



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

IV SEMINARIO DE TITULACION EN EL AREA
DE APICULTURA:

**CONTROL DE CALIDAD PARA MIEL DE
ABEJA ESTUDIO RECAPITULATIVO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JOSE MARIA BOLIVAR GOMEZ



ASESCRADO POR:

M.V.Z. ADRIANA CORREA BENITEZ
QUIM. IND. AURORA MARQUEZ MORENO

MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO.

	Pag.
Resumen	1
1.0 Introducción.	2
2.0 Extracción y toma de muestra	6
2.1 Extracción	6
2.2 Toma de muestra	6
3.0 Clasificación y especificaciones	7
3.1 Clasificación	7
3.2 Especificaciones	9
4.0 Propiedades organolépticas	11
4.1 C. visuales	11
4.2 C. olfativas	12
4.3 C. gustativas	12
4.4 C. táctiles	13
4.5 Factor humano	14
4.6 Degustación	15
4.7 Ficha de valoración organoléptica de la miel.	17
5.0 Determinación del contenido de humedad	18
5.1 Principio del método	18
6.0 Determinación de glucosa y sacarosa	19
6.1 Método de glucosa-oxidasa	19
6.2 Determinación de glucosa oxidasa en presencia de yoduro de potasio	24
7.0 Hidrolisis	26

8.0 Separación de azúcares por cromatografía en columna.	27
8.1 Principio	27
8.2 Preparación y estandarización de la columna de absorción.	28
8.3 Preparación de las fracciones	29
8.4 Glucosa	30
8.5 Fructosa	31
8.6 Método de Shaffer Somogyi.	33
8.7 Sacarosa	35
9.0 Disacáridos reductores como maltosa	37
9.1 Procedimiento	37
10.0 Azúcares superiores o dextrinas.	38
10.1 Procedimiento.	39
11.0 Determinación del contenido de azúcares reductores.	40
11.1 Principio del metodo.	40
11.2 Reactivos	40
11.3 Procedimiento	42
11.4 Normalización de la solución de Fehling modificada.	42
11.5 Titulación preliminar.	43
11.6 Determinación	43
11.7 Cálculos y expresión de los resultados.	44
11.8 Notas sobre el procedimiento.	45
12.0 Determinación de acidez.	45
12.1 Reactivos	46
12.2 Titulación con Fenortaleina	47
13.0 Determinación de cenizas	48
13.1 Procedimiento	49

13.2	Calculos	49
14.0	Determinación de solidos insolubles en agua	49
14.1	Procedimiento	49
14.2	Otras variantes de sólidos insolubles en agua	50
15.0	Determinación de dextrinas.	50
15.1	Procedimiento.	50
15.2	Otros métodos para determinación de dextrinas.	52
16.0	Determinación de Hidroximetilfurfural.	53
16.1	Principio del método cualitativo.	53
16.2	Principio del método cuantitativo.	54
17.0	Determinación activa de la Diastasa.	56
17.1	Principio de método.	57.
17.2	Reactivos.	57
17.3	Material necesario.	59
17.4	Preparación de la muestra.	60
17.5	Procedimiento.	60
17.6	Calculos y expresión de resultados.	60
18.0	Contaminantes.	61
18.1	Microbiológicas.	61
18.2	Materia extrañas objetables.	62
18.3	Uso de aditivos.	62.
18.4	Contaminantes químicos.	62
19.0	Muestreo.	62
20.0	Marcado, etiquetado, envases y embalajes.	62
20.1.	Marcado y etiquetado.	62
20.2	Envases.	64.
20.3	Embalajes.	64

20.4 Almacenamiento.	64
21.0 Conclusión.	65
22.0 Literatura citada.	67
23.0 Figuras.	
Fig. 1 Determinación de glucoxidasa en la miel	25-26
Fig. 2 Determinación de acidez.	47-48
Fig. 3 Determinación de glucosa comercial.	52-53
Fig. 4 Determinación de H.M.F.	53-54
Fig. 5 Determinación de diastasa en la miel.	60-61

RESUMEN.**BOLIVAR GOMEZ JOSE MARIA. CONTROL DE CALIDAD PARA MIEL DE ABEJA,
ESTUDIO RECAPITULATIVO: IV SEMINARIO DE TITULACION EN EL AREA
DE APICULTURA.****(BAJO LA SUPERVISION DE M.V.Z. ADRIANA CORREA BENITEZ Y LA QUIM.
IND. MA. AURORA MARQUEZ MORENO).**

El presente trabajo es una recopilación de normas de calidad de miel abeja, para darle una mayor difusión y concientizar al apicultor de la importancia de ellas a nivel de mercado nacional y sobre todo extranjero, puesto que este mercado se basa en La Norma Regional Europea, la cual determina el precio internacional de la miel. Para lograr esto se consultaron las siguientes normas: Norma Oficial Mexicana NOM-F-C 1982, Norma Oficial Mexicana NOM-F-36-A- 1981, Norma Oficial Para Miel de Abeja, Anteproyecto de Norma de Prueba Para Miel de Abeja NCM-MP/1-1980, Norma de Métodos de Prueba Para Miel de Abeja NCM/1-S-1980, Proyecto de Norma Comercial Obligatoria Para Miel de Abeja en Envases Menores de Seis kilogramos. Describiéndose las pruebas de azúcares reductores, humedad, sólidos insolubles en agua, cenizas totales, acidez total, HMF, cantidad de actividad diastásica, así como las determinaciones de marcado, etiquetado, envases y embalajes, concluyéndose que los análisis y las normas necesarias para tener una buena calidad de miel son sencillos, confiables y fáciles de llevar a cabo, con lo que el apicultor se evitaría el vender una miel de buena calidad a precio de una de mala calidad.

1.0 Introducción.

Se entiende por miel de abeja: a la sustancia dulce producida a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas, que las abejas recogen, transforman y almacenan después en panales; de los cuales se extrae.(5)

La miel aporta mas energia por cucharadita (64 kcal), en comparación con una cantidad similar de azúcar (48 kcal), pero la miel es mas costosa.(7)

La abeja *Apis mellifera* y *Apis dorsata* colectan el material crudo (néctar, melaza, etc) en una estructura conocida como saco melario y lo mezclan con secreciones salivales. Al llegar a la colmena, la abeja vacía el contenido de su saco en unas de sus celdas, sobre la cual pasan rápidamente una y otra abeja que aportan secreciones salivales, con lo que consiguen transformar a los azúcares del néctar. La evaporación del exceso de humedad se consigue al colocar el néctar en las celdas en forma de capas delgadas o como pequeñas gotas suspendidas, exponiéndose a las corrientes de aire provocadas por las mismas abejas al mover rápidamente sus alas.(7)

Una vez llenas las celdillas, las abejas las cierran con un fino opérculo de cera lo que permite una mejor conservación. (7)

Se ha calculado que para obtener aproximadamente medio litro de miel, las abejas tienen que visitar, por lo menos un millón de flores. Una abeja vive entre cuatro y seis semanas y durante su vida sólo puede recolectar una cantidad de miel equivalente a una cucharadita de té. Otra multitud de abejas son necesarias para ayudar a solidificar la miel, por lo que en total se requiere aproximadamente 150 mil abejas para producir más o menos un kilogramo de miel y un recorrido que equivale a sobrevolar tres veces la tierra para lograr acumular esa

cantidad de néctar. La miel no solamente se hace del néctar de las flores, sino también de las exudaciones de ciertos arbustos, hojas y pastos.(7)

El néctar de las flores es una solución de azúcar (sacarosa) con cantidades menores de otras sustancias como tanino, aminoácidos, nutrimento inorgánicos, aceites esenciales y ácidos orgánicos. El proceso mediante el cual las abejas transforman el néctar en miel consiste primeramente en convertir, por mecanismos enzimáticos, a la sacarosa (azúcar), en fructosa y glucosa, para posteriormente evaporarla; las glándulas después de que se atrofian y dejan de producir jalea real, comienzan a producir una enzima llamada invertasa. (7)

El color de la miel variará dependiendo de la flora, la situación geográfica, la composición del suelo, la época del año, las condiciones climatológicas, y las técnicas avícolas utilizadas. Las principales diferencias se atribuyen a la composición del suelo, de donde las plantas toman los nutrimentos y a los tipos de plantas. Las pequeñas cantidades de potasio, cloro, azufre, sodio, calcio, fósforo, magnesio, manganeso, silicio, hierro y cobre, encontradas en las mieles, reflejan la relativa riqueza mineral de un terreno en particular, reflejando en las mieles oscuras un alto contenido de nutrimentos inorgánicos.(7)

Antiguamente la miel se recomendaba como un tratamiento para combatir anemias, como laxante y como bactericida. La miel fue el alimento de los Dioses del Olimpo, un regalo celestial elogiado en la Biblia, el Corán y una medicina prescrita por Hipócrates. (7)

Los filósofos griegos creían que la miel era un rocío destilado de las estrellas y del arco iris, por lo que lo consideraban un elixir de juventud; A la miel se le ha dado diferentes usos, como fuente energética, se les daba a los atletas en las competencias de los primeros juegos olímpicos. Durante el año nuevo judío, comer miel representa

el deseo de un dulce año. Se informa que la miel es ácida y por lo tanto ayuda a eliminar el acné y otras irritaciones de la dermis, se menciona que la miel es un tónico que suaviza la expresión, reduce las arrugas y restaura la elasticidad natural de la piel.(7)

La miel aporta mas energía por cucharadita (64kcal), en comparación con una cantidad similar de azúcar (48kcal), pero la miel tiene un mayor costo.(7)

Los dietistas y nutriólogos están en desacuerdo en el contenido de nutrientes que contiene la miel con respecto a la azúcar (7)

