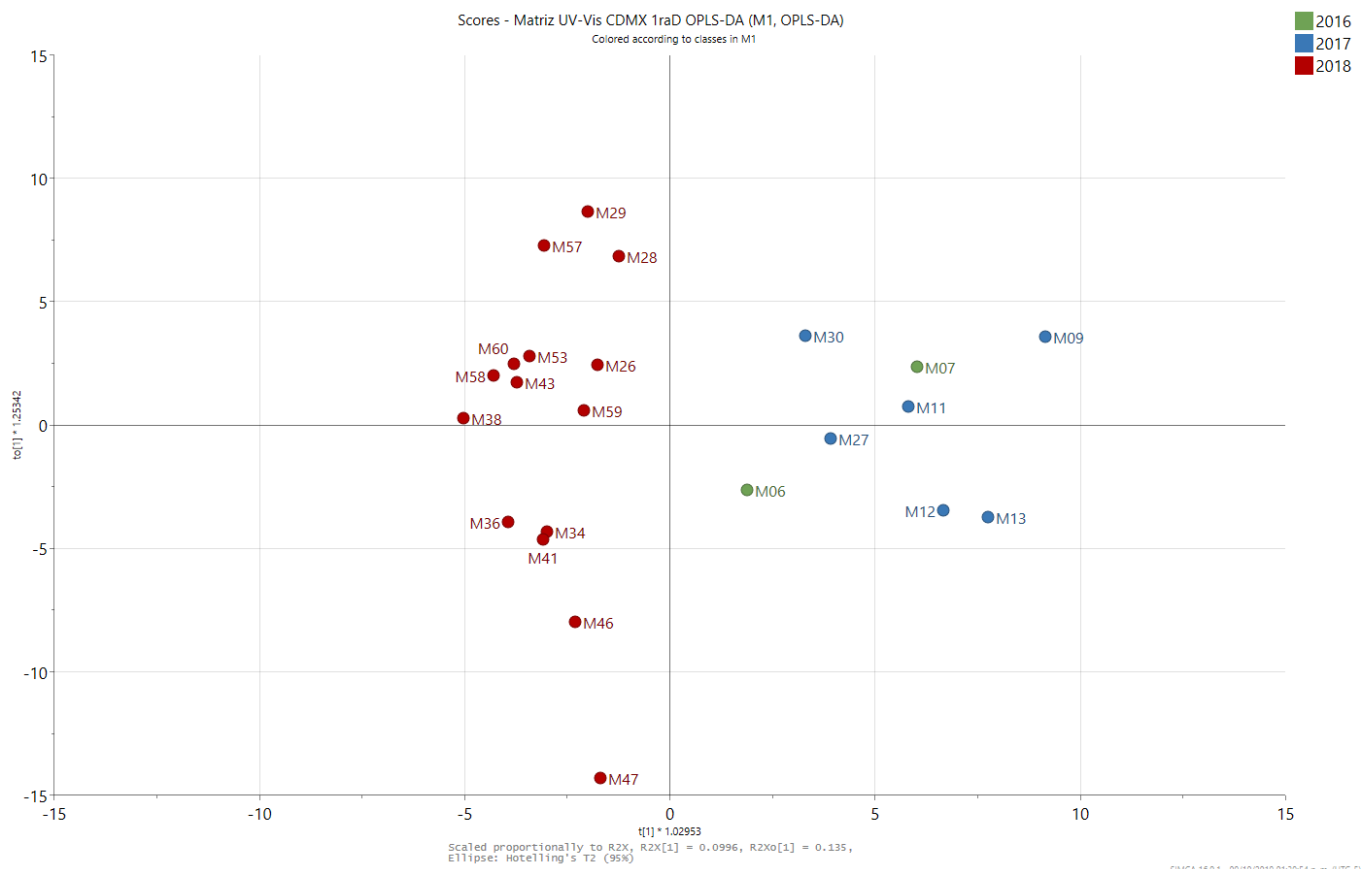
5.4. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS PROVENIENTES DE LA CIUDAD DE MÉXICO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

Se aplicó el algoritmo de OLPS-DA para un grupo de 23 mieles provenientes de la Ciudad de México considerando como variables el año de recolección y el origen floral (**Tabla 7**).

Tabla 7. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles provenientes de la Ciudad de México. UV-VIS.

Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M4.1	1+1+0	0.235	0.546	0.246	Año
M4.2	1+1+0	0.219	0.712	-0.397	Origen floral

El modelo que mejor explica la diferencia en las mieles recolectadas en la Ciudad de México es aquel que considera su año de recolección (**Gráfica 11**), pues se puede observar la separación de las mieles del año 2018 de aquellas de los años anteriores (2016 y 2017), las cuales forman un solo grupo del lado izquierdo de la gráfica. En este modelo el valor de Q² fue de 0.246. Con respecto a su origen floral las mieles multiflorales se agrupan del lado izquierdo de la **Gráfica A4**, sin embargo, la presencia de una sola muestra de miel monofloral disminuye la capacidad predictiva.

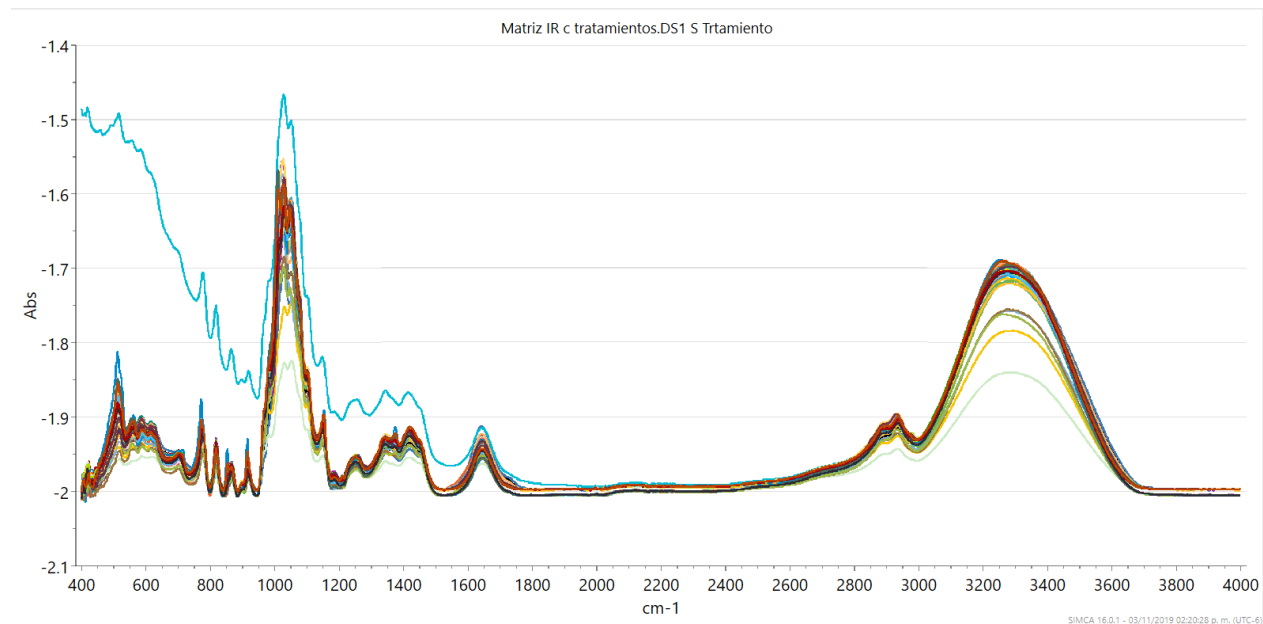


Gráfica 11. Modelo: M4.1 OPLS-DA de mieles puras provenientes de la Ciudad de México considerando como variable su año de recolección.

En los modelos realizados con los datos de UV-VIS la variante predominante es el año de recolección. La mayor diferencia se dio entre las muestras más recientes (2019) y las más antiguas (2016). El número de mieles del año 2016 es menor que para los demás años, sin embargo, estas muestras se agrupan con las del 2017, indicando que su información espectral es parecida. En la literatura se describe que la miel, con el transcurso del tiempo, es susceptible a dos procesos naturales: la fermentación y la cristalización, ambos dependen de la temperatura a la cual es procesada la miel, el contenido de agua y el tiempo de almacenamiento (Eshete & Eshete, 2018).

5.5. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR).

Para este análisis se consideraron 55 muestras de mieles, de las cuales se obtuvieron los barridos IR en un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} (**Gráfica 12**).



Gráfica 12. Espectros IR de las mieles recolectadas en un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} con un total de 3600 puntos de datos con una separación promedio.

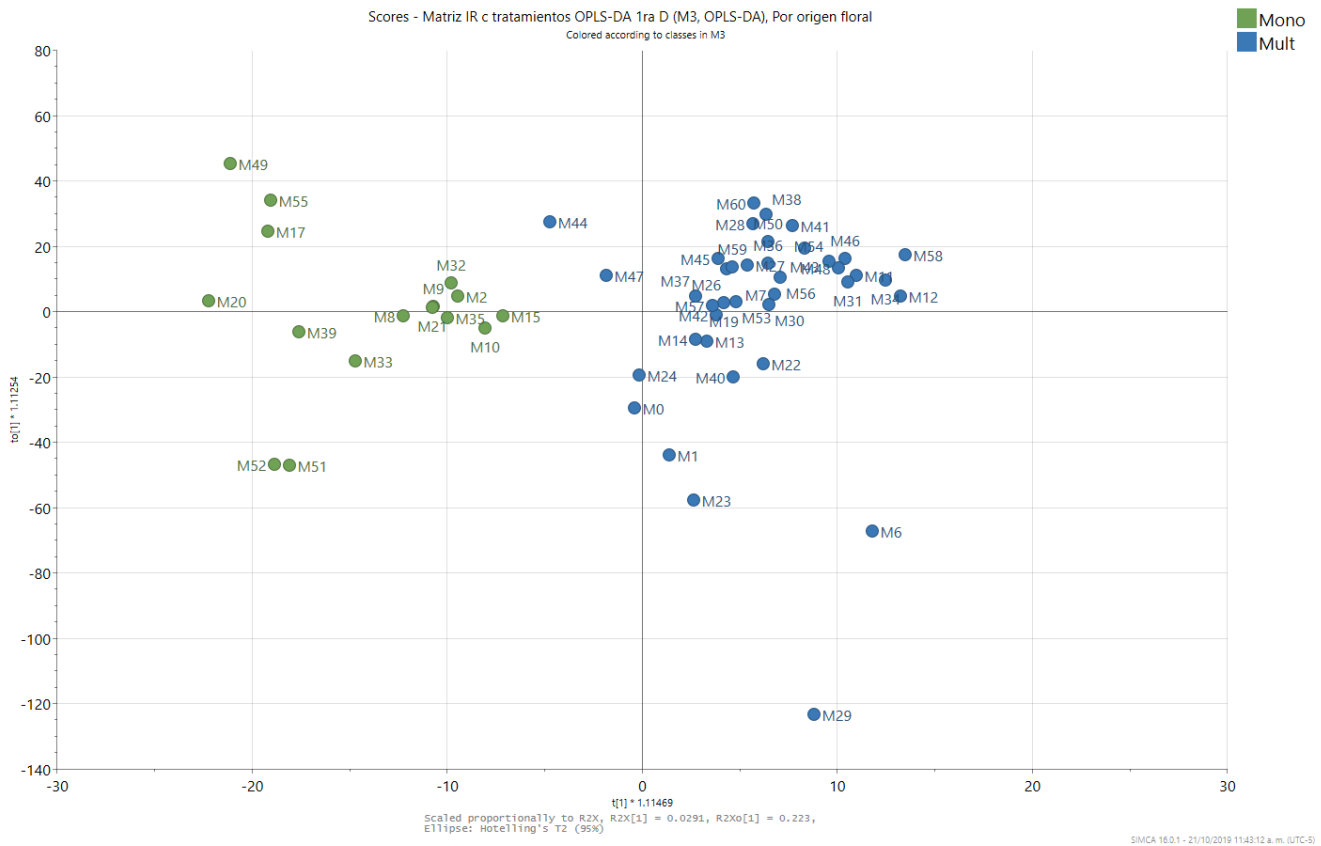
Se obtuvieron diferentes modelos variando el pretratamiento de los datos y se escogieron los espectros a los cuales se les aplicó la primera derivada, pues mostraban una mejor separación entre los datos cuando se aplicó el algoritmo de OPLS-DA. Las variables consideradas para cada modelo fueron: origen floral, especie de abeja (*Apis mellifera* y *Melipona*), año y región de recolección, obteniéndose, así los siguientes parámetros (**Tabla 8**).

Tabla 8. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles puras. IR.

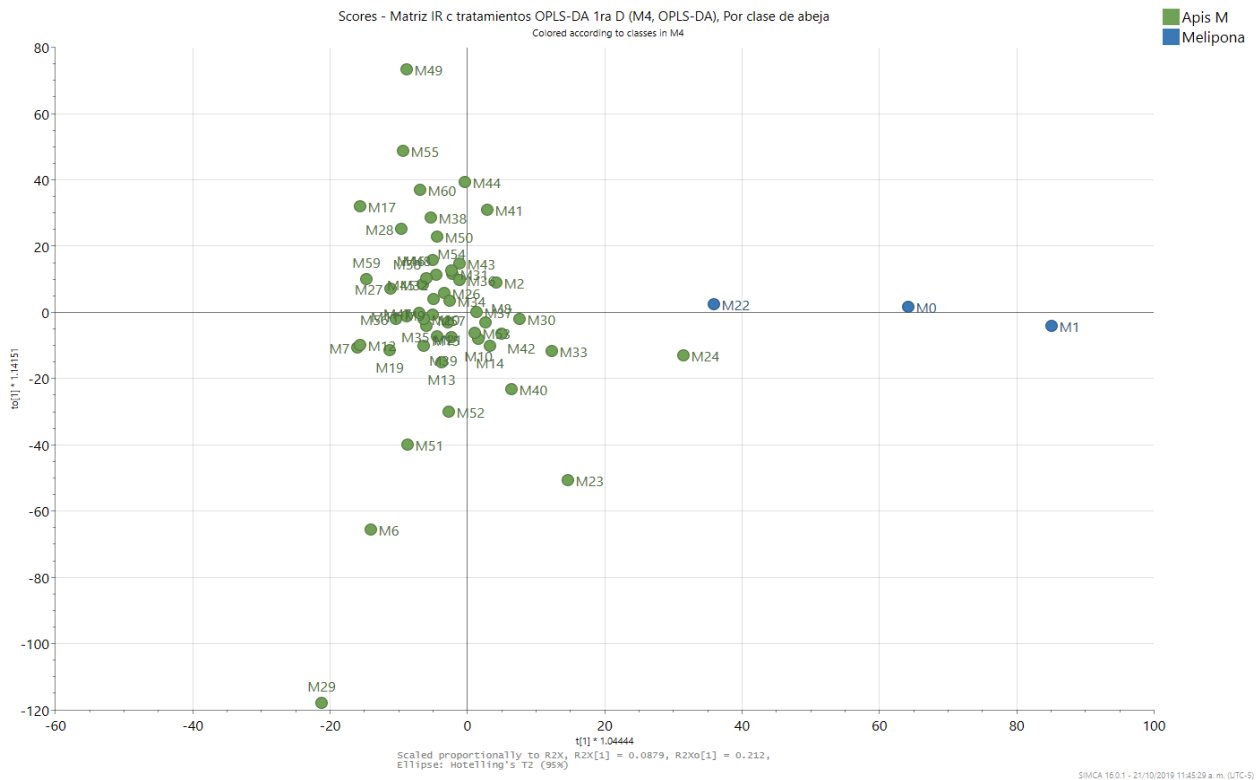
Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M5.1	1+1+0	0.328	0.308	-0.094	Año
M5.2	1+1+0	0.336	0.0493	-0.0405	Región
M5.3	1+2+0	0.317	0.819	0.138	Origen floral
M5.4	1+1+0	0.3	0.708	0.467	Especie

De las variables consideradas para este grupo de mieles, aquellas que permitieron una mayor diferenciación fueron: el origen monofloral y la especie productora (**Gráficas 13 y 14, respectivamente**). En ambos modelos se obtiene un valor positivo de Q², siendo mayor el que considera a la especie (Q²=0.467) que aquel para su origen floral (Q²=0.138). Sin embargo, considerando las muestras en cada clasificación aquella que tiene un número más equivalente para cada grupo (16 mieles monoflorales contra 39 mieles multiflorales vs 3 de *Melipona* contra 52 de *Apis mellifera*) es el modelo que toma en su cuenta el origen floral, haciendo que esta variable tenga una mejor capacidad de predicción.

Los modelos en donde se toma en cuenta la región y el año de recolección carecen de capacidad predictiva pues en ambos casos su valor de Q² es negativo (-0.094 y -0.0405, respectivamente). Esto se puede observar en las **Gráficas A5 y A6**, ya que en ninguna existe una separación entre los grupos considerados.



Gráfica 13. Modelo: M5.3. OPLS-DA de mieles puras considerando el origen floral.



Gráfica 14. Modelo: M5.4. OPLS-DA de mieles puras considerando la especie de abeja productora.

5.6. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MONOFLORALES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.

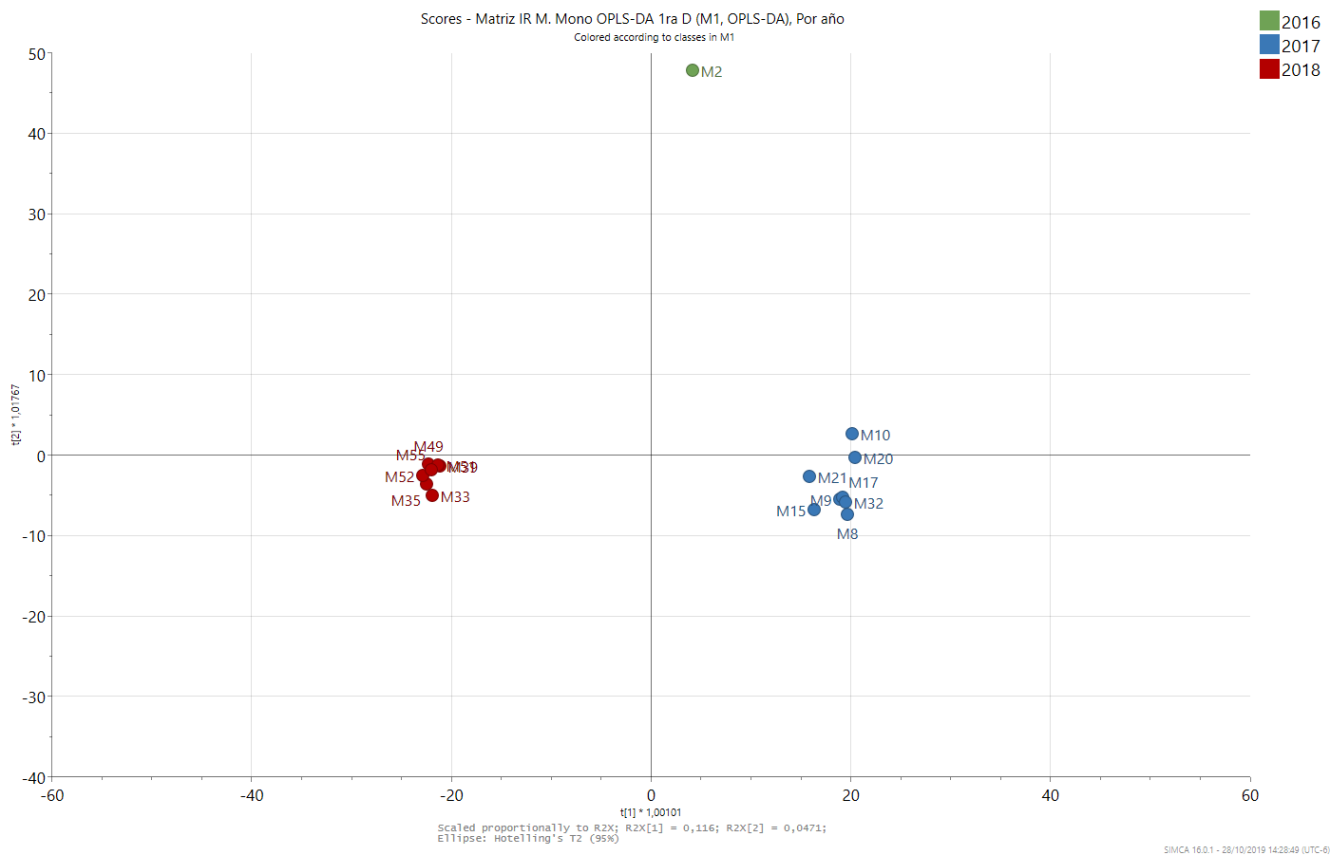
Para los modelos siguientes se consideraron las 16 mieles de origen monofloral recolectadas, considerando tres variables: tipo de flor, región y año de recolección, obteniéndose los siguientes parámetros:

Tabla 9. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles monoflorales. IR.

Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M6.1	2+4+0	0.676	0.983	0.259	Año
M6.2	1+1+0	0.367	0.168	-0.031	Región
M6.3	1+1+0	0.365	0.248	0.0197	Tipo de flor

La variable que logra diferenciar mejor las mieles monoflorales es el año de recolección. Para el modelo M6.1 (**Gráfica 15**) las mieles se lograron separar de acuerdo con el año, sin embargo, el exceso de componentes aplicados (2+4+0) y los valores de R²X (0.676) y R²Y (0.983), muestran ser muy superiores al de Q², lo que indica un sobre ajuste, lo que resulta contraproducente, ya que indica que el modelo solo es útil para los datos con los que fue creado y no para las muestras que sean agregadas en un futuro (Worley & Powers, 2013). Para evitarlo se deberían de adicionar más muestras del año 2016.

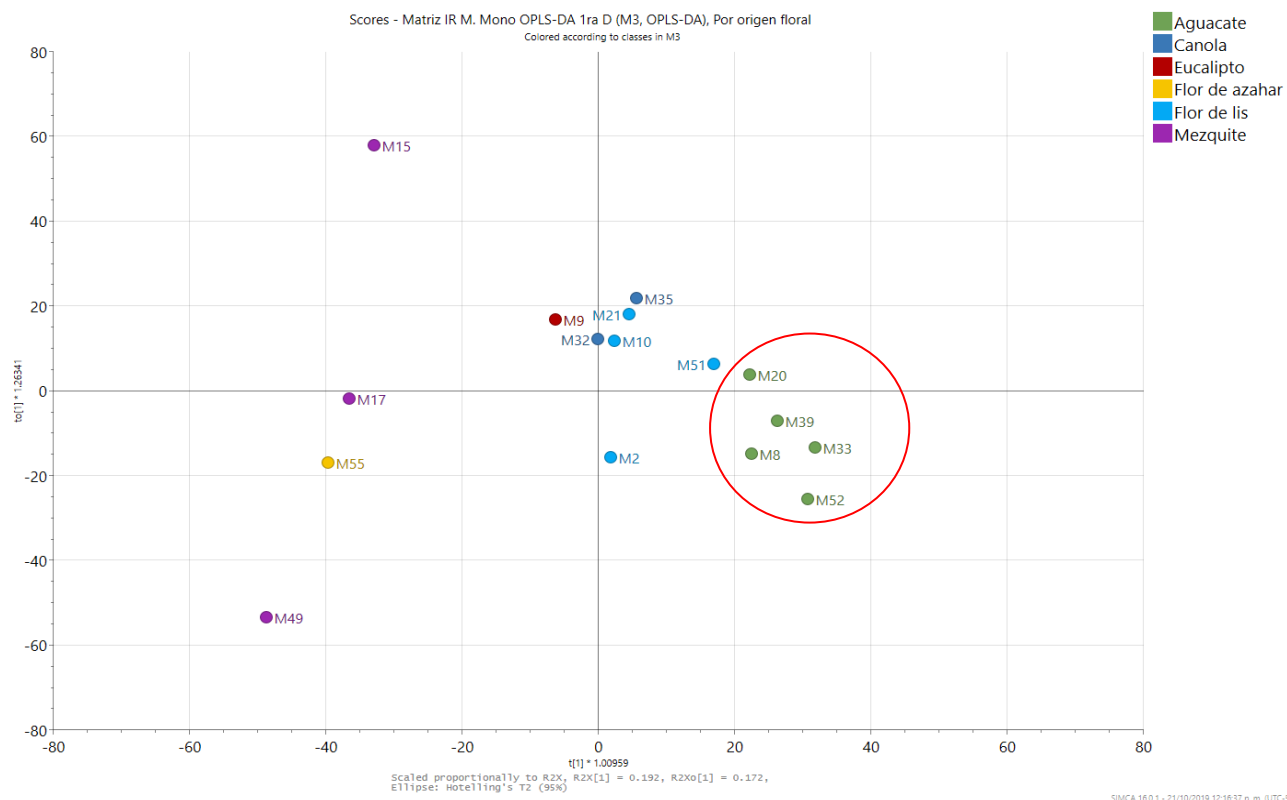
Cuando se tomó en cuenta la región de recolección (**Gráfica 16**) y el tipo de flor (**Gráfica 17**), se observó que las mieles de aguacate se diferencian del resto, a excepción de la miel M08, que proviene de una región diferente (Chihuahua) al de las demás mieles.



Gráfica 15. Modelo: M6.1. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando su año de recolección.



Gráfica 16. Modelo: M6.2. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando la región de recolección.



Gráfica 17. Modelo: M6.3. OPLS-DA de mieles monoflorales puras considerando el tipo de flor.

5.7. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS MULTIFLORALES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.

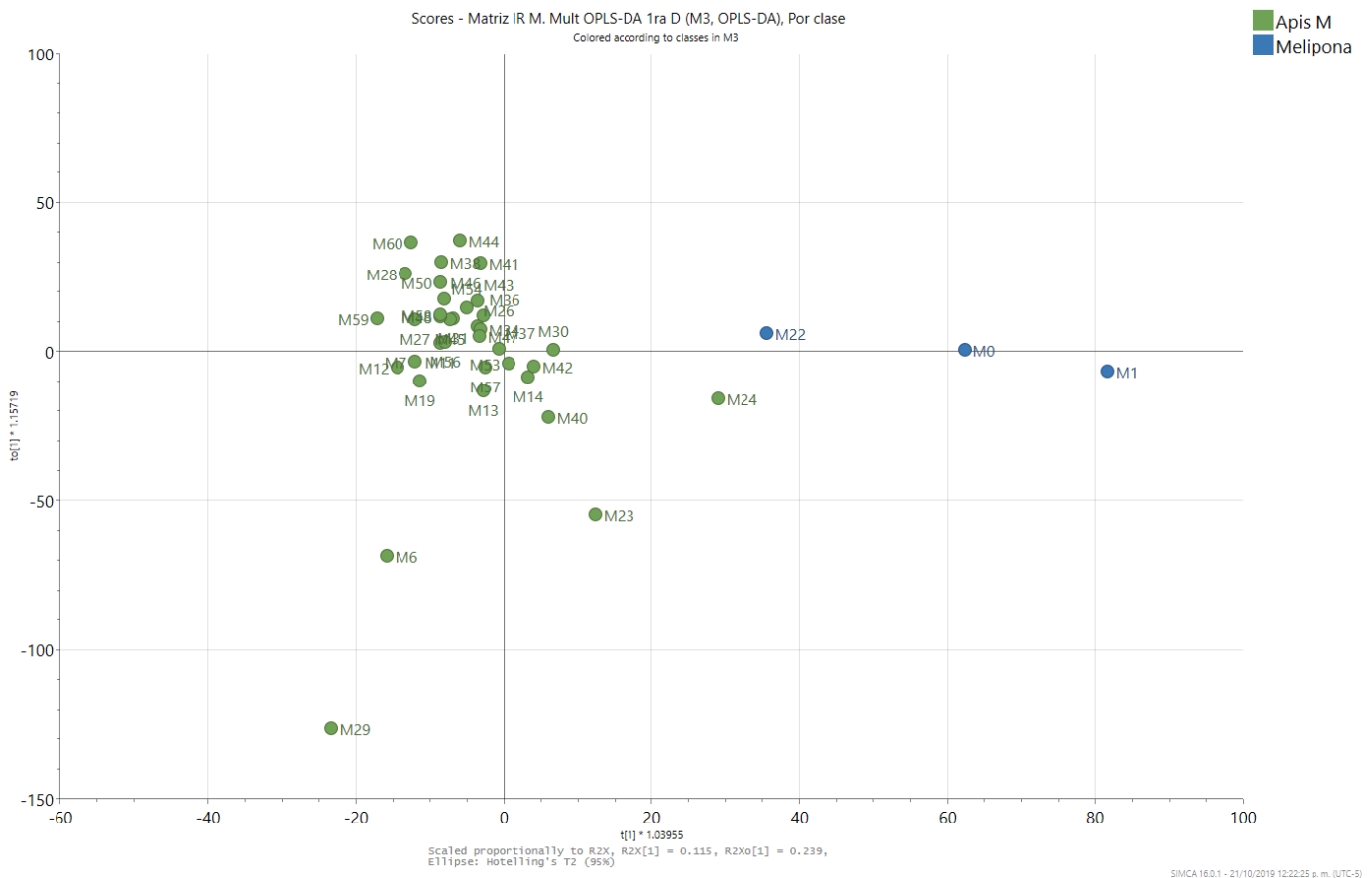
Para el siguiente análisis se consideraron las 39 mieles multiflorales recolectadas y se tomaron en cuenta la especie, el año y región de recolección, para obtener los siguientes parámetros:

Tabla 10. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles multiflorales. IR.

Modelo	Componentes (predictivo en X-Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M7.1	1+1+0	0.365	0.332	-0.194	Año
M7.2	1+1+0	0.365	0.0816	-0.0275	Región
M7.3	1+1+0	0.353	0.742	0.51	Especie

El año y la región de recolección no logran diferenciar las mieles de origen multifloral, pues sus valores de Q^2 son negativos (-0.194 y -0.0275, respectivamente) y sus gráficas de OPLS-DA (**Gráficas A7 y A8**, respectivamente) no muestran diferenciación alguna entre los grupos considerados.

De las variables consideradas para las mieles multiflorales aquella que logra una mejor diferenciación es la especie de abeja productora ($Q^2=0.51$) (**Gráfica 18**), sin embargo, se debe de tomar en cuenta que las mieles de *Melipona* son menos que las mieles producidas por *Apis mellifera*, por lo que para tener un mejor modelo con mayor capacidad predictiva se necesita una cantidad similar de muestras en cada grupo.



Gráfica 18. Modelo: M7.3. OPLS-DA de mieles multiflorales considerando la especie de abeja productora.

5.8. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES PURAS PROVENIENTES DE LA CIUDAD DE MÉXICO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA IR.

Para los modelos siguientes se tomaron las 23 mieles recolectadas provenientes de la Ciudad de México y se consideraron dos variables: el año de recolección y la especie de abeja productora (**Tabla 11**).

Tabla 11. Parámetros de los modelos OPLS-DA para las mieles provenientes de la Ciudad de México. IR.

Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²	Variable
M8.1	2+1+0	0.504	0.651	-0.433	Año
M8.2	1+1+0	0.333	0.794	-0.248	Origen floral

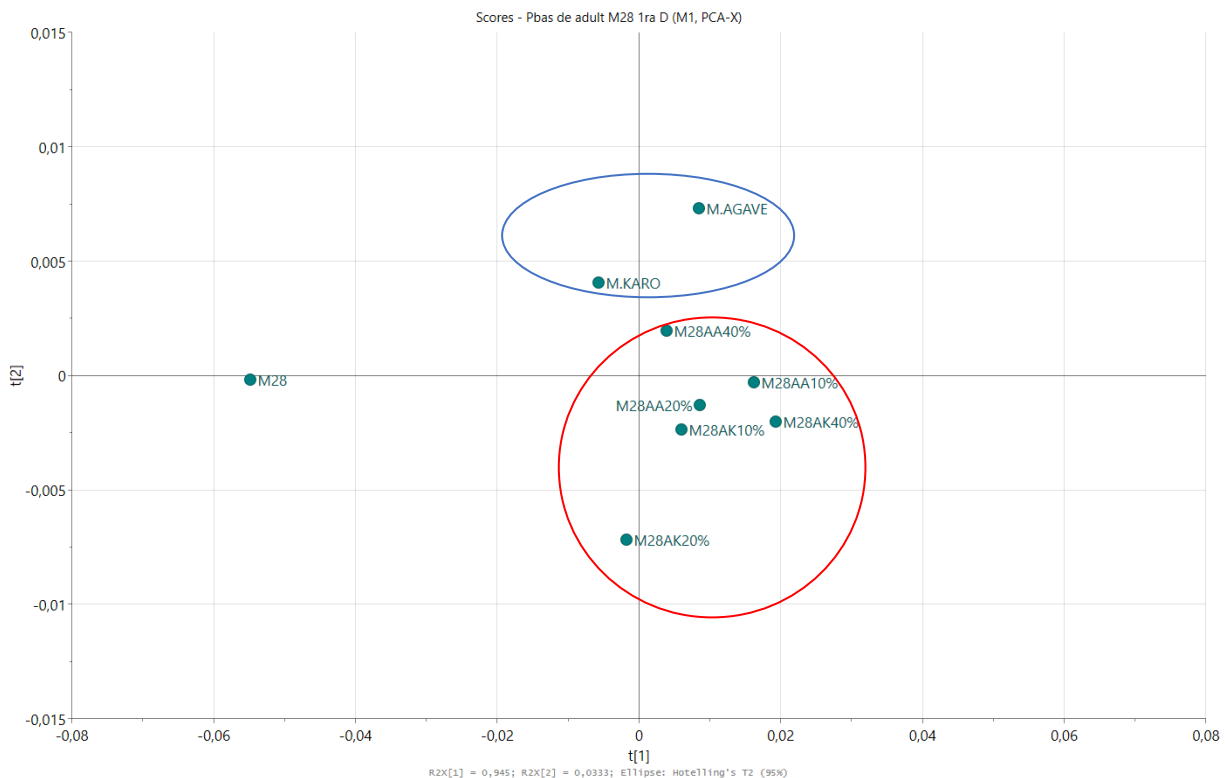
El modelo M8.1 en donde se toma en cuenta el año de recolección carece de capacidad predictiva, pues a pesar de que en su gráfica de OPLS-DA (**Gráfica A9**) existe una separación entre las muestras de los años considerados (2016, 2017 y 2019) y su valor de Q² es negativo (-0.433).

Para el siguiente modelo M8.2, considerando el origen floral como variable, existe una separación clara entre las mieles de origen multifloral y la única miel de origen monofloral (M09; miel monofloral de Eucalipto) (**Gráfica A10**). Sin embargo, al considerar su valor de Q² (-0.248), este indica que no tiene capacidad predictiva.

5.9 ANÁLISIS DE LA ADULTERACIÓN CON MIEL DE AGAVE Y JARABE DE ALTA FRUCTUOSA EN LA MIEL M28 UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS.

Esta prueba se realizó a través de un análisis de PCA, ya que dentro de los análisis multivariados se considera como un método exploratorio. Inicialmente el método para la detección de adulteraciones se probó en una muestra al azar: M28 (miel multifloral proveniente de la alcaldía de Milpalta, CDMX) con dos adulterantes (miel de agave y jarabe de alta fructuosa, a diferentes concentraciones). Al aplicar el algoritmo de PCA, el modelo más exitoso fue aquel en el que aplicó la primera derivada, el cual logró explicar con dos componentes la diferencia entre los datos, correspondientes a una varianza de 40.5% y 22.3%, respectivamente, para dar un total de 68.8%.

En una gráfica bidimensional de las dos primeras variables (PC-2 vs PC-1) fue posible observar que existe una clara diferencia entre los espectros derivados de la miel pura, los adulterantes y las adulteraciones de la miel en distintas proporciones, pues sus valores de PC1 y PC2 permitieron claramente agruparlos y diferenciarlos (**Gráfica 19**). A partir del éxito de esta prueba el método se replicó con otras mieles.



Gráfica 19. PCA de las dos primeras variables (PC-2 vs PC-1) para M28, adulterantes y adulteraciones de la miel.

5.10. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES ADULTERADAS CON JARABE DE ALTA FRUCUOSA.

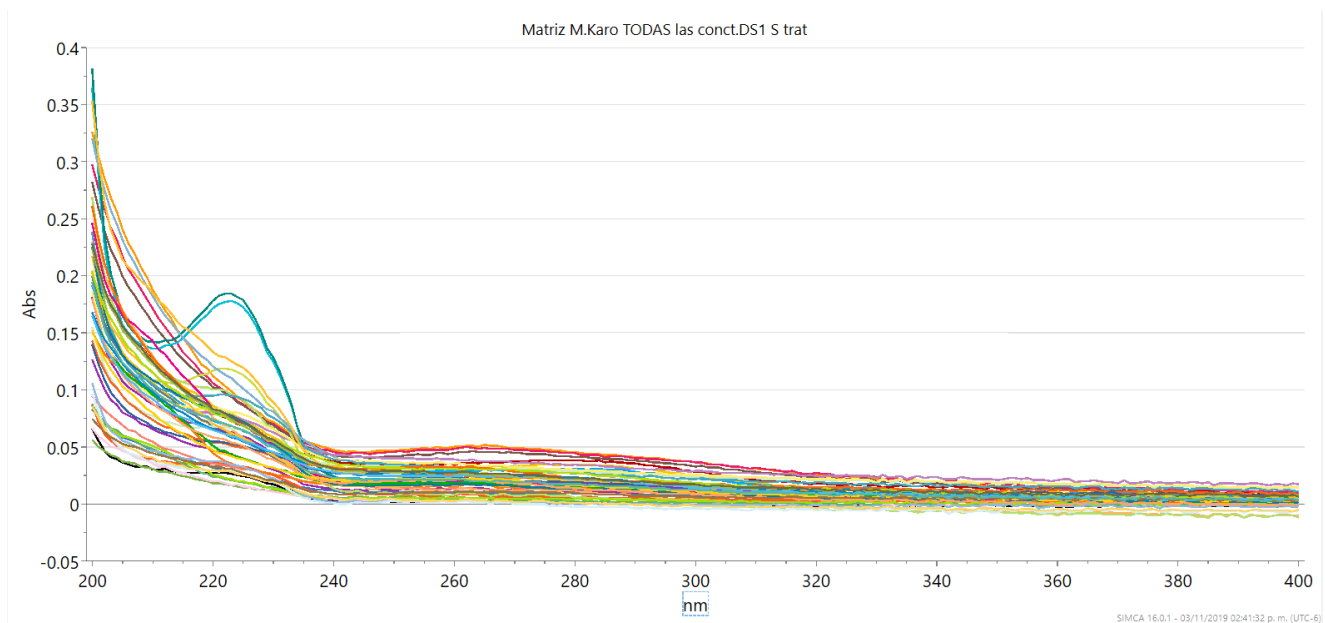
Para este modelo se consideraron 12 mieles elegidas al azar (M07, M08, M11, M13, M19, M27, M30, M40, M44, M52, M57 y M60) las cuales se adulteraron con jarabe de alta fructuosa a tres niveles diferentes: alto, medio y bajo, correspondientes a 40, 20 y 10%. De las mieles pura, adulterante y de la combinación entre ambos se obtuvieron sus espectros UV-VIS en un rango de longitud de onda de 200 a 400 nm (**Gráfica 20**). Posteriormente, se procesaron ajustándolos a su línea base y obteniendo su primera y segunda derivada. Al aplicar el algoritmo de OPLS-DA a cada pretratamiento, aquel que obtuvo una mejor diferenciación entre los datos fue en donde se aplicó la primera derivada (**Tabla 12**).

El valor de Q^2 (0.151) indica que el modelo de OPLS-DA de las mieles adulteradas tiene capacidad predictiva. En la **gráfica 21** existe una división clara entre las muestras adulteradas con jarabe de alta fructuosa y las mieles puras, sin embargo, con el adulterante no sucede lo mismo, pues no logra diferenciarse de las muestras puras. Tampoco existe una diferencia entre las mieles adulteradas a diferentes concentraciones.

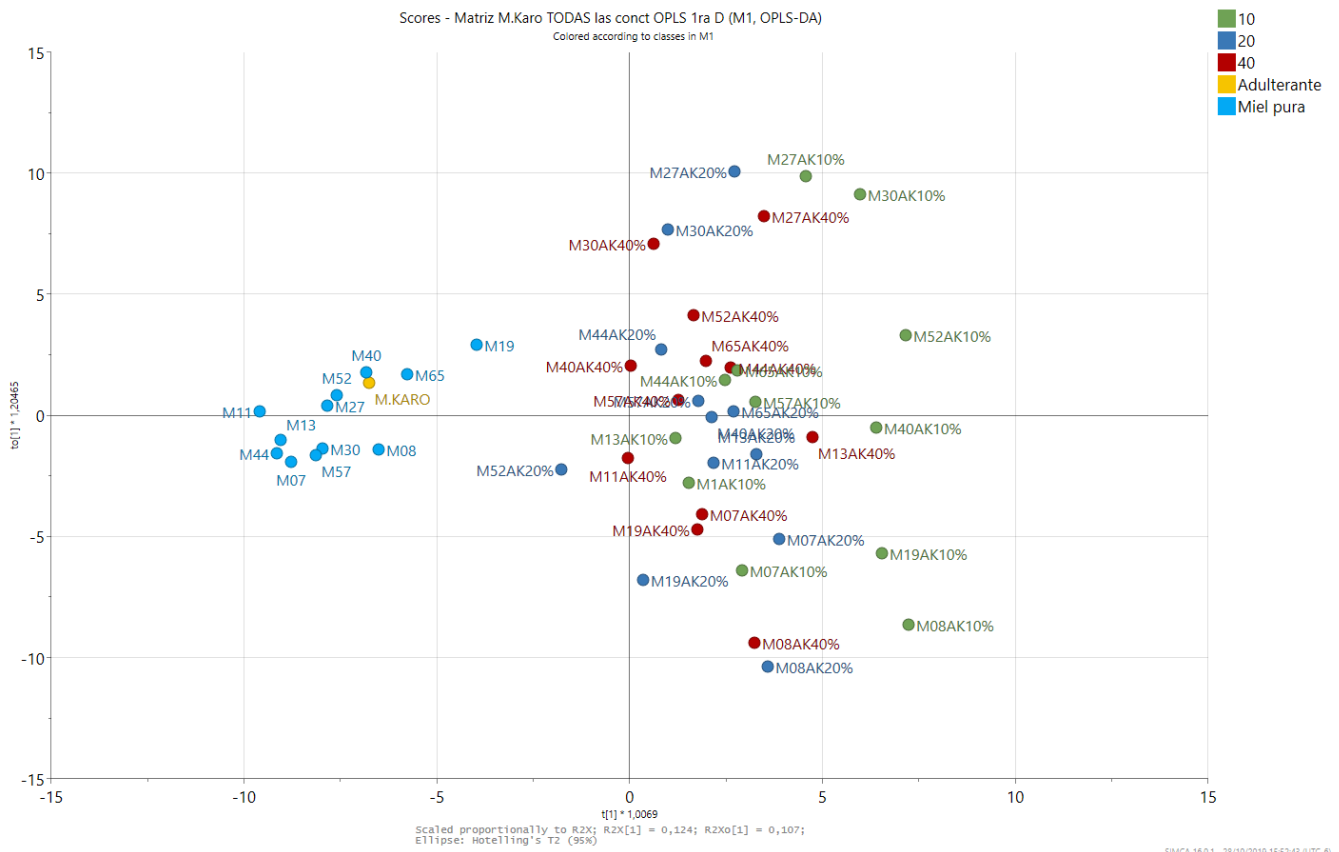
En casos anteriores, cuando solo se cuenta con una muestra para un grupo, el algoritmo de OPLS-DA no logra su cometido de separar a todas las muestras, sin embargo, que el adulterante se pierda entre las muestras puras indica que su información espectral es similar. Lo anterior se puede deber a la baja capacidad de diferenciación de la técnica analítica de UV-VIS que no logra proporcionar información específica de las mieles y los adulterantes, ya que para ambos casos su composición química se basa, en su mayoría, en azúcares.

Tabla 12. Parámetros de los modelos OPLS-DA para mieles adulteradas con jarabe de alta fructuosa.

Modelo	Componentes (predictivo en X- Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²
M9	1+1+0	0.231	0.234	0.151



Gráfica 20. Espectros UV-VIS de las mieles puras, del adulterante (Jarabe de alta fructuosa) y de la combinación entre ellos a 3 diferentes concentraciones (40, 20 y 10%) en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.

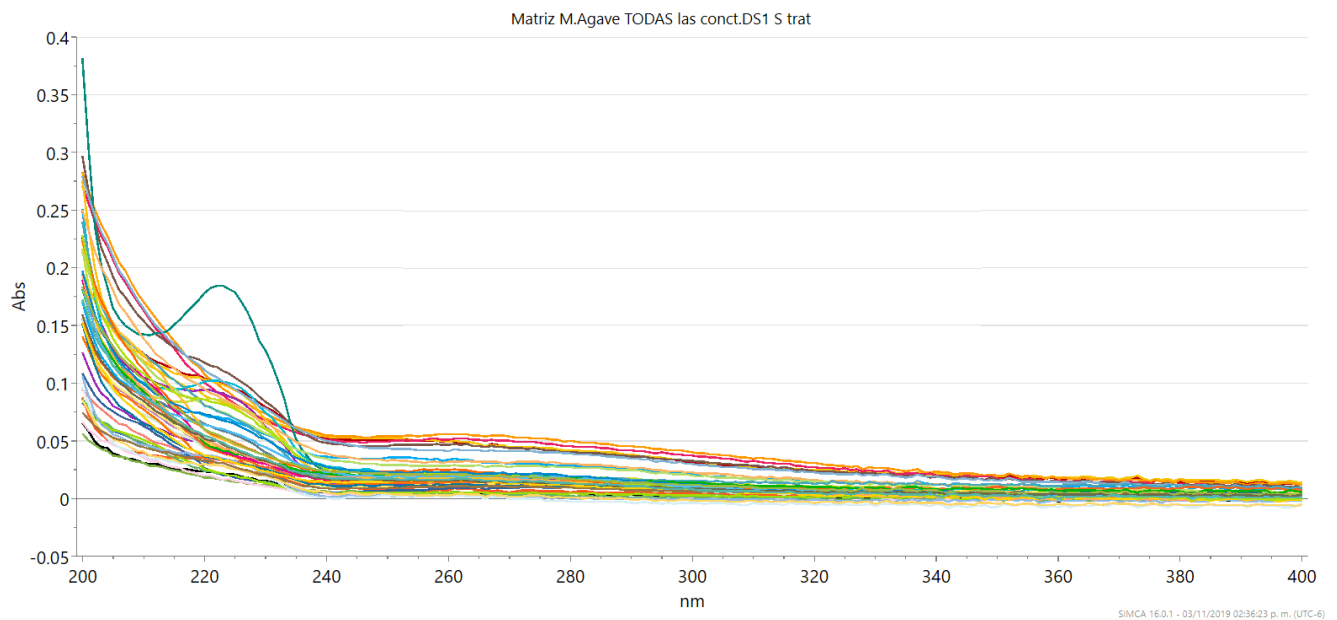


Gráfica 21. Modelo: M9. OPLS-DA de 12 mieles puras elegidas al azar, adulterante (Jarabe de alta fructuosa) y la combinación entre ambos a diferentes concentraciones.