En el estado de California el Departamento de salud previene a los padres de familia asegurando que la miel se ha identificado como una fuente de botulismo infantil, por lo que recomiendan no dar miel a los niños menores de un año. (7)

La miel tiene una gran afinidad por el agua, la que, tomará de la humedad del aire o de cualquier material que la contenga (higroscópica) Por esta razón los productos horneados, que contengan miel, permanecen frescos y suaves mucho más tiempo, esta avidez por el agua le confiere a la miel características de agente bactericida, los organismos deben tener una cierta humedad a fin de sobrevivir, si la miel toma el agua de las bacterias, éstas morirán inmediatamente (7)

A medida que la miel envejece su textura cambia La cristalización o granulación es un fenómeno que se presenta en todas las mieles después de un tiempo o al estar almacenadas a temperatura entre 10 y 16°C. Este fenómeno no afecta al sabor o a la composición de la miel; en algunos países la miel granulada se considera como un producto de prestigio (delicatense).(7)

La miel cristalizada puede fundirse en baño María, manteniendo la temperatura abajo de 75°C, a fin de retener todas las características nutritivas que posee.(7)

En el mercado se expenden dos tipos de miel : miel en panal y miel de extracción.. Cuando usted endulza sus alimentos con miel, le añade otra dimensión a su comida, otro sabor, que complementa al de otros alimentos.(7)

Los alimentos han sido susceptibles de adulteración en mayor o menor proporción desde épocas muy primitivas, los primeros casos de falsificación registrados en la Gran Bretaña datan de la edad media cuando se inicio el comercio organizado. En 1855 Wakley denunció en el periódico inglés The Lancet, diversos fraudes alimenticios, esta protesta origino que de 1860 a 1875 se redactaran y aprobaran los documentos que legislaran la calidad y venta de alimentos. Dichos reglamentos han perdurado con el tiempo, como lo demuestran los decretos autorizados por la FAO, OMS en 1928, 1938 y 1955. (7)

Las mieles son caracterizadas y evaluadas mediante los análisis físico-químicos y los análisis organolépticos/melisopalínológicos. Exigiendo mediciones objetivas, reproducibles y analíticas, más aún si la información puede ser subjetiva y a veces incierta, como son los caracteres organolépticos. Con la finalidad de poder comparar la calidad de la miel debemos utilizar una técnica de calificación basada en la valoración del conjunto de sus caracteres, que permite apreciar la diferencia o similitud entre las mieles, clasificarlas en un orden superior o inferior en cuanto a calidad, apreciar si satisface las características genuinas del producto, si ha sido racionalmente procesada y/o conservada y conocer las preferencias del consumidor en un mercado determinado.(9)

En la actualidad existen varias normas de calidad para la miel, todas basadas en la Norma Regional Europea, y adaptadas a las condiciones nacionales, por tal motivo

el objetivo de este trabajo es hacer una recopilación de normas en miel y así conocer los métodos de pruebas y especificaciones de las mismas.

DESARROLLO.

2.0 Extracción y toma de muestras

2.1 Extracción- La miel de abeja podrá se extraída del panal, debiéndose controlar la temperatura de manera que no exceda de 45°C, por cualquiera de los siguientes procedimientos mecánicos : (1)

A- sedimentación

B- Filtración sin ayuda- filtro.

C- Combinación de ambos.

2.2 Toma de muestra

La miel de abeja se podrá presentar al comercio en panal, líquida, en pasta y cristalizada; pero deberá conservar sus características de color, olor y sabor suigéneris que varía con el lugar de origen y época de recolección. Se admite en esta norma que las diferentes formas comerciales de la miel de abeja no son características de calidad.(1)

2.2.1. Miel líquida o colada.

Si la muestra está libre de gránulos, mezclar perfectamente, removiendo o agitando; si tiene gránulos, meter el envase cerrado en baño María, sin sumergirlo, y calentar durante 30 minutos a 60°C que la miel se licúe, es esencial agitar de vez en cuando.

Tan pronto como la muestra se licúe, mezclar perfectamente y enfriar rápidamente. Cuando se requiera determinar hidroximetilfurfural, no se debe calentar la miel.(1,2,3,4)

Si está presente alguna sustancia extraña como cera , palillos, abejas, partículas de panal, etc., calentar la muestra en baño María hasta 40°C (313°K) y filtrarla a través de una estopilla colocada en un embudo con circulación de agua caliente, antes de tomar la muestra.(1,2,3,4)

2.2.2 Miel en panal

Cortar la parte superior del panal, si está operculado y separar completamente la miel del panal filtrándola por un tamiz, cuya malla tenga un reticulado cuadrado de 0.500mm por 0.500mm. Si algunas porciones del panal o de cera pasan a través del tamiz, calentar la muestra como se indica en el punto 2.1.1 y filtrar a través de una estopilla. Si la miel en el panal está granulada, calentar hasta que la cera se licúe, remover, enfriar y separar la cera. (1,2,3,4)

3. Clasificación y especificaciones.

3.1 Clasificación -

Para los efectos de esta norma, la miel de abeja comprenderá dos tipos con un sólo grado de calidad cada uno: A de primera calidad y B de segunda.(1)

Solamente para fines comerciales, se establece la siguiente escala de colores, pues éste no tiene influencia en la calidad de la miel.(1)

Denominación	Colorimetro de Pfund	Colorimetro Lovibond 2000
Blanco agua	0.00 a 0.80	<30
Blanco extra	0.81 a 1.70	30 a 40
Blanco	1.71 a 3.40	41 a 60
Ámbar extra claro.	3.41 a 5.00	61 a 90
Ámbar claro.	5.01 a 8.50	91 a 200
Ambar.	8.51 a 11.40	201 a 500
Obscuro.	11.41 a 14.00	501 a 850

(9)

El color es una propiedad óptica de la miel, resultado de los diferentes grados de absorción de la luz de diferentes longitudes de onda por parte de los constituyentes de la miel.(10)

Para determinarlo se utiliza sólo la miel líquida, sin cristales. La cristalización trae como consecuencia un aclarado del matiz. En la mayoría de los países se suele usar el llamado graduador de color Pfund, desarrollado en Estados Unidos (Sechrist, 1925). (10)

El aparato se compone de un recipiente de forma cuneiforme que se rellena con miel. Utilizando un mecanismo de rodillo, se empuja esta cubeta cuneiforme ante una ventana de observación. La medida del desplazamiento se lee en milímetros.(10)

En la ventana de observación se compara el color de la miel con el de un vidrio de tono marrón. Se desplaza la cubeta hasta que el color del vidrio de comparación y el de la miel concuerden entre sí.(10)

3.2 Especificaciones.-

A-La miel se presentara limpia y en el caso que sea liquida, estará libre de sólidos visibles a simple vista, no será turbia ni estará presente señales de fermentación.- El sabor y olor serán los naturales del producto.(1)

B- La miel a la temperatura de 55°C deberá pasar íntegramente a través del tamiz de 23 mallas.

C-Color según la escala Lovibond:

Color máximo para mieles de abeja.

Se consideran:	Máximo.
1- Extra claras	17.6
2- Ámbar claro	20.8
3- Ámbar	25.0
4-Obscuras más de	25.0

Se tolera un 5% de diferencia del color indicado como margen de seguridad, si es que la miel ya clasificada cambia de color. (1)

D-Olor , Propio característico

E- Sabor, dulce característico. La miel de abeja no debe tener ningún sabor o aroma desagradable, absorbidos de materias extrañas durante su extracción, sedimentación, filtración y/o almacenamiento, ni síntomas de fermentación.(5)

De acuerdo a la Norma Regional Europea las especificaciones para la miel de origen floral son :

Humedad, no más del 21%

Solidos insolubles en agua, no más de (0.1 %) ó (0.5%).

Sacarosa aparente, no más del 5%.

Cenizas (sales minerales), no más del 0.6%

Acidez total, no mas de 40 miliequivalentes de ácido/kg.

Índice de diastasa (escala de Gothe), no menos de 8.

HMF, no mayor de 40 mg/kg.

Mieles derivadas de floraciones de cítricos.

Diastasa, no menos de 3.

HMF , no mayor de 15 mg/ kg

(6)

Composición promedio de la miel de abeja mexicana.

Componente	Contenido en 100g de muestra/base húmeda
Húmedad	21.0
Proteína	2.0
Azúcar invertida (fructosa y glucosa)	73.0
Sacarosa	1.4
Dextrinas	1.5
Acidez (como fórmico)	0.2
Acidez libre	0.4
Cenizas	0.3
Lactona (glucolactona)	0.2

4.0 Propiedades Organolépticas

El conjunto de sensaciones que una miel produce a su catador, pueden ser separadas en cuatro grupos: visuales, olfativas, gustativas y táctiles.(9)

4.1. Características visuales:(9)

Configuran la apariencia de una miel Los principales aspectos a considerar son:

Limpieza, la muestra no debe contener trozos de cera, restos vegetales, insectos. El envase debe estar limpio y no totalmente lleno, para evitar desbordamientos y consecuentemente suciedad.

Nitidez, la muestra debe estar líquida o cristalizada, sin estados intermedios.

Fluidez, la miel es un producto fuertemente viscoso y esta es la fluidez que debe presentar en estado líquido. Las mieles cristalizadas presentan menor fluidez, que puede ser nula para algunas muestras

La fluidez aumenta con el contenido de humedad, evitando porcentajes superiores al 19%

Color, internacionalmente se aceptan denominaciones de colores, que se corresponden a las mediciones realizadas con distintos colorímetros.

Las mieles monoflorales no tienen limitación de color, si bien se suele considerar mejor, a igualdad del resto de las condiciones, a las más claras.