5.11. ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE MIELES ADULTERADAS CON MIEL DE AGAVE.

Se consideraron las mismas 12 mieles para ser adulteradas con miel de agave a tres concentraciones diferentes (40, 20 y 10%). Al obtener los espectros en la misma longitud de onda (**Gráfica 22**), se procesaron de la misma forma y para aplicar el algoritmo de OPLS-DA se consideraron los espectros ajustados con la primera derivada (**Tabla 13**).

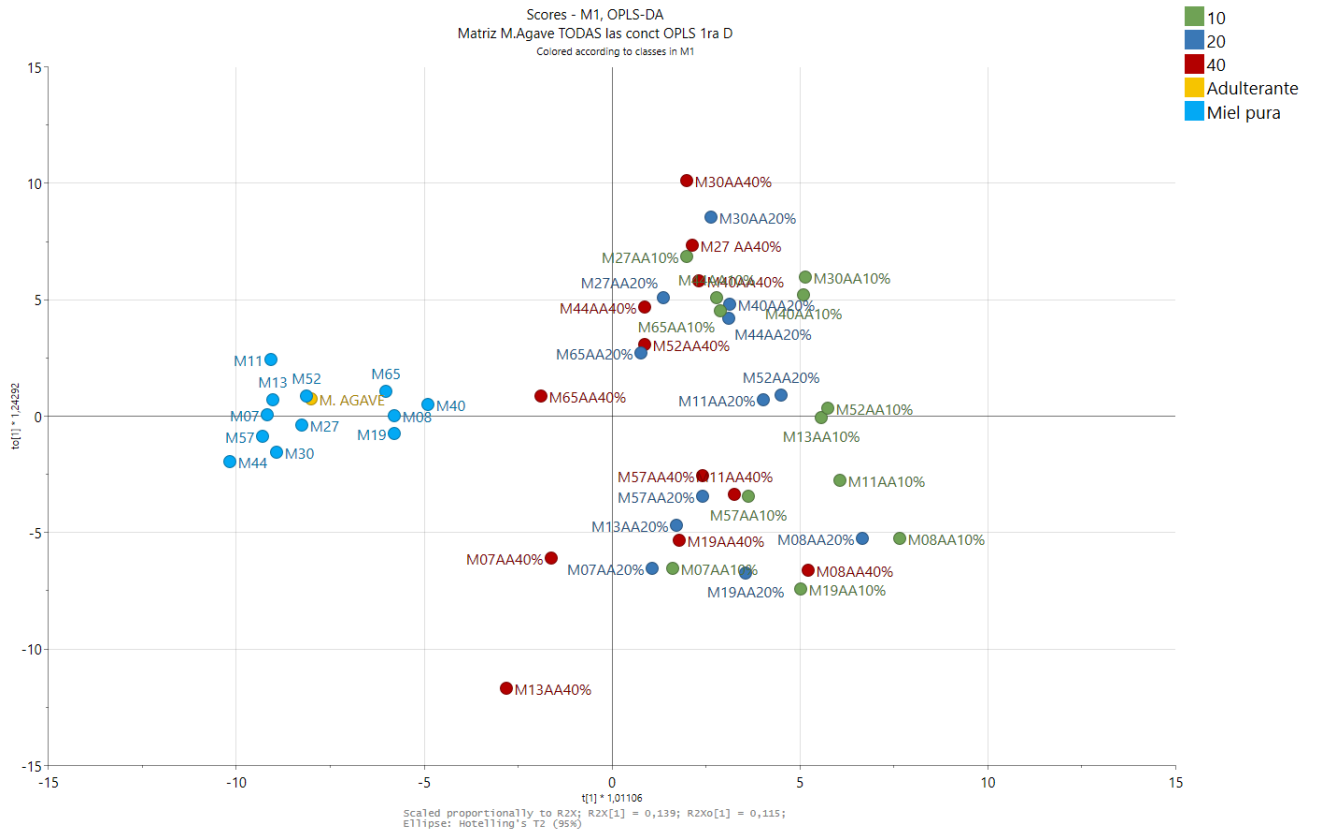
Los parámetros obtenidos para el modelo de OPLS-DA fueron similares a los obtenidos en el caso anterior. De igual forma el comportamiento fue el mismo (**Gráfica 23**), siendo la miel de agave pura la única que no logró diferenciarse. Tampoco existe una diferencia entre las adulteraciones hechas a diferentes concentraciones (40, 20 y 10%). Al igual que el jarabe de alta fructosa, la miel de agave se compone en su mayoría de azúcares, aunado a la poca capacidad de diferenciación de la técnica UV-VIS evitan que este adulterante pueda ser separado de las mieles puras.



Gráfica 22. Espectros UV-VIS de las mieles puras, del adulterante (Miel de agave) y de la combinación entre ellos a 3 diferentes concentraciones (40, 20 y 10%) en un rango de longitud de onda de 200 - 400 nm, con un total de 200 puntos de datos con una separación promedio.

Tabla 13. Parámetros de los modelos OPLS-DA para mieles adulteradas con Miel de Agave.

Modelo	Componentes (predictivo en X-Y) + (ortogonal en X) + (Ortogonal en Y)	R ² X	R ² Y	Q ²
M10	1+1+0	0.254	0.23	0.151



Gráfica 23. M10. OPLS-DA de 12 mieles puras elegidas al azar, adulterante (Miel de agave) y la combinación entre ambos a diferentes concentraciones.

5.12. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO Y QUIMIOMÉTRICO DE LOS MODELOS MÁS EXITOSOS.

La relación entre la variable original y los componentes principales está determinada por los *loadings*, lo que facilita saber que rango de longitud de onda aporta más a la diferenciación de las muestras. Un valor alto positivo como un valor alto negativo de *loadings* es significativo. Si dos variables llevan el mismo signo están correlacionadas positivamente entre sí, mientras que si tienen signos contrarios lo están negativamente. Para el siguiente análisis se tomaron en cuenta los modelos que lograron una mayor capacidad predictiva. Para UV-VIS en los diferentes grupos de mieles considerados, la variable predominante que logra una mejor agrupación de los datos es el año de recolección por esta razón se analizara el modelo M1.1., el cual considera las 59 mieles recolectadas. El siguiente modelo es el M5.3. que se obtuvo a partir de los datos de espectroscopía IR considerando todas las mieles y tomando como variable su origen floral. Y los dos modelos restantes corresponden a las adulteraciones con jarabe de alta fructuosa y miel de agave.

La miel es un producto natural con una combinación única de componentes, los cuales aportan beneficios medicinales y como alimento. Fuera de los azúcares que la componen existen compuestos minoritarios que permiten la diferenciación de cada miel. Los más importantes son los polifenoles, que se dividen en flavonoides y no flavonoides (ácidos fenólicos) y algunos aminoácidos. Los cuales pueden ser identificados por técnicas espectroscópicas.

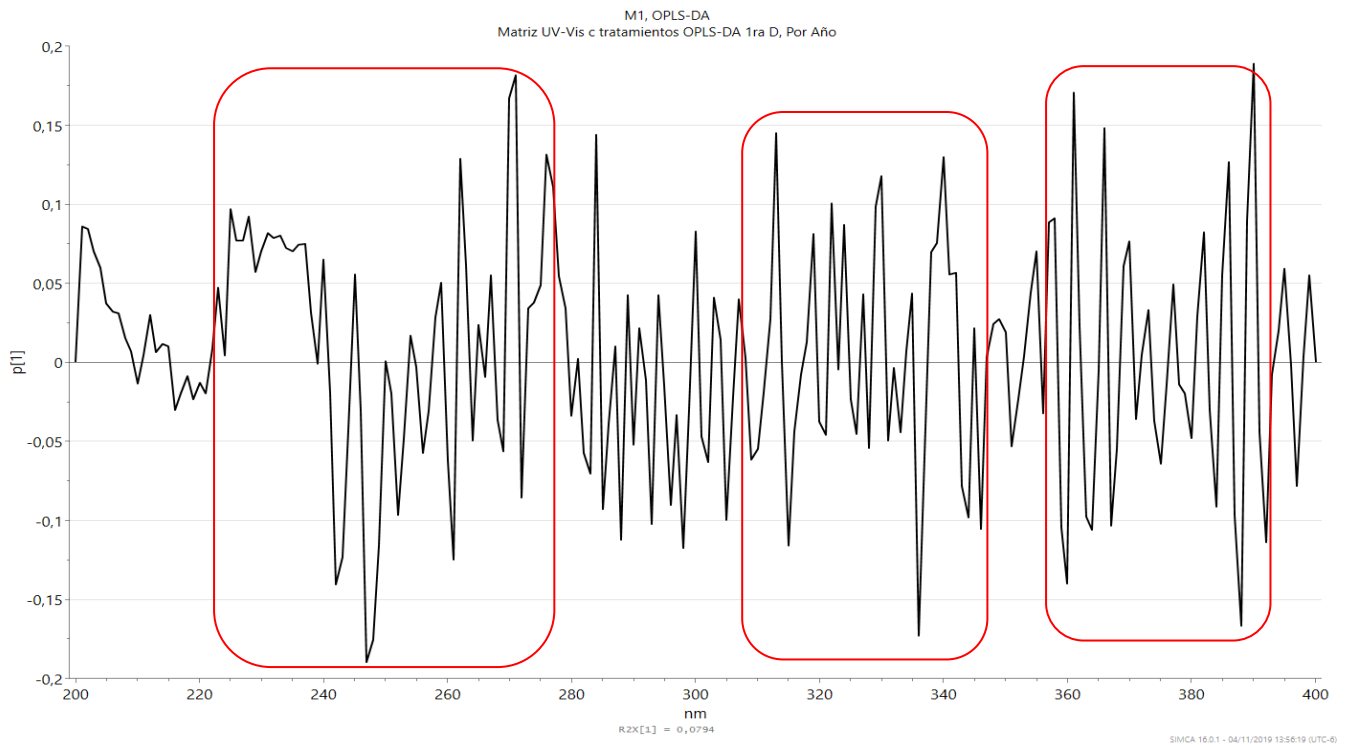
En el modelo M1.1 (**Gráfica 24**) los valores vas altos de *loadings* se encontraron en tres rangos: 240 a 290, 310 a 350 y 360 a 390 nm. Para el primer intervalo existen varios compo nes que se pueden identificar a esta longitud de onda, ya que anteriormente se han estudiado y determinado en la miel y en el propóleo, por ejemplo: aminoácidos como arginina ($\lambda_{\max} = 270$ y 315nm) y prolina ($\lambda_{\max} = 290\text{nm}$) (**Tabla A2**) (Ristivojević et al., 2017 ; Seracu, 2006), las flavonas apigenina ($\lambda_{\max} = 268$ y 336nm) y crisina ($\lambda_{\max} = 270, 313$ y 324nm). De igual forma se puede identificar ácido gálico ($\lambda_{\max} = 220$ y 267nm), el cual es un ácido orgánico abundante en la miel (Cheung et al., 2019 ; Primavera et al., 2015) Otro componente importante es la quercetina ($\lambda_{\max} = 260$ y 375nm), el cual es un flavonol que se encuentra en la miel (Boll et al., 2013). Para el

intervalo de 310 a 350nm se han descrito compuestos fenólicos como flavonoides (λ_{\max} = 290 y 310nm) y fenoles simples (λ_{\max} = 274, 296 y 332nm). Por último, para el intervalo de 360 a 390 nm las absorbancias se pueden asociar nuevamente a flavonoides (λ_{\max} = 268, 294 y 368nm) (Ristivojević et al., 2017 ; Camuri et al., 2018).

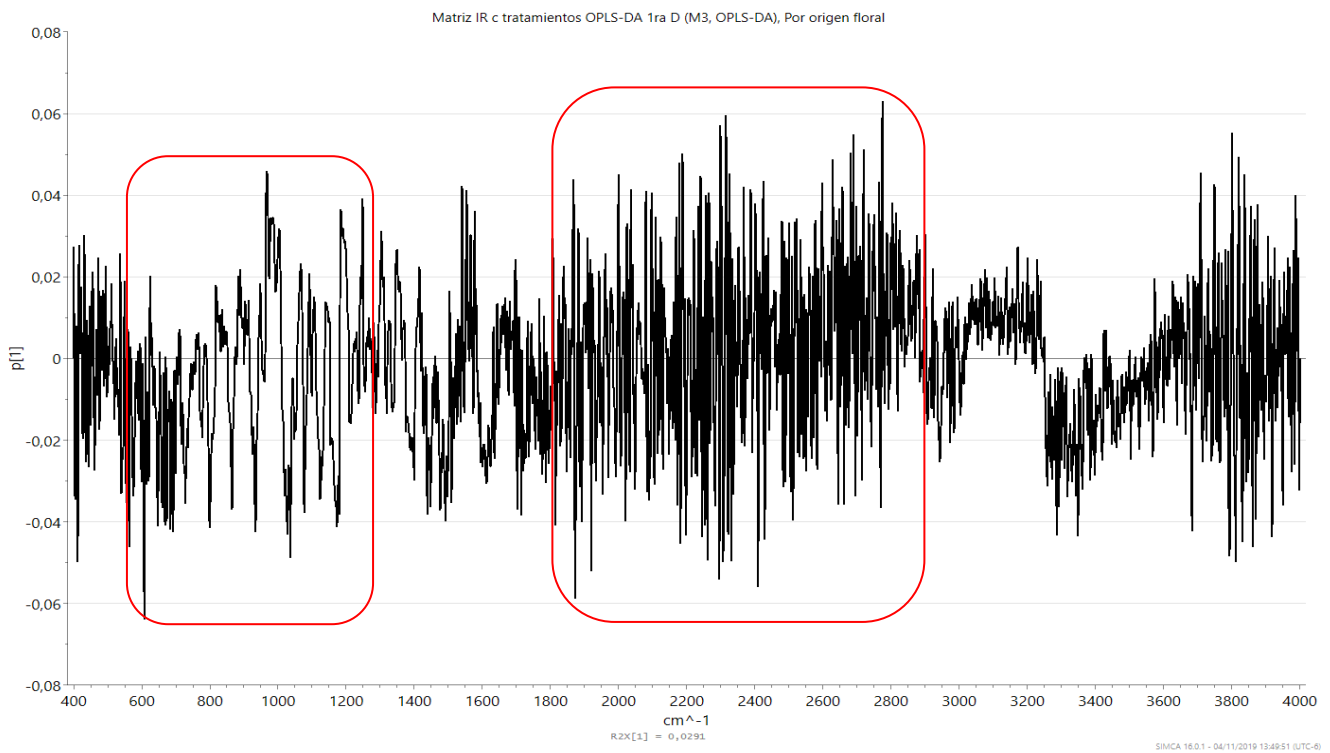
El modelo 5.3 (**Gráfica 25**) presenta dos rangos importantes: 1150 a 600 cm^{-1} y de 2850 a 1700 cm^{-1} . En la **Tabla A3** se muestra un resumen de las señales características de fenoles y flavonoides. El primer intervalo puede estar asociado a: alcoholes primarios y secundarios con enlaces tipo C-C-O (881 cm^{-1}), grupos alcohólicos primarios con enlaces =C-O-C, C-C y C-OH (1043 cm^{-1}) y a flavonoides y grupos alcohólicos secundarios con enlaces C-C y C-OH (1088 cm^{-1}). El segundo intervalo puede estar relacionado con flavonoides y aminoácidos con enlaces C=O (1699 cm^{-1}) e hidrocarburos C-H (2849 cm^{-1}) (Primavera et al., 2015 ; Wu et al., 2008).

En el modelo 9 (**Gráfica 26**), en donde se analizan las mieles adulteradas con jarabe de alta fructuosa a diferentes concentraciones, existen dos rangos importantes en la gráfica de *loadings*. El primero (200 a 270 nm) puede asociarse a las flavonas apigenina (λ_{\max} = 268 y 336 nm) y crisina (λ_{\max} = 270, 313 y 324 nm), al *p*-ácido cumárico (λ_{\max} = 209, 220 y 288nm), al ácido gálico (λ_{\max} = 220 y 267 nm) y aminoácidos (λ_{\max} = 270 y 315 nm). El segundo intervalo (285 a 315 nm), de igual forma puede relacionarse con la crisina (Ristivojević et al., 2017).

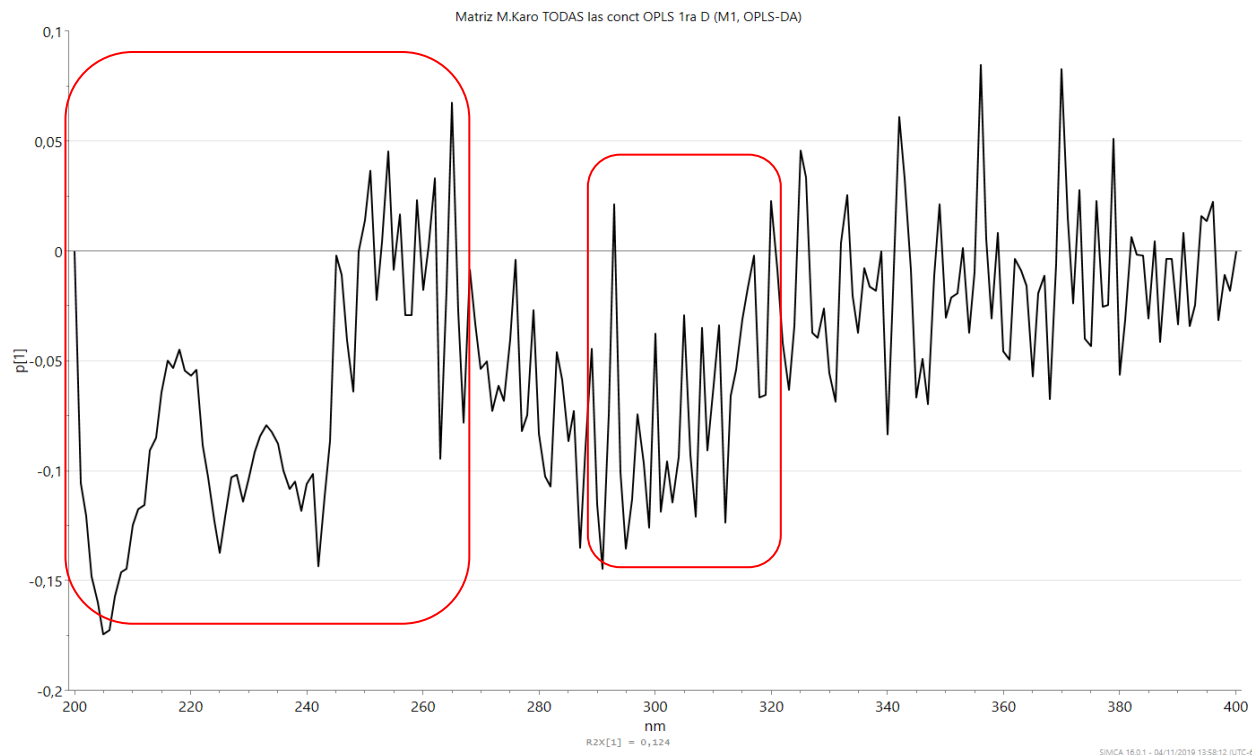
Las mieles adulteradas con miel de agave a diferentes concentraciones (modelo 10) en su gráfica de *loadings* (**Gráfica 27**) presentó dos intervalos importantes. El primero (200 a 305 nm) el cual fue similar al del modelo 9, por lo que abarca los mismos compuestos. El segundo rango de longitud de onda (350 a 395 nm) puede estar determinado por compuestos de tipo flavonoide (λ_{\max} = 260, 268, 294 y 368 y 375nm) (Ristivojević et al., 2017).



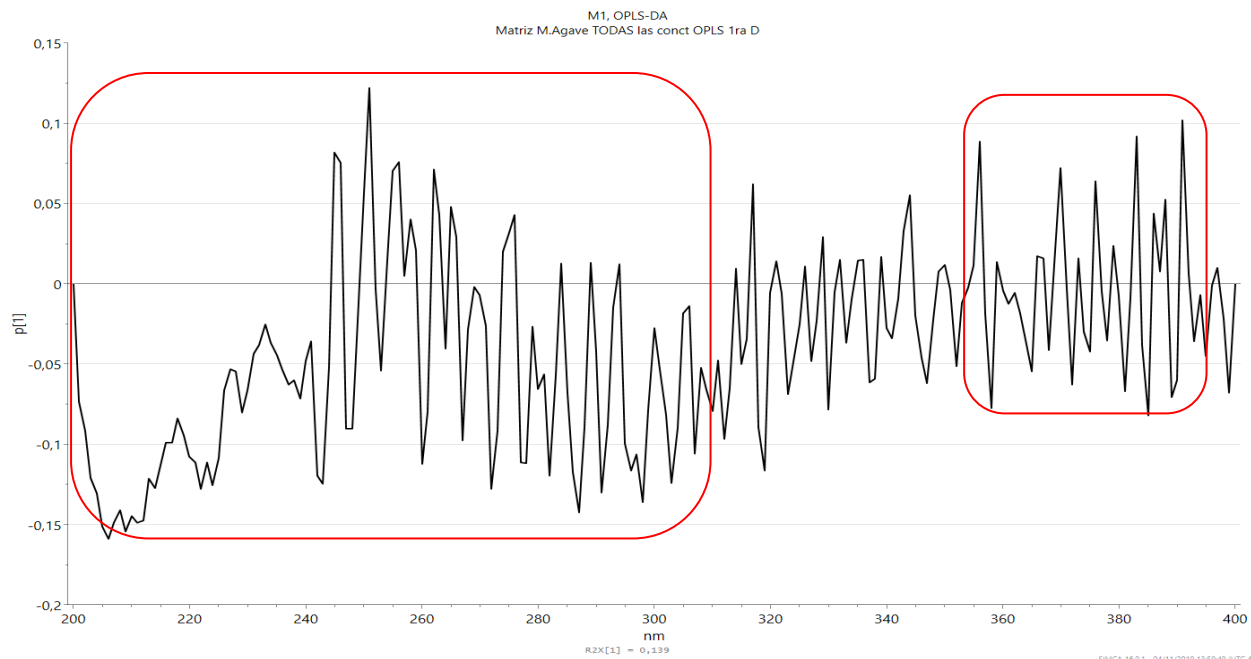
Gráfica 24. Gráfica de *loadings*, considerando los espectros UV-VIS de todas las mieles tomando en cuenta su año de recolección (Modelo M1.1.)



Gráfica 25. Gráfica de *loadings*, considerando los espectros IR de todas las mieles tomando en cuenta su origen floral (Modelo M5.3.).



Gráfica 26. Gráfica de *loadings*, considerando los espectros UV-VIS las mieles elegidas al azar y adulteradas con jarabe de alta fructuosa a diferentes concentraciones (40, 20, 10 %) (Modelo 9).



Gráfica 27. Gráfica de *loadings*, considerando los espectros UV-VIS las mieles elegidas al azar y adulteradas con miel de agave a diferentes concentraciones (40, 20, 10 %) (Modelo 10).

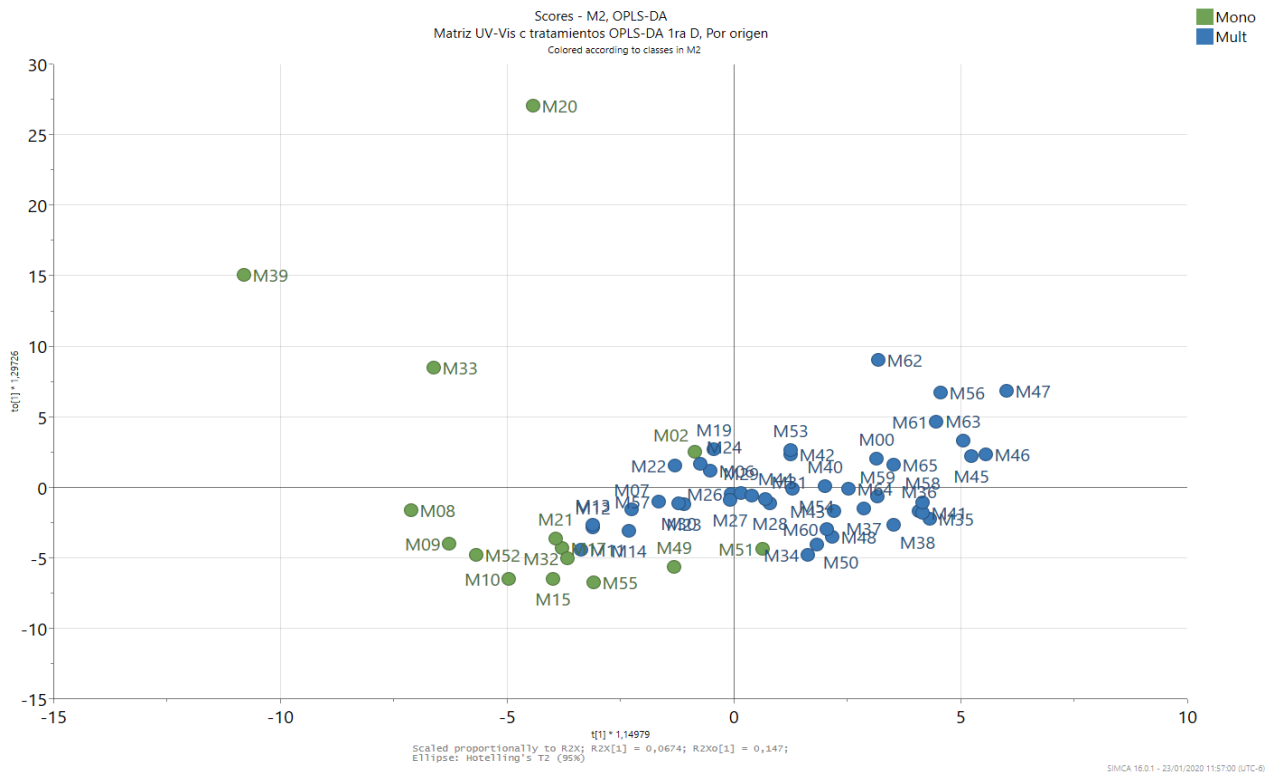
6. CONCLUSIONES.

- El análisis de proyecciones ortogonales para análisis discriminante de estructuras latentes (OPLS-DA) de los espectros obtenidos por UV-VIS, considerando todas las mieles recolectadas, permitió identificar que la variable que tiene una mejor capacidad predictiva es el año de recolección.
- La aplicación del algoritmo de OPLS-DA sobre los datos obtenidos por espectroscopía IR, considerando todas las mieles recolectadas, permitió identificar al origen floral como la variable que tiene la mejor capacidad predictiva. En cambio, cuando se tomaron en cuenta únicamente las mieles monoflorales la variable que logró la mayor discriminación en las muestras fue el año de recolección.
- El método analítico empleado para la detección de posibles adulteraciones en la miel basado en espectroscopía UV-VIS logró identificar parcialmente las muestras adulteradas con jarabe de alta fructuosa y miel de agave de las mieles puras. Este modelo permitió discriminar las mieles puras de las muestras adulteradas, pero no logró una separación adecuada de los adulterantes, ni de las adulteraciones a diferentes concentraciones.

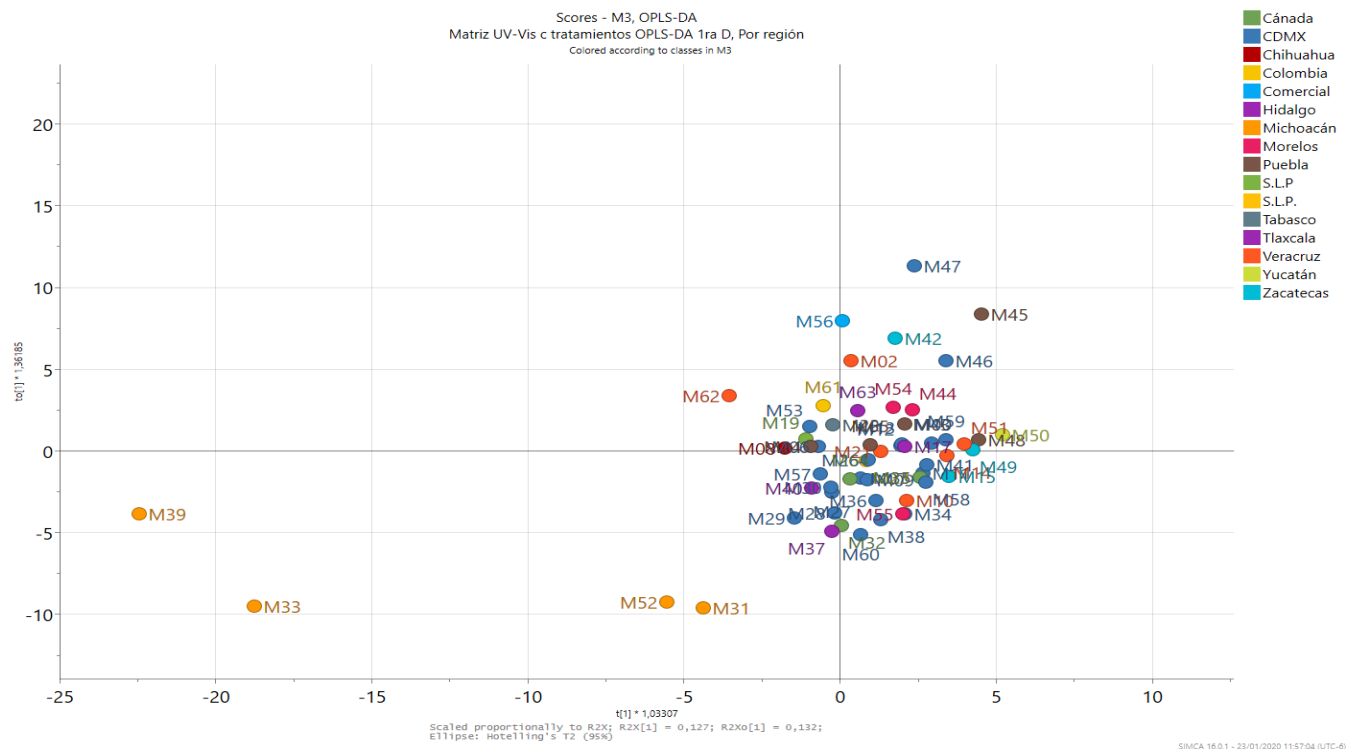
7. PERSPECTIVAS.