Homogeneidad, las mieles deben ser homogéneas, no presentando decantaciones ni sobrenadantes. En las mieles cristalizadas no deberán aparecer estratos de color o tonalidad diferente al predominante en la masa de miel.

Cristalización, es un fenómeno natural que ocurre en la mayoría de las mieles(Serra, 1986) y que provoca la pérdida de su aspecto líquido por la aparición de cristales de azúcares

El tamaño de los cristales deberán presentar cohesión en su estructura cristalina. A igualdad se considera mejor la miel que tiene el cristal mas fino.

4.2. Características olfativas:(9)

Son las apreciadas por vía nasal directa, respirando sucesivas veces lentamente y a distintas velocidades para apreciar los olores más intensos y los secundarios.

Las mieles monoflorales deben tener un olor característico(ACCORlet al.,1986). Las mieles multiflorales el genuino del producto, que puede ser más o menos intenso. A igualdad se considera mejor la miel más olorosa. Bajo ningún concepto deberá existir en la miel olores ajenos al producto, provenientes generalmente del producto en el almacenado o de un manejo defectuoso en el procesado térmico(caramelización).

4.3. Características gustativas:(9)

Acido, se aprecia en la parte media anterior de la lengua. En la miel no tiene una valoración precisa, salvo si está fermentada.

Amargo, como el del café. Se aprecia en la parte posterior de la lengua. Algunas mieles monoflorales (casataño, brezo, madroño, etc) tiene un gusto secundario amargo.

Dulce, como el de los azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa). se aprecia en la punta de la lengua. Si bien es el gusto dominante en la miel, existe variaciones de una miel a otra, en función de su contenido en distintos azúcares, ya que algunos tienen un poder edulcorante más alto que otros y en función de los sabores secundarios debido al contenido en sales minerales, a los aromas percibidos por vía retronasal, a la existencia de sabores amargos de algunas mieles, etc.

Salado, como el de la sal común. Se aprecia en la parte media posterior de la lengua. Sólo aparece en algunas mieles fuertemente mineralizadas.

4.4 Características táctiles: (9)

Son las apreciadas por el sentido del tacto, bien tomando una pizca de mieles entre los dedos y frotando éstos, o mejor depositando una pizca de miel en la parte delantera de la lengua y frotando ésta contra el paladar

Las sensaciones táctiles sólo tienen validez en las mieles cristalizadas y conducen a una apreciación del tamaño de los cristales; si éstos no son detectables se le llama miel crema o cremosa.

Como se indicó anteriormente a igualdad de condiciones, se considera mejor la miel de cristal más fino.

La deglución de una miel y su calificación en un análisis organoléptico, puede quedar influenciado por una serie de factores externos que modifiquen los resultados.

Para obtener resultados objetivos, minimizando la influencia de estos factores externos, debe prepararse el ambiente de degustación y al hecho de la degustación.

4.5 Factor Humano:(9)

El degustador debe tener una serie de condiciones positivas, además:

Información sobre la miel y composición de la misma.

Información de la anatomía, fisiología y psicología de los órganos sensoriales y los procesos de la sensación.

Metodología de la degustación, con un vocabulario claro y definitorio.

Aprentizaje y entrenamiento en la degustación de mieles.

Además el degustador no debe tener hábitos o un estado fisiológico que incida negativamente en el proceso de la degustación, como son: no debe fumar, ni ir perfumado, ni utilizar dentríficos fuertes, no debe padecer afecciones respiratorias, buen estado higiénico, no debe analizar más de 15 a 20 muestras por sesión, que realizará preferentemente entre las 10 y las 12h del día.

Ambiente de la degustación:

Convenientemente isonorizado.

Sin olores parásitos de cocina, laboratorio, pintura, etc., que puedan enmascarar los presentes en las muestras.

Temperatura agradable, la mejor es alrededor de los 20°C; otras temperaturas disminuyen la sensibilidad olfativa.

Correcta iluminación, luz del día o incandescente. La luz fluorescente modifica los colores.

Ausencias de reflejos en las paredes, mesas, sillas, etc. Para evitarlos el material debe ser de color pastel o neutros.

Cabinas de confort conveniente, que permitan un juzgamiento individual de las muestras y eviten que los catadores se influyeran entre sí.

4.6 Degustación: (9)

La degustación debe realizarse siguiendo una metodología, utilizando material anónimo y neutro, para evitar influencias subjetivas y enmascaramiento de sensaciones.

Para realizar una buena degustación recomendamos seguir las siguientes instrucciones:

Depositar en una copa de cristal con pie y boca ancha unos 30 a 40g de miel.

Apreciar su aspecto, a través de las anotaciones oportunas en función de las sensaciones visuales que produzca la miel.

Olfatear la muestra, agitando la miel y respirando lentamente, varias veces, a distintas velocidades y a sacudidas, para poder detectar los olores secundarios, que de otra forma quedarían sin detectar; hacer las anotaciones oportunas sobre las sensaciones olfativas así apreciadas.

Tomar una porción de miel con una espátula o cucharadita de plástico, diluirla sobre la lengua con saliva y proyectarla hacia el fondo de la cavidad bucal, para apreciar los aromas por vía retronasal. Efectuar las anotaciones que procedan sobre las sensaciones gustativas percibidas.

Presionando con la lengua una porción de miel contra el paladar, apreciar las sensaciones táctiles y efectuar el registro correspondiente.

Degustar cada muestra dos veces, con una pausa entre cada vez. Cada tres o cuatro muestras mascar un trozo de manzana jugosa y ligeramente ácida si es posible, para regenerar la capacidad sensorial de la boca.

4.7. Ficha de valoración organoléptica de la miel.(9)

Muestra N° _____ líquida, transparente _____
 Tipo opaca _____
 cristalizada _____

Características	Puntuación		Total
	Parcial	Coficiente	
Aspecto:Fluidez (viscosidad,humedad,etc) _____		3	_____
Color _____		6	_____
Olor (intensidad, calidad) _____		7	_____
Gusto(intensidad, calidad, persistencia) _____		15	_____
Tacto(tamaño cristales, cremosidad) _____		2	_____
Total puntos: _____			_____

Observaciones:

Aspecto: sucia, con restos vegetales, de insectos, de cera; envase excesivamente lleno, pringoso;separación de fases líquida y cristalizada;fluidez excesiva; no homogénea,con marmolizaciones,espuma sobrenadante, otros _____

Olor: desagradable,fermentada,caramelo,otros _____

Gusto: desagradable;fermentada;caramelo;otros _____

Tacto _____

Subrayar las cualidades que se han percibido, o añadir las si no están ya mencionadas.

Degustador _____ Fecha _____ Firma _____

(Apiacta)

MÉTODOS DE PRUEBA

5.0. Determinación del contenido de humedad.

La determinación de humedad es uno de los más importantes procedimientos de investigación y puede realizarse de modo directo o indirecto. El método directo más sencillo consiste en el desecamiento de la miel y en la posterior comparación entre el peso de la misma, antes y después de desecada, los procedimientos de secado son lentos e insumen mucho trabajo por lo que se los usa casi exclusivamente cuando se desea obtener valores de comparación con resultados obtenidos por procedimientos indirectos. (10)

El contenido de agua de la miel se halla en relación con otras propiedades, por ejemplo con el peso específico, el índice de refracción. Dado que las propiedades mencionadas pueden medirse con menor gasto de tiempo y trabajo que las requeridas para la determinación directa del agua, se las ha utilizado en mayor medida para la determinación del contenido de agua en la miel. (10)

5.1. Principio del método: (2,3,4)

Se basa en el método refractométrico de Chataway (1932) revisado por Wedmore (1955)

5.1. Aparato: (2,3,4)

Refractómetro de Abbe.

5.1.2. La miel se prepara para la toma de muestra como se indica anteriormente. (2,3,4)

5.1.3.Procedimiento.(2,3,4)

Determinar el índice de refracción de la muestra utilizando el refractómetro de Abbe a temperatura 20 °c (293°k). Obtener el porcentaje correspondiente de humedad utilizando la tabla Núm.1. Si la determinación se hace a una temperatura diferente de 20 °c(293°k), corregir la lectura a la temperatura patrón de 20 °c (293°k), de acuerdo a las siguientes correcciones (2,3,4):

Para temperaturas superiores a 20 °c(292 °k), sumar 0.00023 por cada °c(k) .

Para temperaturas inferiores a 20 °c (293° k), restar 0.00023 por cada °c (k).

CONSULTAR Tabla 1.

6 0. Determinación de glucosa y sacarosa.(2,3,4)

6.1. Método de glucosa-oxidasa (2,3,4)

6.1.1.1 Principio del método.

La glucosa-oxidasa por ser una enzima es un reactivo específico para la determinación de glucosa (ocurren cambios característicos en sus espectros de absorción), las enzimas actúan específicamente con un sustrato; el control de ph con Buffer nos asegura la inactivación de las otras enzimas que pudieran estar como contaminantes y se determina espectro-fotométricamente por los cambios característicos que ocurren en su espectro de absorción y la formación del color. (2)

Tabla 1

ÍNDICE DE REFRACCIÓN	CONTENIDO DE HUMEDAD	ÍNDICE DE REFRACCIÓN	CONTENIDO DE HUMEDAD	ÍNDICE DE REFRACCIÓN	CONTENIDO DE HUMEDAD
20 oC	(%)	20 oC	(%)	20 oC	(%)
293 K		293 K		293 K	
1.5044	13.0	1.435	17.2	1.4830	21.4
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4825	21.6
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4820	21.8
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4815	22.0
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4810	22.2
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4805	22.4
1.5012	14.2	1.4905	18.4	1.4800	22.6
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4795	22.8
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1.4790	23.0
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4785	23.2
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4780	23.4
1.4987	15.2	1.4880	19.4	1.4775	23.6
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4770	23.8
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4765	24.0
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4760	24.2
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4755	24.4
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4750	24.6
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4745	24.8
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4740	25.0
1.4946	16.8	1.4840	21.0		
1.4946	17.0	1.4835	21.2		

La enzima glucosa oxidasa a un pH determinado actúa sobre la glucosa oxidasa con formación de ácido glucurónico y peróxido de hidrógeno, éste por acción de la peroxidasa deja libre oxígeno activo que se hace reaccionar con la o-toluidina formando un complejo colorido que absorbe en la región visible a 530 nm.

6.1.2. Reactivos (2,3,4)

Glucosa oxidasa: Tipo II, purificada de 15 000- 20 000 U/g Sigma Chemical Co. G-6125 o equivalente.

-Peroxidasa : Tipo I P 8125

-Diclorhidrato de o-toluidina .

-Solución de glucosa oxidasa-peroxidasa. En 200 cm³ de solución reguladora de pH 7.6, disolver 60 mg de glucosa oxidasa y 16 mg de peroxidasa. Agregar una solución de 135 mg de diclorhidrato de o-toluidina en 200 cm³ de agua destilada.

Guardar en refrigeración en frasco obscuro. De ser necesario, filtrar antes de usar. Esta solución es estable durante 6 semanas

-Solución reguladora tris pH 7.6 .Disolver 48.44g de tris (hidroximetil)amino metano en 500 cm³ de agua destilada, añadir 38.4 cm³ de ácido clorhídrico 0.8 M; ajustar el pH a 7.6 si es necesario y llevar a un litro con agua destilada.

-Ácido clorhídrico 4 N

En 200cm³ de agua destilada agregar 333.3 cm³ de HCl concentrado (densidad igual a 1.19g/cm³, pureza igual a 37.2 %) moviendo constantemente y aforar a un litro con agua destilada.

-Ácido clorhídrico 6N

En 200 cm.³ de agua destilada agregar 500cm³ de HCl concentrado moviendo constantemente y llevar a un litro con agua destilada.

-Ácido clorhídrico 0.8 N

En 200 cm³ de agua destilada agregar 66.67 cm³ de HCl concentrado moviendo constantemente y aforar a un litro con agua destilada.

-Hidróxido de sodio 5N

Disolver en 500 cm³ de agua destilada 200 g NaOH y llevar a un litro con agua destilada.

-Solución patrón de glucosa 0.1 mg/cm³. En un matraz volumétrico de 250 cm³ disolver 25 mg. de glucosa con 25 cm³ de agua. Hervir durante 2 minutos y llevar al volumen con agua.

-Indicador de fenofaleina 0.1%

En 50cm³ de etanol disolver 0.1 g de fenofaleina y llevar a 100 cm³ con etanol.

6.1.3 Aparato, Espectrofotómetro, que permita leer en un rango visible de 530nm.(2,3,4)

6.1.4 Procedimiento.(2,3,4)

Pesar un gramo de miel, disolver en agua destilada, transferir a un matraz volumétrico de 100 cm³ y completar el volumen con agua destilada. Diluir una alícuota de 5cm³ a 100cm³ en un matraz volumétrico. En cada uno de dos tubos de ensayo de 18 x 150 mm. pasar con pipeta 2 porciones de 2 cm³ de la muestra diluida.

En una gradilla poner un tubo con 2 cm³ de agua, seguido de un tubo conteniendo 2 cm³ de la solución patrón de glucosa, 2 tubos conteniendo la muestra diluida y otro tubo con 2 cm³ de solución patrón de glucosa. Repetir esta secuencia si se hacen más determinaciones. Agregar a cada tubo 5.0 cm³ del reactivo glucosa-oxidasa (llevado a temperatura ambiente) a intervalos apropiados dependiendo de la técnica de medición que se va a emplear (por ejemplo, de 30 -60 segundos con celdas de flujo continuo; para celdas normales serán necesarios tiempos más largos) comenzando con el tubo de agua que será el testigo de reactivos. Después de 60 minutos de la adición del reactivo, agregar al primer tubo 0.15 cm³ de ácido clorhídrico 4N, mezclar perfectamente con un agitador vortex. Continuar con la misma secuencia de tiempo en las otras soluciones. Ajustar el cero del instrumento con el tubo que contiene agua y determinar la absorbancia del contenido de cada tubo a 530 nm un minuto después de la adición del ácido, empleando celdas de 1cm de paso de luz.

Para determinar el % en peso de la glucosa. Se hará de acuerdo a la siguiente

fórmula:

$$gl = \frac{(\text{absorbancia de la muestra}) (\text{micro gramos del estándar})}{(\text{absorbancia estándar})}$$

gl = mg de glucosa antes de hidrólisis.

$$\% \text{ de glucosa} = \frac{(\text{mg. de glucosa antes de la hidrólisis}) (\text{factor de dilución})}{(\text{peso de la muestra})}$$

6.2. Determinación de Glucosa oxidasa en presencia de yoduro de potasio.(10)

El metodo antes descrito es difícil de llevar a cabo por lo que a continuación se describe otra forma:

La glucoxidasa actúa sobre la glucosa produciendo ácido glucónico, más peróxido de hidrógeno,este último en presencia de yoduro de potasio libera yodo, que con el almidon da una coloración azul.

En cambio en su ausencia ,al no producirse peróxido de hidrógeno no se libera el yodo, por lo tanto el almidón no se colorea de azul.

Reactivos:

1-Solución de yoduro de potasio al 1%, disolución 1g de yoduro de potasio p.a. y 100ml de agua destilada,se hace en frío.

2-Solución de almidón al 0.1%, poner .05g de Almidón soluble y 50ml de agua destilada c.s.p.,se pesa el almidón soluble en una balanza analítica, en un vaso de precipitado de 50ml, disolverlo en 10ml de agua destilada fría. Luego llevar a un volumen de 40ml con agua destilada caliente y someter al calentamiento, manteniendo en ebullición por tres minutos.Dejar enfriar espontáneamente y una vez frío pasar a un matraz aforado de 50ml y completar el volumen.Preparar una solución nueva días alternos.

3-Solución de ácido clorhidrico al 50%, en un matraz aforado de 50ml colocar 20ml de agua destilada, agregar 25ml de ácido clorhidrico lentamente, agitandolo:enfriar y completar a volumen.

4-Solución de glucosa al 8%, se disuelve 8g de glucosa p.a. en 20ml de agua destilada y se completa el volumen a 100ml.

5-Solución buffer fosfato pH6.5

Solución concentrada A- Se disuelven 27.6 g de fosfato monosódico $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en un litro de agua destilada (0.2M)

Solución concentrada B- Se disuelven 2839g de fosfato disódico anhidro Na_2HPO_4 , o bien 53.62g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en un litro de agua destilada (0.2M).

Mezclar 58.6ml de solución concentrada A con 31.5 ml con agua destilada.

Material necesario:

- 1-Balanza.
- 2-Baño María.
- 3-Tubos de ensayo.
- 4-Gradilla para tubos de ensayo.
- 5-Pipetas.
- 6-Vaso de precipitación.
- 7-Instrumental de laboratorio.

Preparación de la muestra:

En un vaso de precipitado de 50ml pesar 1200g de la muestra, agregarle 1ml de buffer ph 6.5 y disolver sin calentar, con varilla de vidrio.

Luego agregar 9ml de agua destilada, mezclar, transvasar a un tubo de ensayo, e incubar por 30 minutos en baño María a 37°C.

Procedimientos:

A) Colocar en una gradilla 5 tubos de ensayo y agregar a cada uno agua destilada en la porción siguiente:

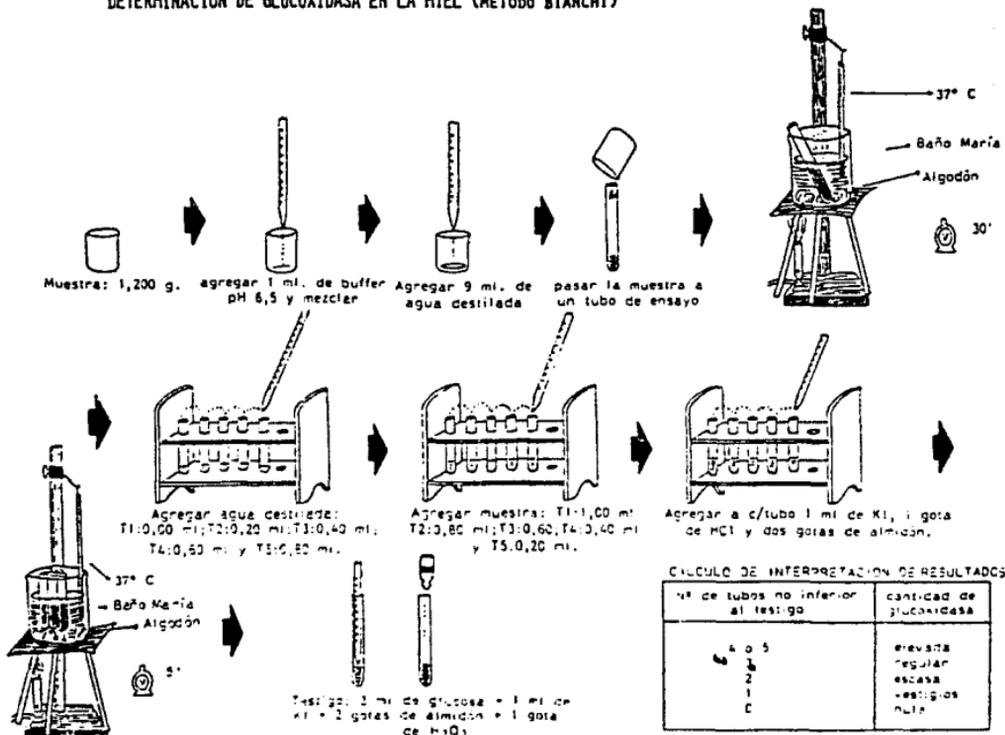
- 1 tubo 0.00 ml de agua destilada
- 2 tubo 0.20ml de agua destilada.
- 3 tubo 0.40 ml de agua destilada.
- 4 tubo 0.60 ml de agua destilada.
- 5 tubo 0.80 ml de agua destilada.