- Incrementar el número de muestras de cada uno de los diferentes tipos miel que se producen en México.
- Utilizar otros adulterantes de la miel como el jarabe de arroz, la remolacha y jarabes de alta fructosa.
- Desarrollar la metodología para la detección de posibles adulteraciones utilizando espectroscopía IR.

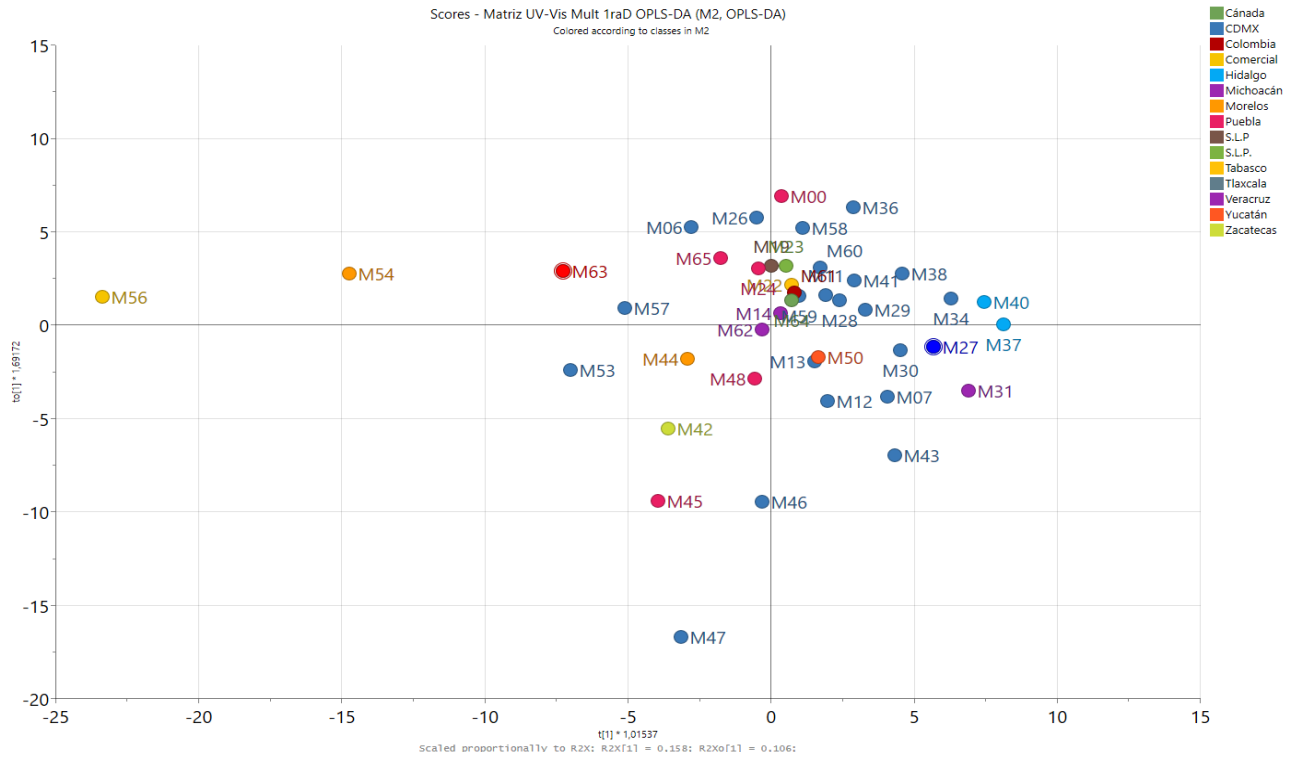
• 8. APÉNDICE.



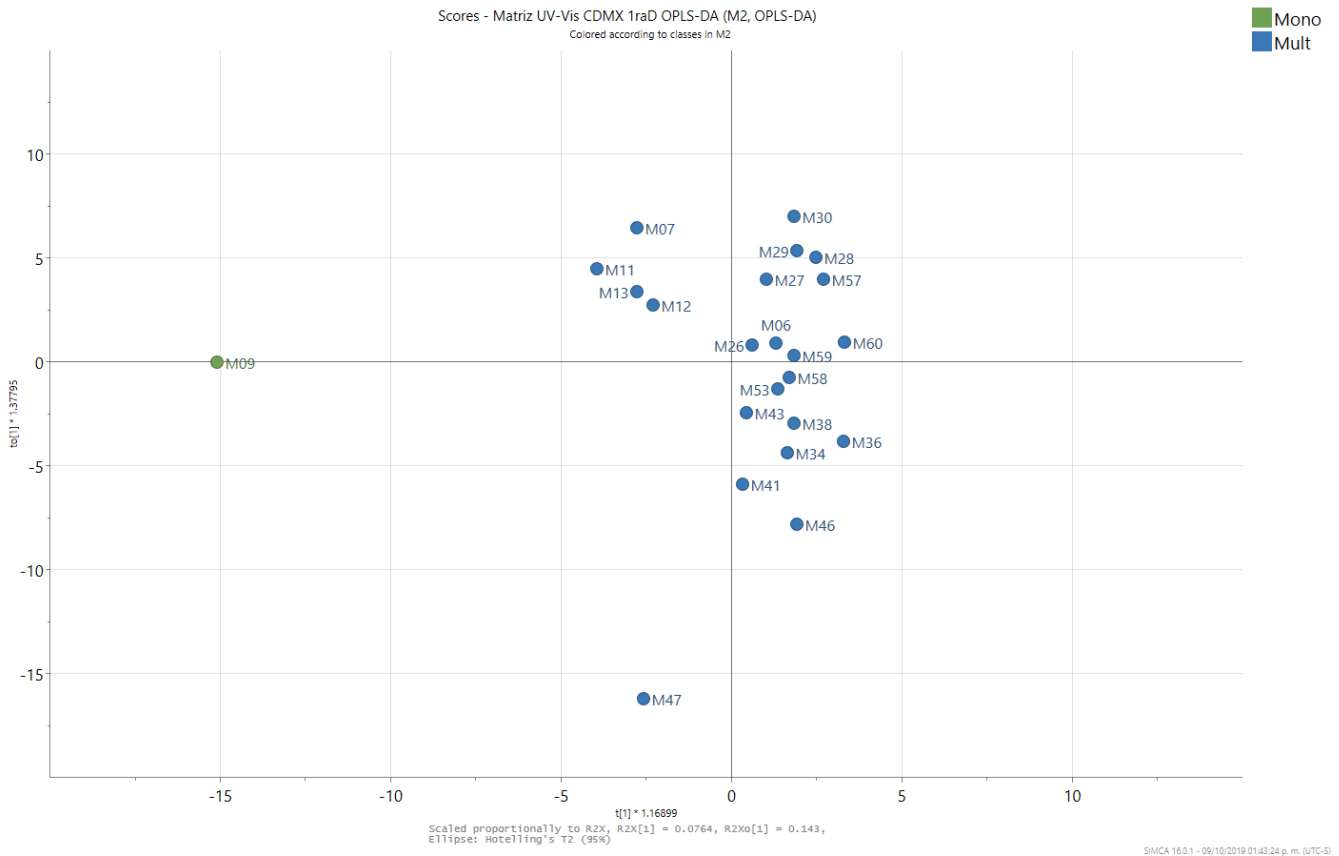
Gráfica A 1. Modelo: M1.2. OPLS-DA de mieles puras considerando su origen floral.



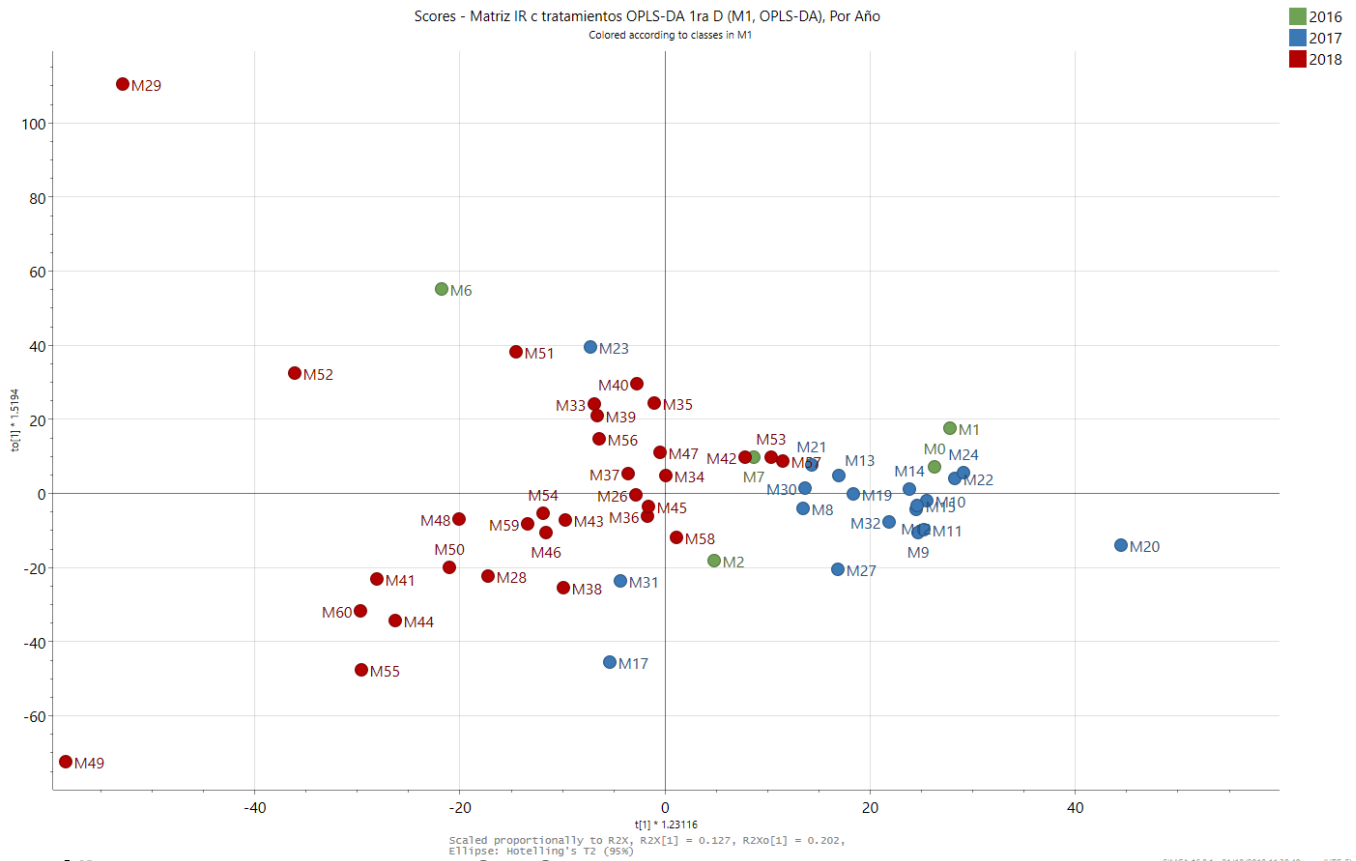
Gráfica A 2. Modelo: M1.3. OPLS-DA de mieles puras considerando la región de recolección.



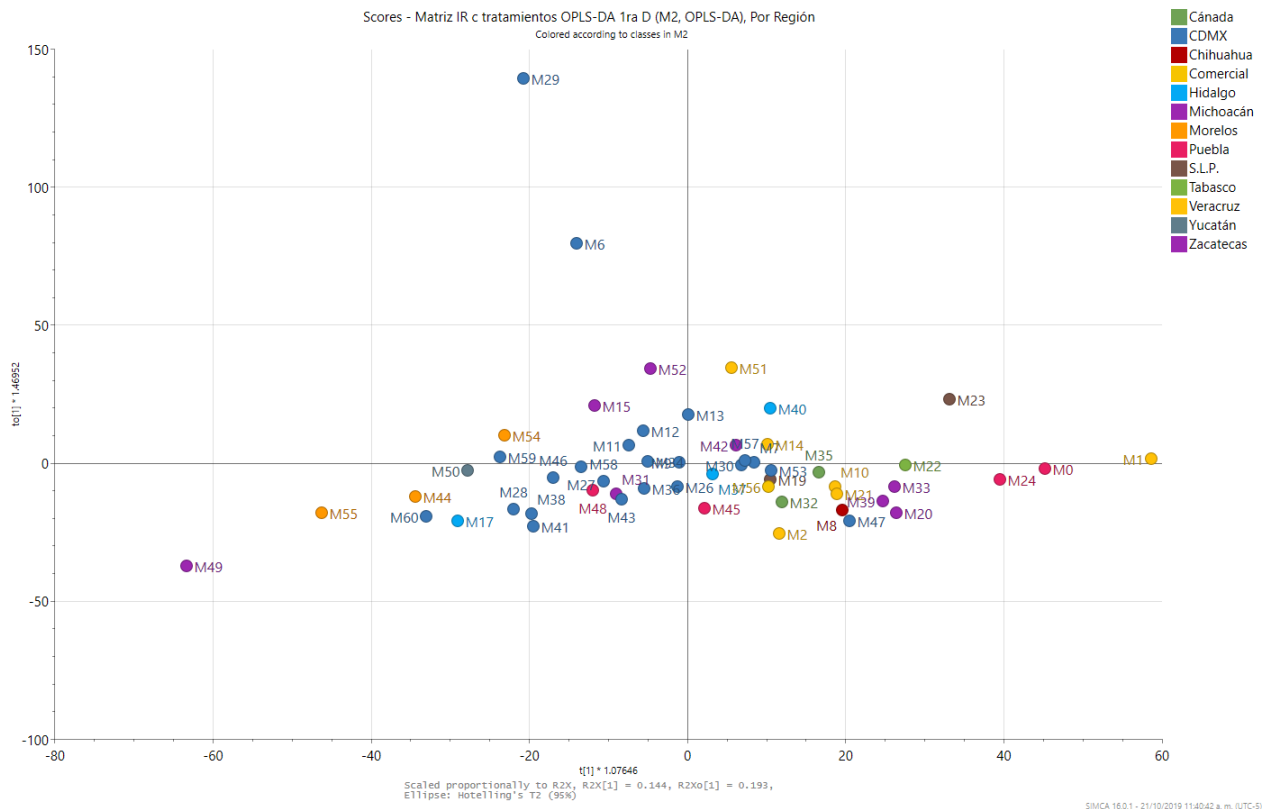
Gráfica A 3. Modelo: M 3.2 OPLS-DA de mieles puras multiflorales considerando como variable la región de recolección.