B) Agregar luego las cantidades de la muestra siguientes:

- 1 tubo 1.00ml de muestra.
- 2 tubo 0.80ml de muestra.
- 3 tubo 0.60ml de muestra.
- 4 tubo 0.40ml de muestra.
- 5 tubo 0.20ml de muestra.

C) Colocar 1 ml de yoduro de potasio al 1% en cada tubo.

DETERMINACION DE GLUCOXIDASA EN LA MIEL (METODO BIANCHI)



D) Luego agregar una gota de ácido clorhídrico al 50% y dos gotas de solución de almidón al 0.100%.

E) Incubar 5 minutos en baño Maaria a 37°C y retirar.

Calculo y expresion de los resultados:

Comparar de inmediato los tubos problemas con el testigo, cuya coloración no debera ser inferior a éste.

Preparación del testigo:

Solución de glucosa al 8% _____ 3ml.
 Yoduro de potasio al 1% _____ 1ml.
 Solución de almidón al 0.100% _____ 2 gotas.
 Agua oxigenada al 3% _____ 1 gota.

EL testigo es estable por 10 minutos.

Nº de tubos no inferior al testigo.	Cantidad de glucosa.
4 o 5	elevada.
3	regular.
2	escasa.
1	vestigios.
0	nula.

Valor normal: no menos de la cantidad regular.

Interpretación: cantidades menores de regular cantidad, corresponden a una miel vieja, calentada, mal procesada o adulterada.

Existen mieles con bajo contenido natural de glucoxidasa, por contener sustancias que desconponen el peróxido de hidrogeno que se ha formado.

7 0. Hidrólisis (para obtención de sacarosa):(2,3,4)

En un matraz de 50cm³ poner 25 cm³ de la solución de miel, agregar 5cm³ de ácido clorhídrico 6N y poner en baño Maria a 60 oC (333 K) por 17 minutos, enfriar la solución a temperatura ambiente y neutralizar con hidróxido de sodio 5N y ácido clorhídrico 0.8 N, utilizando fenoftaleina como indicador.

La determinación se efectúa en la misma forma que para glucosa, utilizando 3 tubos para la muestra y 2 para el estándar.

Para determinar el % en peso de sacarosa se hará de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$gdh = \frac{\text{(absorbancia de la muestra después de la hidrólisis)} \times \text{(micro gramos del estándar)}}{\text{(absorbancia del estándar)}}$$

gdh = miligramos de glucosa después de la hidrólisis

$$\% \text{ de sacarosa} = \frac{\text{(gdh - gl)} \times \text{(factor de dilución)}}{\text{(peso de la muestra)}}$$

gdh = miligramos de glucosa después de la hidrólisis

gl = mg de glucosa antes de hidrólisis.

8.0. Separación de azúcares por cromatografía en columna:(2,3,4)

8.1 Principio:(2,3,4)

La muestra es adsorbida en columna de carbón, seguida de la elución de monosacáridos, disacáridos y polisacáridos, eliminando las interferencias de los disacáridos en la determinación de glucosa y fructosa.

La elución se lleva a cabo con concentraciones cada vez mayores del alcohol, seguido por la determinación individual de los monosacáridos, la sacarosa y los disacáridos reductores colectivamente como maltosa después de la hidrólisis

8.2 Preparación y estandarización de la columna de adsorción:(2,3,4)

Se utilizan columnas de 22mm de diámetro exterior y 370 mm. de largo con una sección esférica de un litro y tapón de vidrio del No. 35/20 con unión esférica en la parte superior.

El absorbente es una mezcla 1 +1 de carbón Darco G-60 y filtro ayuda (celite 545 o Dicalite 4200). En la parte baja de la columna insertar un tapón de lana de vidrio y agregar suficiente absorbente seco al tubo seco (aproximadamente de 23-26 cm.), aplicar vacío para comprimir hasta 17 cm. Separar el exceso de carbón de las paredes del tubo y agregar una capa de filtro ayuda en la parte superior con empaçado suave (1-1.5cm). Lavar la columna con 500cm³ de agua destilada y 250 cm³ de alcohol al 50% y dejar reposar toda la noche con el alcohol al 50% sobre ella. El gasto debe ser de 5.5-8 0cm³/minuto con agua bajo una presión de 0.6327 kg./cm. Una velocidad menor de flujo retrasa excesivamente el análisis.

El contenido de alcohol de las soluciones eluyentes debe ajustarse de acuerdo al poder retentivo del carbón utilizado. Lavar la columna con 250cm³ de agua libre de alcohol, cuantitativamente agregar 10cm³ de una solución de 1.000g de glucosa anhidra en la parte superior y arrastrar en la columna con succión (sin dejar secar la columna). Agregar 300cm³ de agua e interrumpir la succión, aplicar una presión máxima de 0.703 kg./cm² y coleccionar 5 fracciones de lavado de 50 cm³ en vaso de precipitado tarado. Incluir los 10cm³ de la muestra introducida en la primera fracción de 50 cm³. Evaporar las fracciones en baño de vapor, secar a 353K-373K(80 oC-100oC), en horno con vacío y pesar.

Decantar el agua sobrante de la parte superior de la columna ,pasar 50cm³ de alcohol al 50% y después 250cm³ de agua a través de la columna y repetir la cromatografía ,utilizando una solución de 1.000g de glucosa anhidra en10cm³ de alcohol al 1%, lavando con 250 cm³ de alcohol al 1% como se indicó anteriormente.

Seleccionar como disolvente 1, aquel que eluya la glucosa en 150cm³. Si fuera necesario, repetir la cromatografía con alcohol al 2%.

Lavar la columna con 250cm³ de agua y después con 20 cm³ de alcohol al 5%. Agregar en la parte superior 10cm³ de una solución que contenga 100mg de maltosa y 100mg de sacarosa en alcohol al 5%. Eluir con 250 cm³ de alcohol al 5% como se describió anteriormente, pesando el evaporado de 50cm³ de filtrado. Si es necesario, repetir con alcohol al 7,8 y 9%.El disolvente 2, será aquel que eluya aproximadamente el 98% de disacáridos en 200cm³. El disolvente 1, previamente seleccionado no debe eluir los disacáridos.

Las combinaciones más satisfactorias encontradas con diferentes carbones fueron (1%-7%; 2%-8% y 2%-9%) .Para terminar, pasar 100cm³ de alcohol al 50% a través de la columna y guardar con una capa de este disolvente.

8.3 Preparación de las fracciones:(2,3,4)

Lavar la columna con 250cm³ de agua y decantar cualquier sobrenadante.Pasar 20cm³ de disolvente 1 a través de la columna y desechar. En un vaso de 50cm³ disolver un gramo de muestra con 10cm³ de disolvente 1. Pasar la muestra (utilizando un embudo de tallo largo) por la columna y forzarla a través de ella. Lavar el vaso y el embudo con 15cm³ de disolvente 1 y agregarlos a la columna).

En un matraz volumétrico de 250cm³ colectar todo el eluato empezando con la introducción de la muestra. Agregar 250cm³ de disolvente 1 y recolectar exactamente 250cm³ en total (fracción 1, monosacáridos).

Decantar el exceso de disolvente de la parte superior,agregar 265-270cm³ de disolvente 2 y recolectar 250cm³ en un matraz volumétrico (fracción 2,disacáridos), decantar el exceso,agregar 110cm³ de alcohol al 50% (disolvente 3) y recolectar 100cm³ en matra volumétrico(fracción 3, azúcares superiores), Mezclar perfectamente cada fracción .La columna puede guardarse por tiempo indefinido bajo alcohol al 50%. Desechar la columna después de 8 determinaciones.Una vez obtenidos los tres niveles de azúcares, cada fracción de azúcar se analiza de acuerdo a las siguientes técnicas.

8.4 Glucosa (Fracción 1 Monosacaridos):(2,3,4)

8.4.1. Reactivos:(2,3,4)

Solución de tiosulfato de sodio 0.05 N. Prepararse a partir de una solución patrón valorada 0 1N.

Solución de almidón .Amasar 2.5 g de almidón soluble y aproximadamente 10mg de yoduro mercúrico en un poco de agua, disolver en aproximadamente 500cm³ de agua hirviendo.

8.4.2 Procedimiento:(2,3,4)

Pasar con una pipeta por duplicado 20 cm³ de la fracción uno en matraces Erlenmeyer de 250 cm³. Evaporar a sequedad en baño de vapor y corriente de aire.

Agregar 20cm³ de agua, 20cm³ de solución de yodo 0.05 N y lentamente agregar 25cm³ de hidróxido de sodio 0.1 N en 30 segundos. Inmediatamente poner los matraces en un baño de agua a 291 +/- 0.1 K (18 +/- 0.1 o C). Exactamente 10 minutos después de la adición del álcali , agregar 5 cm³ de ácido sulfúrico 2 N , quitar del baño y titular con tiosulfato de sodio 0.05 N, usando solución de almidón como indicador.

Hacer testigos por duplicado utilizando agua. Restar el gasto de titulación del problema del de testigo y calcular glucosa.

$$\% \text{ glucosa} = \text{gasto} - (0.01215 \times \text{F.C.}) \times 100/\text{mg. de muestra}$$

En donde F.C. = corrección de fructosa de la determinación de fructosa.

La ecuación es válida para un rango de 10-15mg de glucosa en 200cm³. En presencia de glucosa, 1 mg. de fructosa requiere 0.01215 cm³ de tiosulfato de sodio 0.05 N para contenidos de fructosa de 15-60 mg.

8.5.Fructosa (fracción 2 disacáridos):(2,3,4)

8.5.1 Reactivos:(2,3,4)

Solución de yodo 0.05 N disolver 13.5mg de yodo puro en una solución de 24 g de yoduro de potasio en 200 cm³ de agua, llevar a dos litros con agua. No estandarizar.

Solución verde de bromocresol. Disolver 150 mg. de verde de bromocresol en 100 cm³ de agua.

Solución de sulfito de sodio al 1% . Disolver un g de sulfito de sodio en 100 cm³ de agua. Prepararla diariamente.

8.5.2 Procedimientos:(2,3,4)

Dentro de un matraz volumétrico de 200 cm³ pasar con pipeta una alícuota de 20 cm³ de la fracción 1. Agregar con pipeta 40 cm³ de solución de yodo 0.05 N , agitando vigorosamente , agregar 25 cm³ de hidróxido de sodio 0.1N en 30 segundos e inmediatamente poner el matraz en baño de agua a $291 \pm 0.1^{\circ}\text{K}$ ($18 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$). Exactamente 10 minutos después de la adición del álcali, agregar 5 cm³ de ácido sulfúrico 1 N y quitar del baño. Neutralizar exactamente el yodo con solución de sulfito de sodio, utilizando 2 gotas de solución de almidón como indicador cerca del punto final; si es necesario , titular por retroceso con solución de yodo, agregar 5 gotas de verde de bromocresol y neutralizar exactamente con hidróxido de sodio 1N, después acidificar al primer cambio del indicador.

Diluir al volumen y en alicuota de 5 cm³ determinar el valor reductor por el método de Shaffer- Somogyi (ver punto 8.6). Hacer por duplicado dos determinaciones y los blancos.

Para calcular la fructosa restar los cm³ gastados en la titulación de la muestras de gastos para el testigo.

% de fructosa = $500 ((\text{gasto} \times 0.1150) + 0.0915) \times 100/\text{mg. de muestra.}$

corrección de fructosa para la determinación de glucosa = F.C.

$$F. C. = ((\text{gasto} \times 0.1150) + 0.915) \times 40.$$

La cantidad encerrada en el paréntesis corchete son mg. de fructosa en una alicuota de 5 cm³, válida entre 0.5 y 1.75 mg. de fructosa.

8.6 Método de Shaffer - Somogyi.(2,3,4)

8.6.1 Reactivos:(2,3,4)

Reactivo Shaffer - Somogyi

En un vaso de 2 litros disolver con aproximadamente 500 cm³ de agua, 25g de carbonato de sodio anhidro y 25 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado (sal de Rochelle), agregar con agitación a través de un embudo con la punta bajo la superficie 7.5 cm³ de solución de 100g de sulfato cúprico pentahidrato por litro. Agregar 20g de bicarbonato de sodio, disolver y agregar 5 gramos de yoduro de potasio, pasar la solución a un matraz volumétrico de un litro.

Agregar 250 cm³ de yodato de potasio 0.1 N(3.567 g/l),diluir al volumen y filtrar a través de lana de vidrio. Dejarlo toda la noche antes de usar. Dejar que repose durante una noche .

Solución de yodo-oxalato. Disolver 2.5 g de yoduro de potasio y 2.5 g de oxalato de potasio en agua y llevar a 100 cm³. Preparar cada semana.

Solución estándar de tiosulfato 0.005 N. Prepararse a partir de una solución patrón escandalizada 0.1 N,diariamente.

Indicador de almidón.Amasar 2.5 g de almidón soluble y aproximadamente 10 mg. de yoduro de mercurio en poco de agua. Disolver en aproximadamente 500cm³ de agua hirviendo.

8.6.2 Procedimiento:(2,3,4)

En un tubo de ensaye de 25x 200mm pasar con pipeta una alícuota de 5cm³ de solución que contenga 0.5-2.5 mg. de glucosa, agregar 5cm³ del reactivo de Shaffer-Soomogyi y mezclar bien por agitación .Preparar un testigo usando 5cm³ de agua y 5 cm³ de reactivos. Colocar los tubos tapados con un bulbo o embudo en baño de agua en ebullición durante 15 minutos, retirar cuidadosamente los tubos y sin agitar pasarlos a un baño de agua fría por 4 minutos, retirar los tapones y agregar resbalando por las paredes de cada tubo 2cm³ de la solución de yodo-oxalato y después 3 cm³ de ácido sulfúrico 2 N (56ml/lit.) (no agitar las soluciones), mezclar hasta que todo el óxido cuproso se disuelva y dejar reposar en baño de agua fría 5 minutos, agitando 2 veces en ese tiempo. Titular con tiosulfato de sodio 0.005 N, usando almidón como indicador.

Restar los cm^3 gastados para titular la muestra de los cm^3 gastados para titular el testigo y calcular la cantidad de glucosa en 5 cm^3 de solución según la tabla Num. 2.

8.7 Sacarosa. (Fracción 3. disacáridos):(2,3,4)

A un matraz volumétrico de 50 cm^3 pasar con pipeta una alícuota de 25 cm^3 de la fracción 2 , agregar 5 cm^3 de ácido clorhídrico 6N y 5 cm^3 de agua, dejar reposar 17 minutos en baño de agua a 60°C (333°K) enfriar y neutralizar con hidróxido de sodio 5N ($103 \text{ g} / 500 \text{ cm}^3$), utilizando verde de bromocresol como indicador.

Ajustar al color ácido del indicador usando ácido sulfúrico 2N para corregir el excedente Diluir al volumen y en una alícuota de 5 cm^3 , determinar el valor reductor por el método de Shaffer-Somogyi (8.6). Restar la titulación del blanco y calcular la sacarosa por referencia a la curva construida de la tabla Num. 3

Tabla.

tiosulfato

de Na mg. de glucosa = (0.199)(cm3 de tiosulfato de sodio 0.005 N) + 0.048

0.005 N

Décimas de cm3 de tiosulfato . 0.005N

0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9

mg. de Dextrosa en 5 cm3 de solución

3	0.378	0.389	0.400	0.411	0.422	0.433	0.444	0.455	0.466	0.477
4	0.488	0.499	0.510	0.521	0.532	0.543	0.554	0.565	0.576	0.587
5	0.598	0.609	0.620	0.631	0.642	0.653	0.664	0.675	0.686	0.697
6	0.707	0.718	0.729	0.740	0.751	0.762	0.773	0.784	0.795	0.806
7	0.817	0.828	0.839	0.850	0.861	0.872	0.883	0.894	0.905	0.916
8	0.927	0.938	0.949	0.960	0.971	0.982	0.993	1.004	1.015	1.026
9	1.037	1.048	1.059	1.070	1.081	1.092	1.103	1.114	1.125	1.136
10	1.147	1.158	1.169	1.180	1.191	1.202	1.213	1.224	1.235	1.246
11	1.257	1.268	1.279	1.290	1.301	1.312	1.323	1.334	1.345	1.356
12	1.367	1.378	1.389	1.400	1.411	1.422	1.433	1.444	1.455	1.466
13	1.477	1.488	1.499	1.510	1.521	1.532	1.543	1.554	1.565	1.576
14	1.587	1.598	1.609	1.620	1.631	1.642	1.653	1.664	1.675	1.686
15	1.697	1.708	1.719	1.730	1.741	1.752	1.763	1.774	1.785	1.796
16	1.806	1.817	1.828	1.839	1.850	1.861	1.872	1.883	1.894	1.905
17	1.916	1.927	1.938	1.949	1.960	1.971	1.982	1.993	2.004	2.015
18	2.026	2.037	2.048	2.059	2.070	2.081	2.092	2.103	2.114	2.125
19	2.136	2.147	2.158	2.169	2.180	2.191	2.202	2.213	2.224	2.235
20	2.246	2.257	2.268	2.279	2.290	2.301	2.312	2.323	2.334	2.345
21	2.356	2.367	2.378	2.389	2.400	2.411	2.422	2.433	2.444	2.455
22	2.466	2.477	2.488	2.499	2.510	2.521	2.532	2.543	2.554	2.565

Hacer determinaciones control con cantidades conocidas de glucosa y aplicar las correcciones para cualquier desviación de los equivalentes tabulados.

Tabla Num. 3

mg. de sacarosa en alícuota de 5 cm ³	cm ³ de tiosulfato de sodio 0.005 N
Oxidasa	requeridos
0.225	1.75
0.502	3.95
1.004	8.72
1.260	11.28

9.0. Disacáridos reductores como maltosa. (fracción 3. azúcares superiores): (2,3,4)

9.1 Procedimiento: (2,3,4)

En un tubo de ensaye de 25x 200 mm. pasar con pipeta una alícuota de 5cm³ de la fracción 2 y determinar el valor reductor por el método de Shaffer- Somogyi, excepto que los tubos se hierven 30 minutos.

Se pueden usar 15 minutos para el blanco con agua.

Calcular el % de disacáridos reductores como maltosa.

% maltosa = $((\text{gasto} \times 0.2264) + 0.075) \times 100 / \text{mg. de muestra.}$

Corrección de maltosa para la determinación de sacarosa = M.C

M.C. = gasto de maltosa x 0.92

La cantidad encerrada en el paréntesis corchete son mg. de maltosa en una alícuota de 5 cm³, válido entre 0.15 y 3.80 mg. de maltosa. El valor reductor de la maltosa en 15 minutos es de 92% del valor final.