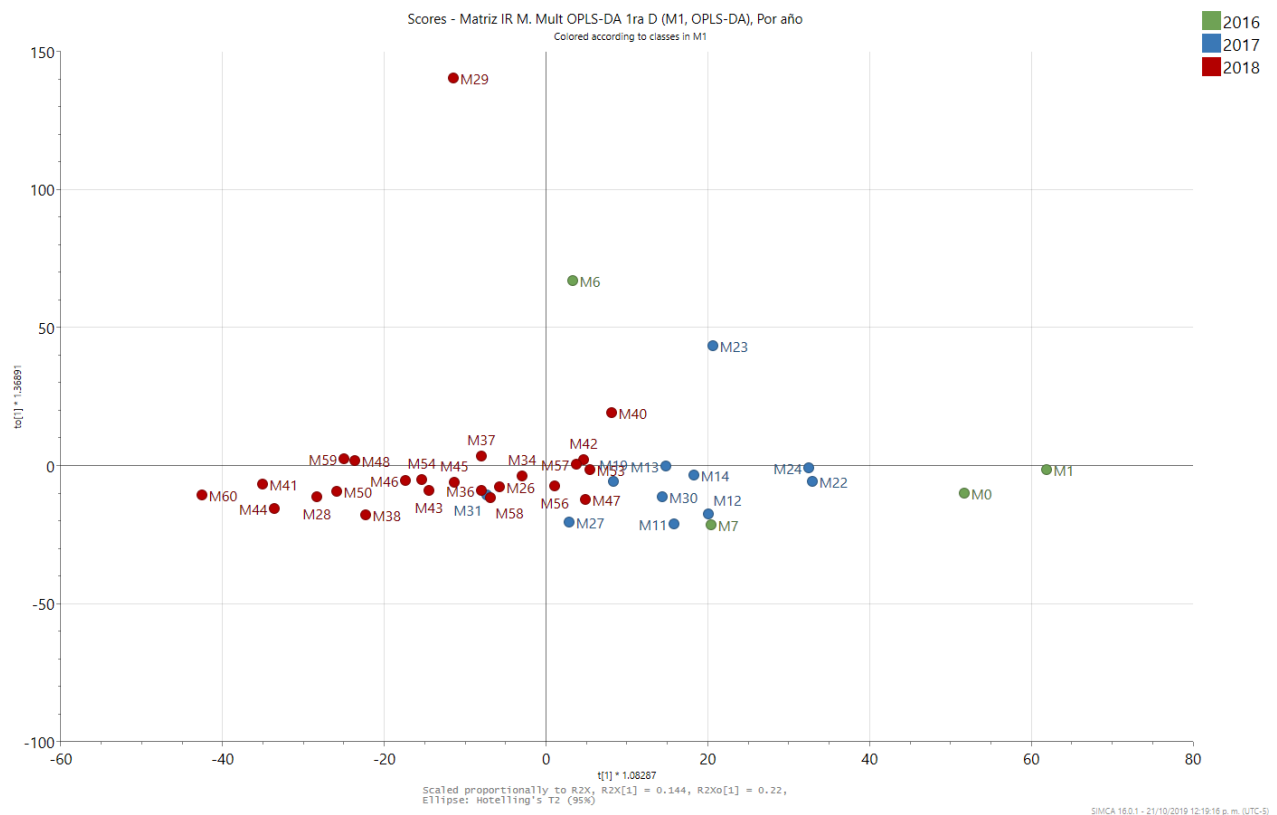
Gráfica A 4. Modelo: M 4.2 OPLS-DA de mieles puras provenientes de la Ciudad de México considerando como variable su origen floral.



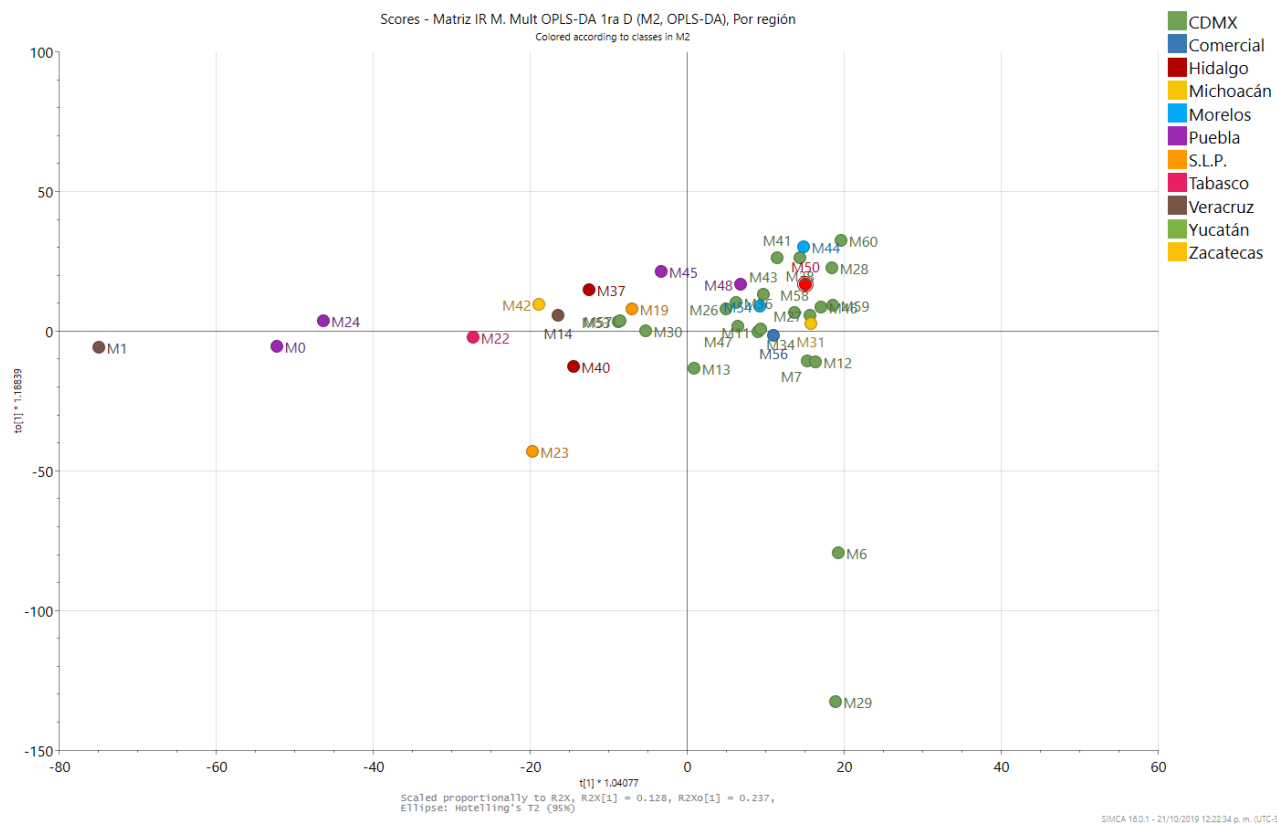
Gráfica A 5. Modelo: M5.1. OPLS-DA de mieles puras considerando su año de recolección.



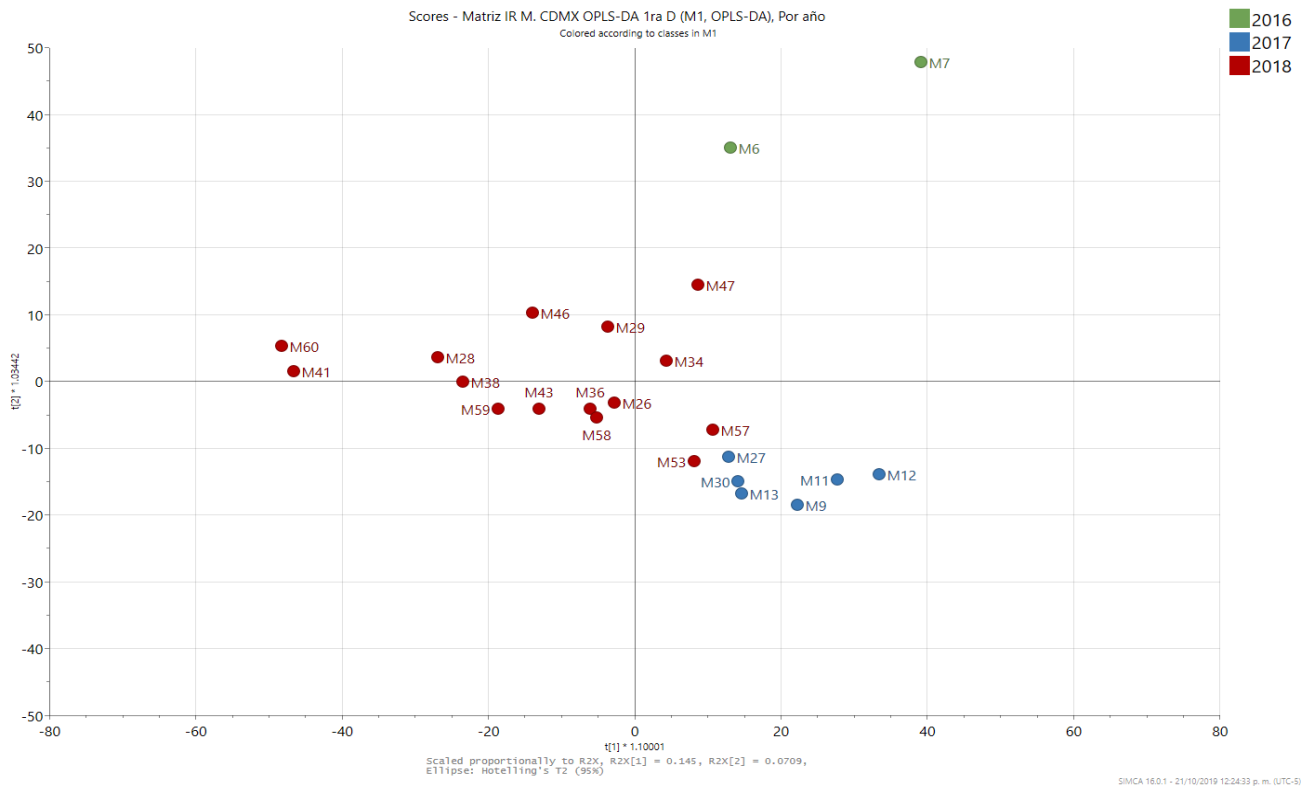
Gráfica A 6. Modelo: M5.2. OPLS-DA de mieles puras considerando su región de recolección.



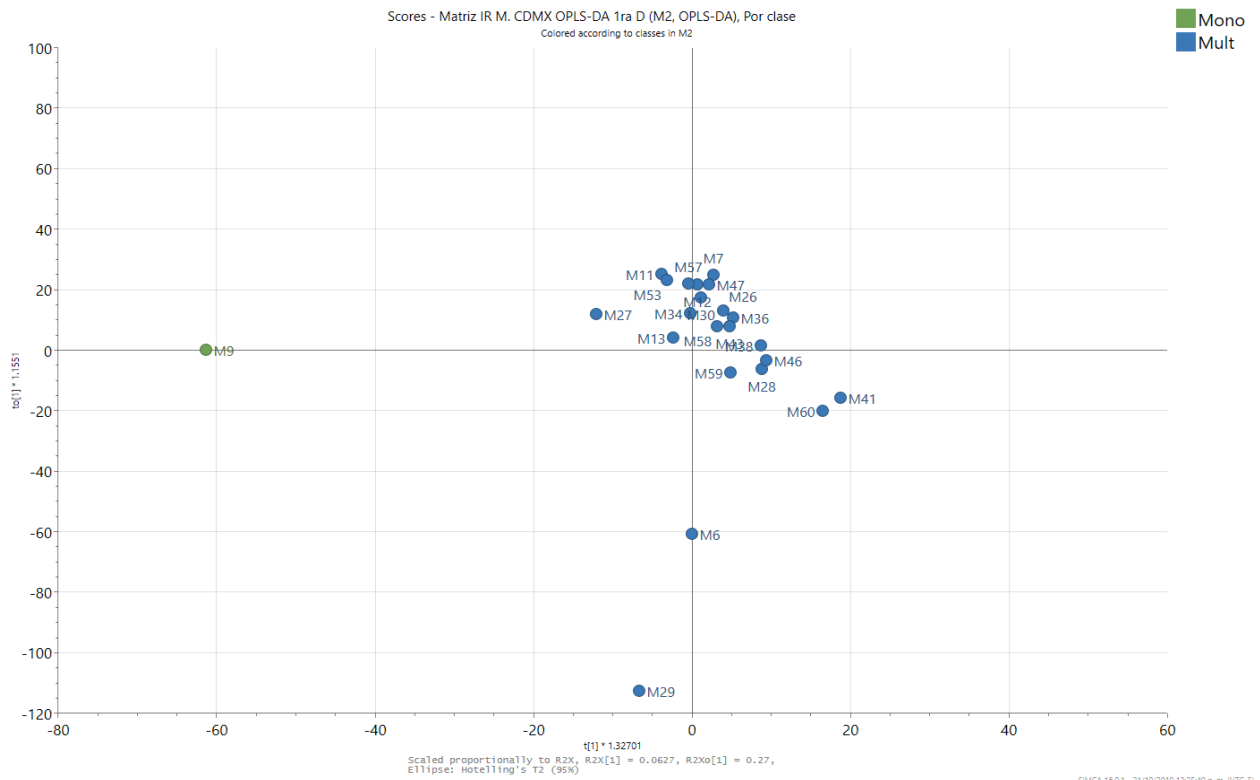
Gráfica A 7. Modelo: M7.1. OPLS-DA de mieles multiflorales puras considerando el año de recolección.



Gráfica A 8. Modelo: M7.2. OPLS-DA de mieles multiflorales considerando la región de recolección.



Gráfica A 9. Modelo: M8.1. OPLS-DA de mieles provenientes de la Ciudad de México considerando su año de recolección.



Gráfica A 10. Modelo: M8.2. OPLS-DA de mieles provenientes de la Ciudad de México considerando su origen floral.

Tabla A 1. Información de las mieles analizadas.

Miel	UV-VIS	IR	Año	Origen	Origen Floral	Clase de miel
M0	✓	✓	2016	Puebla	Mult	Melipona
M1		✓	2016	Veracruz	Mult	Melipona
M2	✓	✓	2016	Veracruz	Mono	Apis mellifera
M6	✓	✓	2016	CDMX	Mult	Apis M
M7	✓	✓	2016	CDMX	Mult	Apis M
M8	✓	✓	2017	Chihuahua	Mono	Apis M
M9	✓	✓	2017	CDMX	Mono	Apis M
M10	✓	✓	2017	Veracruz	Mono	Apis M
M11	✓	✓	2017	CDMX	Mult	Apis M
M12	✓	✓	2017	CDMX	Mult	Apis M
M13	✓	✓	2017	CDMX	Mult	Apis M
M14	✓	✓	2017	Veracruz	Mult	Apis M
M15	✓	✓	2017	Zacatecas	Mono	Apis M
M17	✓	✓	2017	Hidalgo	Mono	Apis M
M19	✓	✓	2017	S.L.P	Multi	Apis M
M20	✓	✓	2017	Michoacán	Mono	Apis M
M21	✓	✓	2017	Veracruz	Mono	Apis M
M22	✓	✓	2017	Tabasco	Mult	Melipona
M23	✓	✓	2017	S.L.P.	Mult	Apis M
M24	✓	✓	2017	Puebla	Mult	Apis M
M26	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M

Tabla A 1. Información de las mieles analizadas (continuación).

Miel	UV-VIS	IR	Año	Origen	Origen Floral	Clase de miel
M27	✓	✓	2017	CDMX	Mult	Apis M
M28	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M29	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M30	✓	✓	2017	CDMX	Mult	Apis M
M31	✓	✓	2017	Michoacán	Mult	Apis M
M32	✓	✓	2018	Cánada	Mno	Apis M
M33	✓	✓	2018	Michoacán	Mono	Apis M
M34	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M35	✓	✓	2018	Cánada	Mult	Apis M
M36	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M37	✓	✓	2018	Hidalgo	Mult	Apis M
M38	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M39	✓	✓	2018	Michoacán	Mono	Apis M
M40	✓	✓	2018	Hidalgo	Mult	Apis M
M41	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M42	✓	✓	2018	Zacatecas	Mult	Apis M
M43	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M44	✓	✓	2018	Morelos	Mult	Apis M
M45	✓	✓	2018	Puebla	Mult	Apis M
M46	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M47	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M

Tabla A 1. Información de las mieles analizadas (continuación).