10.0. Azúcares superiores o dextrinas. (fracción 3):(10)

La adulteración de la miel por el agregado de glucosa comercial se pone en evidencia por la presencia de dextrinas con distintos métodos.

En la industria se obtiene la glucosa por hidrólisis del almidón por medio de ácidos. La transformación es la siguiente: Almidón-Dextrinas-Maltosa-Glucosa. Depende de la cantidad de los ácidos, su concentración y la cantidad empleada referida a la cantidad de almidón; también ejercen gran influencia la presión y la temperatura.

La hidrólisis es más rápida con los ácidos fuertes, cuando se usa mayor cantidad de ácido y mayor presión, pero se necesita más tiempo y más presión, porque así las sustancias que dan olor se volatilizan mejor y el jarabe tiene olor más parecido al azúcar.

El origen de su preparación fue buscar una materia prima barata como el almidón para poder usar en el lugar de la sacarosa. Actualmente no se puede competir con la sacarosa obtenida de la caña o remolacha, pero se la usa por las propiedades que le dan la

gran cantidad de dextrinas que contiene, que no permiten que cristalice ni fermente, lo cual le da una gran aplicación para dulces, confituras, etc.

Para que la glucosa posea estas propiedades, debe contener por lo menos un 25% de dextrinas. Si tiene cantidades menores, la glucosa tiende a cristalizar.

El agregado de glucosa comercial a la miel no sólo representa una razón de orden económico, sino también que la miel mantenga un aspecto transparente y no permitir su cristalización, gracias a las dextrinas.

10.1 Procedimiento:(2,3,4)

En un matraz volumétrico de 50cm³ pasar con pipeta una alícuota de 25 cm³ de la fracción 3, agregar 5cm³ de ácido clorhídrico 6N y 5 cm³ de agua, calentar 45 minutos en baño de agua hirviendo, enfriar, neutralizar como se indica para sacarosa, llevar al volumen y determinar el valor reductor por el método de Shaffer-Somogyi. Restar el gasto de la muestra del gasto del testigo y obtener el equivalente de glucosa de la curva construida de la Tabla Núm. 4.

Tabla Num. 4

mg. de glucosa	cm ³ gastados
0.05	0.020
0.10	0.60
0.25	1.85
0.50	4.00
1.00	8.50
2.00	17.60

% de azúcares superiores = 40 (glucosa equivalente) x 100/ mg. de muestra.

11.0. Determinación del contenido de azúcares reductores: (6)**11.1 Principio del método: (6)**

El método es una modificación del método Lane y Eynon (1923), que consiste en reducir la modificación de Soxhlet de la solución de Fehlig titulando, en punto de ebullición, con una solución de los azúcares reductores de la miel, utilizando azul de metileno como indicador interno. Para lograr la máxima exactitud en este tipo de determinación, es preciso que durante el proceso de normalización y en la determinación de los azúcares reductores de la miel, la reducción de la solución de Fehling se realice a volumen constante. Por tanto, es esencial proceder a una titulación preliminar para determinar el volumen de agua, que debe añadirse antes de realizar las determinaciones para cumplir con este requisito.

11.2. Reactivos: (6)**A) Modificación de Soxhler de la solución de Fehling.**

A.1- Disolver 69.28gr de sulfato cúprico pentahidrato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; pm=249.71) en agua destilada hasta obtener un litro de solución.

Conservar durante un día antes de proceder a la titulación.

A.2- Disolver 346gr de tartrato sódico-potásico ($\text{C}_4\text{H}_4 \text{KNO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; pm=282.23) y 100gr de hidróxido de sodio (NaOH) en agua destilada hasta obtener un litro. Filtrar con un filtro preparado de asbesto.

B-Solución patrón de azúcar invertido (acuosa, 10gr/litro)

Pesar exactamente 9.5gr de sacarosa pura, añadir 5ml de ácido clorhídrico (CCI puro al 36.5% p/p, aproximadamente) y disolver en agua hasta obtener unos 100ml; conservar esta solución acidificada durante varios días a temperatura ambiente (7 días aproximadamente, entre 12° y 15°, o 3 días entre 20° y 25°), y diluir después hasta obtener un litro.(N.B. El azúcar invertido acidificado al 1.0 por ciento permanece estable durante varios meses) Neutralizar un volumen apropiado de esta solución con hidróxido de sodio 1N (40gr/lit) inmediatamente antes de utilizar y diluir hasta obtener la concentración necesaria (2gr/lit) para la normalización.

C-Solución de azul de metileno.

Disolver 2gr en agua destilada y diluir hasta obtener 1lt.

D-Crema de alúmina.

Preparar una solución fría saturada de alumbre ($K_2SO_4 \cdot Al_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O$) en agua.

Añadir hidróxido amónico removiendo constantemente hasta obtener una solución alcalina que reaccione con tornasol, dejar que el precipitado sedimente y lavar por decantación con agua hasta que el agua procedente de los lavados, tratada con solución de cloruro de bario, muestre sólo ligeros indicios de sulfatos. Verter el agua sobrante y conservar la crema restante en una botella cerrada.

11.3. Procedimiento: (6)**Preparación de la muestra de ensayo-primer procedimiento.**

A-Tomar una muestra de 25gr pesados exactamente, de miel homogeneizada y colocarla en un matraz volumétrico de 100ml; añadir 5ml de crema de alúmina , diluir en agua a 20°C hasta volumen y filtrar.

B-Diluir 10ml de esta solución en agua destilada hasta obtener 500ml (solución diluida de miel)

o bien

Preparación de la muestra de ensayo-Segundo procedimiento.

A- Pesar cuidadosamente una cantidad representativa de unos 2gr de la muestra de miel homogeneizada, disolver en agua destilada y diluir en un matraz graduado hasta obtener 200ml de solución (solución de miel).

B-Diluir 50ml de la solución de miel en agua destilada hasta obtener 100ml(solución diluida de miel).

11.4. Normalización de la solución de Fehling modificada: (6)

Normalizar la solución A modificada de Fehling de forma que 5ml exactamente (transvasar con pipeta), mezclados con 5ml aproximadamente de la solución B de Fehling, reaccionen completamente con 0.050gr de azúcar invertido, añadido en forma de 25ml de solución diluida de azúcar invertido (2gr/lit)

11.5. Titulación preliminar: (6)

Al final de la titulación de reducción, el volumen total de los reactivos añadidos deberá ser de 35ml. Esto se consigue añadiendo el volumen adecuado de agua antes de comenzar la titulación. Puesto que en los criterios de composición de la norma para la miel se especifica que ésta debe contener más de un 60% de azúcares reductores (calculados como azúcar invertido), es necesaria una titulación preliminar para determinar el volumen de agua que será preciso añadir a una muestra dada para asegurar que la reducción se realice a volumen constante. Para calcular el volumen de agua, que es preciso añadir, se resta de 25ml el volumen de solución diluida de miel, que se ha consumido en la titulación preliminar.

Con una pipeta de 5ml de solución A de fuhling en un matraz Erlenmeyer de 250ml, y añadir aproximadamente 5ml de solución B de Fehling. Añadir 7ml de agua destilada, un poco de pómez en polvo, u otro regulador adecuado de la ebullición y echar, con una bureta unos 15ml de solución diluida de miel. Calentar la mezcla fría sobre una tela metálica hasta ebullición y mantener en ebullición moderada al 0.2% sin interrumpir la ebullición, completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de 3 minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color. Lo que hay que observar es el color del líquido que permanece en la parte superior. Tomar nota del volumen total de solución diluida de miel (x ml) que se ha utilizado.

11.6. Determinación: (6)

Calcular la cantidad de agua que es necesario añadir para que al final de la titulación, el volumen total de los reactivos sea de 35ml; para ello, restar de 25ml la titulación preliminar (x ml)

Verter con una pipeta 5ml de solución A de Fehling en un matraz Erlenmeyer de 250ml y añadir aproximadamente 5ml de solución B de Fehlig.

Añadir (25-x) ml de agua destilada , un poco de pómez en plover u otro regulador adecuado de la ebullición y de una bureta, todo el volumen, menos 1.5ml de solución diluida de miel determinada en la titulación preliminar. Calentar la mezcla fría sobre una tela metálica hasta ebullición y mantener en ebullición moderada durante 2 minutos. Añadir 1.0ml de solución de azul de metileno al 0.2% sin interrumpir la ebullición y completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de 3 minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color. Tomar nota del volumen total de solución diluida de miel (Y ml). La diferencia entre titulaciones duplicadas no deba ser superior a 0.1ml.

11.7. Cálculo y expresión de los resultados :(6)

2gr

C = -----

(P)(Y)

Donde ; C = gr de azúcar invertido por 100gr de miel (%)

P = peso de la muestra de miel utilizada.

Y = volumen de solución diluida de miel consumida durante la determinación (ml).

11.8. Notas sobre el procedimiento.(6)

Para la exactitud y reproductibilidad de la determinación, es esencial establecer para cada muestra individual cuál es el volumen de agua necesario para obtener un volumen total de mezcla reactiva de 35ml.

12.0 Determinación de acidez.(2,3,4)

La miel o soluciones neutralizadas tienden a la reversión de su acidez original. Esto, que ha sido observado por Osborn, origina una dificultad en la determinación de la acidez de la miel.

Cocker ha atribuido esta tendencia a la producción de ácido, por acción de enzimas; este ácido sería el ácido glucónico, el cual se forma a partir de la glucosa.

glucosidasa

Glucosa + O₂ -----> Acido glucónico.