Miel	UV-VIS	IR	Año	Origen	Origen Floral	Clase de miel
M48	✓	✓	2018	Puebla	Mult	Apis M
M49	✓	✓	2018	Zacatecas	Mono	Apis M
M50	✓	✓	2018	Yucatán	Mult	Apis M
M51	✓	✓	2018	Veracruz	Mono	Apis M
M52	✓	✓	2018	Michoacán	Mono	Apis M
M53	✓	✓	2018	CMDX	Mult	Apis M
M54	✓	✓	2018	Morelos	Mult	Apis M
M55	✓	✓	2018	Morelos	Mono	Apis M
M56	✓	✓	2018	Comercial	Mult	Apis M
M57	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M58	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M59	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M60	✓	✓	2018	CDMX	Mult	Apis M
M61	✓		2019	Colombia	Mult	Apis M
M62	✓		2019	Veracruz	Mult	Apis M
M63	✓		2019	Tlaxcala	Mult	Apis M
M64	✓		2019	Cánada	Mult	Apis M
M65	✓		2019	Puebla	Mult	Apis M

Tabla A 2. Máximos de absorción de flavonoides en el propóleo. (Ristivojević et al., 2017).

No.	Compuestos fenólicos	λ_{\max} (nm)
1	Apigenina	268, 336
2	Crisina	270, 313, 324
3	Quercetina	294, 370
4	Kaempfenol	268, 294, 367
5	Galangin	339
6	Pinocembrina	290
7	CAPE	238, 298, 328
8	Ácido cafeico	274, 296, 332
9	Pinobanksina-metil éter	288
10	<i>p</i> -ácido cumarico	286, 209, 220

Tabla A 3. Resumen de las principales señales para fenoles y flavonoides de FTIR (Wu et al., 2008)

Frecuencia (cm⁻¹)	Tipo de señal	Tipo de enlace	Asignación
3335	Alargamiento	O–H y N–H	Hidroxilos y aminas
2917	Alargamiento asimétrico	C–H	grupos CH ₂ de saturación
2849	Alargamiento simétrico	C–H	Hidrocarbonos
1699	Vibración de flexión asimétrica	C=O	Lípidos, flavonoides y aminoácidos
1661	Vibración de alargamiento (C–O) y flexión (C–OH)	C–O y C–OH	Lípidos y alcoholes terciarios
1513	Alargamiento	Compuestos aromáticos	Flavonoides y anillos aromáticos
1450	Vibración de flexión	C-H de grupos CH ₂ y CH ₃ , aromáticos	Flavonoides y anillos aromáticos
1369	Vibración de flexión	C-H	grupo CH ₃ de flavonoides
1269	Vibración de flexión (O–H) y de flexión asimétrica (C–CO)	O–H y C–CO	Hidrocarburos
1088	Vibración de alargamiento (C-C) y flexión (C–OH)	C–C y C–OH	Flavonoides y grupos alcohólicos secundarios
1043	Alargamiento (=C-O-C), Alargamiento (C-C) y flexión (C-OH)	C–C, C–OH, =C–O–C	Grupos alcohólicos primarios
881	Estiramiento simétrico	C-C-O	Alcoholes primarios y secundarios

BIBLIOGRAFÍA

- Almaleeh, A. A., Adom, A. H., & Fathinul-Syahir, A. S. (2017). Classification of the botanical origin for Malaysian honey using UV-Vis spectroscopy. *AIP Conference Proceedings*, 1808(March). <https://doi.org/10.1063/1.4975241>
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., & Battino, M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 20(5), 621–638. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298140>
- Berfield, S. (2013). The Honey Launderers: Uncovering the Largest Food Fraud in U.S. History. *Yahoo! Finance*. <https://finance.yahoo.com/news/the-honey-launderers--uncovering-the-largest-food-fraud-in-u-s--history-171454285.html>
- Bogdanov, S. (2011). The book of honey. *The Book of Honey*, May, 1–6.
- Boll, B., Kunz, N., & Kammerer, D. R. (2013). *Phenolic compounds as marker compounds for botanical origin determination of German propolis samples based on TLC and TLC-MS*. October 2014. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.020>
- Borrás, M. J. (2016). Herramientas Analíticas en la Clasificación de Mieles en Base a Criterios de Calidad e Inocuidad. *Universitat Politècnica de València*, 1–2.
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Missaoui, R., & Hamdi, S. (2015). *Physicochemical characteristics and quality determination of three Tunisian honeys*. 2, 836–839.
- Buratti, S., Benedetti, S., & Cosio, M. S. (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta*, 71(3), 1387–1392. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.07.006>
- Camuri, I. J., Costa, A. B., Ito, A. S., & Pazin, W. M. (2018). Optical absorption and fluorescence spectroscopy studies of Artepillin C, the major component of green propolis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 198, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.02.059>
- Chavarrías, M. (2017). ¿Cuáles son los alimentos más adulterados? *Eroski Consumer*.

<https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/cuales-son-los-alimentos-mas-adulterados.html>

- Cheung, Y., Meenu, M., Yu, X., & Xu, B. (2019). Phenolic acids and flavonoids profiles of commercial honey from different floral sources and geographic sources. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 290–308. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579835>
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P. P., Zhang, J., Lamas, L. B., Flórez, S. M., Toyos, P. A., Quiles, J. L., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., & Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3), 924–929. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.10.059>
- Codex Alimentarius. (2001). CODEX NORMA PARA LA MIEL. *CODEX STAN 12-1981*, 1, 1–9.
- Comisión Honoraria de Desarrollo Apícola. (2018). Sector Apícola: Estadísticas de Comercio Exterior. *Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca*, 8. http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/informe_-sector_apicola_-_comercio_exterior.pdf
- Dabic, D., Kec, S., Trifkovic, J., Milojkovic, D., Tešić, Z., & Natic, M. (2014). *Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys*. 145, 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.088>
- De la Fuente, S. (2011). Análisis Componentes Principales. *Universidad Autónoma de Madrid*.
- Debitoor. (n.d.). *¿Qué es el Dumping?* <https://debitoor.es/glosario/definicion-dumping>
- Díaz, N. A., Ruiz, J. A. B., Reyes, E. F., Cejudo, A. G., Novo, J. J., Peinado, J. P., Meléndez-valdés, F. T., & Fiñana, I. T. (2012). 8. *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. 1–8.

- Eriksson, L. (2017). Umetrics Suite Blog OPLS vs PCA: Explaining differences or grouping? *Umetrics*. <https://blog.umetrics.com/explaining-differences-or-grouping-data-opls-da-vs-pca-data-analysis>
- Eriksson, L. (2018). What is principal component analysis (PCA) and how it is used? *Umetrics*. <https://blog.umetrics.com/what-is-principal-component-analysis-pca-and-how-it-is-used>
- Escrive, I., Kadar, M., Juan-Borrás, M., & Domenech, E. (2011). Using flavonoids, phenolic compounds and headspace volatile profile for botanical authentication of lemon and orange honeys. *Food Research International*, *44*(5), 1504–1513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.049>
- Eshete, Y., & Eshete, T. (2018). *Madridge Journal of Food Technology A Review on the Effect of Processing Temperature and Time duration on Commercial Honey Quality*. *4*(1), 159–163. <https://doi.org/10.18689/mjft-1000124>
- Ferreres, F., Tomás-Barberán, F., & Soler, C. (1993). HPLC analysis FA Tomás-Barberán C Soler. *Apidologie*, *2*, 21–30.
- Food and Agriculture Organization. (2000). *Codex alimentarius commission. Appendix 1*, 1–34.
- Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Zuñiga, M., & Rivera-Espinoza, Y. (2009). *Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys*. *42*, 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.11.010>
- Gallina, A., Stocco, N., & Mutinelli, F. (2010). Karl Fischer Titration to determine moisture in honey: A new simplified approach. *Food Control*, *21*(6), 942–944. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.11.008>
- Gan, Z., Yang, Y., Li, J., Wen, X., Zhu, M., Jiang, Y., & Ni, Y. (2016). Using sensor and spectral analysis to classify botanical origin and determine adulteration of raw honey. *Journal of Food Engineering*, *178*, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.016>
- Hamdan, K. (2013). How Do Bees Make Honey? *The Abstract Blog*.

<http://web.ncsu.edu/abstract/science/how-do-bees-make-honey/>

- Hamdan, K. (2015). Crystallization of Honey. *Journal of Economic Entomology*, 24(3), 597–602. <https://doi.org/10.1093/jee/24.3.597>
- Hermosín, I., Chicón, R. M., & Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263–268. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00089-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00089-X)
- Instituto Nacional de Economía Social. (2018). Historia e importancia de la Apicultura. *Gobierno de México*. <https://www.gob.mx/inaes/articulos/historia-e-importancia-de-la-apicultura?idiom=es>
- Laguna, C. (2019). Correlación y regresión. *Instituto Aragonés de Ciencias de La Salud*, 143–178. <https://doi.org/10.2307/j.ctvc5pc9g.6>
- Manyi-Loh, C. E., Ndip, R. N., & Clarke, A. M. (2011). Volatile compounds in honey: A review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(12), 9514–9532. <https://doi.org/10.3390/ijms12129514>
- Marcinkevicius, K. (2007). *Análisis de mieles por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)*. <https://inta.gob.ar/sites/default/files/rmn-miel.pdf>
- México Desconocido. (2010). *La miel en México a través de los siglos Buena Semana Superama*. <https://www.mexicodesconocido.com.mx/la-miel-en-mexico-a-traves-de-los-siglos.html>
- Mondrag, P. (2000). Espectroscopia de infrarrojo para todos. *Centro de Investigación y Asistencia En Tecnología y Diseño Del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ)*, 20–30.
- Montenegro, G., Gomez, M., Casaubon, G., Belancic, A., Mujica, A., & Peña, R. (2009). Analysis of volatile compounds in three unifloral native Chilean honeys Análisis de compuestos volátiles en tres mieles monoflorales nativas de Chile. *International Journal of Experimental Botany*, 79, 61–65.
- Mongay Fernández, Carlos. Quimiometría. Universitat de valència. España. 2005. pp. 19-22.

Norma oficial mexicana NOM-145-SCFI-2001. Información comercial-etiquetado de miel en sus diferentes presentaciones.

Norma mexicana. NMX-F-036-981. Miel de abeja.

Norma mexicana. NMX-F-416-S-1982. Productos alimenticios para uso humano miel de abeja. Métodos de prueba.

Nicholas, H. L., & Sporns, P. (1988). Analysis and Quantitation of Minor Di- and Trisaccharides in Honey, Using Capillary Gas Chromatography. *Journal of Food Science*, 53(2), 558–561. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb07755.x>

Notimex. (2018). Alertan por miel “adulterada” en mercados de México China. *MVS Noticias*. <https://mvsnoticias.com/noticias/economia/alertan-por-miel-adulterada-en-mercados-de-mexico/>

Olguín, M., & Medina, F. (2019). Cómo identificar miel adulterada. *UNAM Global*, 1–8.

Pascual-maté, A., Osés, S. M., Fernández-muiño, M. A., Teresa, M., Osés, S. M., Fernández-muiño, M. A., Teresa, M., Ose, S. M., Ferna, M. A., & Pascual-mate, A. (2018). Methods of analysis of honey Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 38–74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411178>

Pita-Calvo, C., Guerra-Rodríguez, M., & Vázquez, M. (2017). Analytical methods used in the quality control of honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 690–703. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04776>

Pontis, J. A., Costa, L. A. M. A. da, Silva, S. J. R. da, & Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology*, 34(1), 69–73. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612014005000015>

Primavera, L., Alberto, C., & Barragán, R. (2015). Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan , Jalisco Physical-chemical description of propolis collected in. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(28), 74–87.

- PROFECO. (2018). Alimento milenario. *Revista Del Consumidor, Junio*, 33–39.
- Rico, C., & Cáceres, J. O. (n.d.). Adulteración de Miel : Estado Actual y nuevas técnicas de Análisis. *Universidad Complutense de Madrid*, 1–9.
- Ristivojević, P., Trifković, J., Stanković, D. M., Manojlović, D., & Milojković-opsenica, D. (2017). Cyclic voltammetry and UV / Vis spectroscopy in combination with multivariate data analysis for the assessment of authenticity of poplar type propolis. *Journal of Apicultural Research*, 56(5), 559–568. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1357217>
- Rodríguez Jerez, J. J. (2005). La presencia de cloranfenicol en productos apícolas. *Eroski Consumer*. <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/la-presencia-de-cloranfenicol-en-productos-apicolas.html>
- Ruiz-matute, A. I., & Rodríguez-sánchez, S. (2010). *Detection of adulterations of honey with high fructose syrups from inulin by GC analysis Journal of Food Composition and Analysis Detection of adulterations of honey with high fructose syrups from inulin by GC analysis. October 2017*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.004>.
- Sáenz C. & Gómez C. (2000). Mielles españolas. Características e identificación mediante el análisis del polen. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Sanchez, C., Castignani, H., & Rabaglio, M. (2018). *El Mercado Apícola Internacional*. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_cicpes_instdeconomia_sanchez_mercado_apicola_internacional.pdf
- Secretaría de Economía. (2016). Competitividad y Normatividad / Normalización. *Gobierno de México*. <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/competitividad-y-normatividad-normalizacion>
- Seracu, D. I. (2006). *The Study of UV and VIS Absorption Spectra of the Complexes of Amino Acids with Ninhydrin. April 2015*, 37–41. <https://doi.org/10.1080/00032718708066323>
- Serra-Bonvehi, J., & Ventura-Coll, F. (2005). Characterization of Citrus Honey (*Citrus spp.*) Produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(8), 2053–2057. <https://doi.org/10.1021/jf00056a018>

- Serrano Martínez, J. L. (2002). *AGUA Y DEL TERRENO . MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICO TEMA : ESPECTROSCOPIA INFRARROJA 1-Fundamentos* . José Luis Serrano Martínez *Espectroscopia infrarroja*. 1–35.
- Skoog, D.A.; Leary J.J., Holler F. James; *PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL*, 5° ed.; Ed. McGraw-Hill (1998), pp. 353-367.
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2017). A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1072–1100. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12278>.
- Stewart, Tabori & Chang, (2011), *The beekeeper's bible*, Nueva York, USA, Abrams, 7.
- Umetrics. (n.d.). *SIMCA –P and Multivariate Analysis Frequently Asked Questions*. 1–9.
- ÜNAL, C. (2006). Chemical quality of strained honey consumed in Ankara. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50(1), 1–1. https://doi.org/10.1501/vetfak_0000000058
- Universitat Rovira i Virgili. (n.d.). *QUIMIOMETRÍA, Una disciplina útil para el análisis químico*. 1–10.
- White Jr. (1978). *Advances in Food Research* Volume 24, Pag iii-vii, 1-378. Capítulo: Honey Original Research Article, 287-374, ISBN: 978-0-12-016424-0. Edited by C.O. Chicheste.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, D. J., & Donnell, C. (2007). *Geographical Classification of Honey Samples by Near-Infrared Spectroscopy: A Feasibility Study*. 9128–9134.
- Worley, B., & Powers, R. (2013). *Multivariate Analysis in Metabolomics*. 92–107.
- Wu, Y., Sun, S., Zhao, J., Li, Y., & Zhou, Q. (2008). *Rapid discrimination of extracts of Chinese propolis and poplar buds by FT-IR and 2D IR correlation spectroscopy*. 884, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.12.009>