-H₂O

Acido glucónico <-----> Gluconolactona

<-----

+H₂O

La determinación de acidez titulable es un procedimiento normalizado de análisis de la miel, habiéndose experimentado considerables dificultades en la obtención de puntos finales estables.

12.1.1 Reactivos:(2,3,4)

Solución de hidróxido de sodio 0.05 N

Solución de ácido clorhídrico 0.05 N

12.1.2 . Material:(2,3,4)

Vasos de precipitado de 250 cm³

Microbureta de 10cm³

Pipeta volumétrica de 10 cm³

12.1.3.Aparato e instrumentos :(2,3,4)

Agitador magnético

Potenciometro

12.1.4. Procedimiento:(2,3,4)

En un vaso de precipitado de 100 cm³ pesar 10 g de miel, agregar 75 cm³ de agua destilada libre de bióxido de carbono, disolver por agitación con un agitador magnético, o con una varilla de vidrio.

Introducir los electrodos del potencio metro en la solución anotando la lectura.

Titular con hidróxido de sodio 0.05N a una velocidad aproximada de 5cm³/minuto deteniendo la adición cuando el ph sea de 8.5. inmediatamente después agregar 10 cm³

de hidróxido de sodio 0.05N y titular por retroceso con ácido clorhídrico 0.05N hasta alcanzar el ph de 8.3. Hacer un testigo con 75cm³ de agua destilada libre de bióxido de carbono.

Los datos se expresan en miliequivalentes/Kg. de miel.

$$\text{Acidez libre} = \frac{(\text{cm}^3 \text{ de NaOH al } 0.05\text{N de la muestra}) - (\text{cm}^3 \text{ de NaOH del blanco}) \times 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Lactona} = \frac{(10 - \text{cm}^3 \text{ de ácido clorhídrico } 0.05) \times 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Acidez total} = \text{Acidez libre} + \text{lactona}$$

Si no se cuenta con un potenciómetro se puede utilizar el método que a continuación se describe.

12.2. Titulación con Fenofaleina (6,10)

Principio del método.

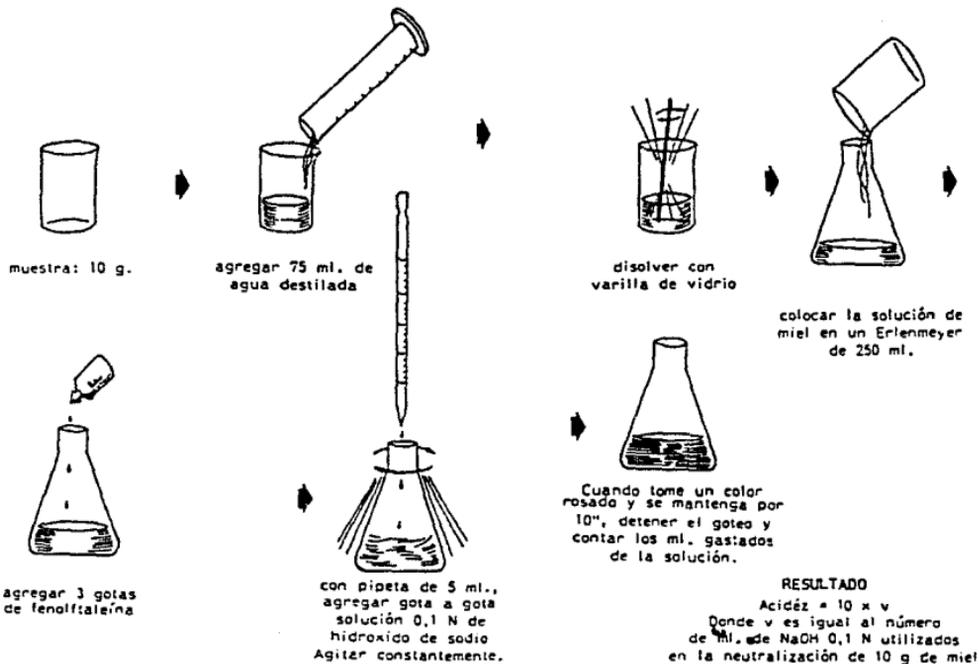
Se basa en el proceso de neutralización de un ácido mediante un hidróxido en presencia de un indicador interno, la fenofaleina. El procedimiento empleado actualmente requiere mantener la fenofaleina rosa durante 10 segundos; la titulación debe ser relativamente rápida para obtener valores comparativos.

Reactivos.

1-Solución de hidróxido de sodio 0.1N(libre de carbonatos).

2-Indicador de fenofaleina al 1% (m/V) en etanol neutralizado.

DETERMINACION DE ACIDEZ



3-Agua destilada, previa extracción del dióxido de carbono, hirviéndola y enfriándola a continuación.

Procedimiento

Preparación de la muestra.

Pesar la miel (10.0g) y disolverla en 75ml de agua destilada.

Titulación.

A) Titular la muestra de ensayo con solución de hidróxido de sodio 0.1N libre de carbonatos, utilizando como indicador 4 ó 5 gotas de fenoftaleína.

B) El color del punto final deberá persistir durante 10 segundos.

C) Para las mezclas de color oscuro se tomará menor cantidad.

D) Otro modo de proceder, consiste en utilizar un ph- metro y titular la muestra hasta ph 8.3

Calculos y expresión de los resultados.

Los resultados se expresan en milivales (miliequivalentes) de ácido/Kg de miel y se calculan en la forma siguiente:

$$\text{Acidez} = 10 v.$$

donde v = número de ml de NaOH 0.1N utilizados en la neutralización de 10gr de miel.

13.0. Determinación de cenizas (sustancias minerales): (2,3,4,6)

Material

Cápsula de platino

Equipo

Mufla

13.1. Procedimiento:(2,3,4,6)

En un crisol de porcelana pesar 1gr de miel, poner bajo una lámpara infrarroja de 375 Watts hasta carbonizar la muestra y evitar las pérdidas por formación de espuma y derrame. También se puede calcinar la muestra en una mufla a 600°C(873 °K) hasta peso constante.(2,3,4 norma reguional europea)

13,2.cálculos:(2,3,4,6)

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\text{Peso de cenizas} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

14.0. Determinación de sólidos insolubles en agua:(2,3,4)

14.1. Procedimiento:(2,3,4)

Disolver 29 g de miel en una cantidad adecuada de agua destilada a 80°C (353°K) y mezclar bien, filtrar a través de un crisol fino de vidrio sinterizado (tamaño del poro de 15 - 40 micras) previamente secado y tarado y lavar a fondo con agua caliente a 80 °C(353°K) hasta eliminación de los azúcares. Dejar secar la cápsula durante una hora a 135°C(408°K), enfriar y pesar con aproximación de 0,1 mg.

14.1.2. cálculos:(2,3,4)

$$\% \text{ sólidos insolubles en agua} = \frac{\text{peso de sólidos insolubles} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

14.2. Otra variante de sólidos insolubles en agua es:(6)

En un vaso de precipitado de 100ml pesar de 2 a 3 gr de miel, disolverla con una cantidad apropiada de agua destilada, calentar a 80°C y mezclar. Con anticipación poner a peso constante un crisol de Gooch y el papel filtro, colocar el crisol a una alargadera de vidrio que va insertada a un matraz Kitasato y éste a su vez a la bomba de vacío, hacer pasar la muestra y continuar el lavado hasta eliminar los azúcares.

Continuar el lavado hasta eliminar los azúcares. Colocar el crisol durante 1 hora en la estufa a una temperatura de 135°C, sacar, dejar enfriar y pesar.

Calculos.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{Peso del crisol con muestra húmeda} - \text{Peso del crisol con muestra seca}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

15.0. Determinación de dextrinas:(2,3,4)

15.1.1 Procedimiento:(2,3,4)

En una cápsula de porcelana disolver, con aproximadamente 4 cm³ de agua, 8 gramos de miel (4g para miel oscura), transferir a un matríz volumétrico de 100cm³, en caso de quedar residuos en la cápsula, disolver con 2 cm³ de agua, agregar esta solución

al matraz y lavar la cápsula con 2 porciones de un cm³ de agua, agregando 5-6 cm³ de alcohol absoluto antes de cada decantación. Llevar el matraz al volumen con alcohol absoluto, agitando constantemente. Dejar que las dextrinas se sedimenten y el líquido sea claro.

Decantar el líquido claro a través de papel filtro y lavar el residuo del matraz con 10 cm³ de alcohol, pasando los lavados a través del filtro.

Disolver las dextrinas en el matraz con agua hirviendo y filtrar en el papel ya usado, lavar recibiendo el filtro en un matraz de porcelana conteniendo arena seca, lavar el matraz y el filtro varias veces con pequeñas porciones de agua caliente. Evaporar en baño de agua y secar hasta peso constante a 70°C(343°k) bajo una presión de aproximadamente 50mm de mercurio. Disolver las dextrinas con agua y llevar a volumen conocido con agua, usando 50 cm³ de agua por cada 0.5 g de precipitado.

Determinar los azúcares reductores antes y después de la inversión (ver punto 6.0)

15.1.2. Cálculos:(2,3,4)

Calcular el peso de azúcares invertidos antes de la inversión y el de sacarosa como se indica en 6.0.

Cálculos para dextrinas .

g de dextrinas = g filtrados -(g azúcares reductores +- g azúcares invertida + g sacarosa).

$$\% \text{ de dextrinas} = \frac{\text{g de dextrinas}}{\text{g de muestra.}}$$

15.2. Existen en la actualidad métodos más sencillos para la determinación de dextrinas como el que se menciona a continuación: (10)

Principio de el metodo:

A diferencia de las dextrinas de almidón, los componentes de la miel semejantes a las dextrinas (azúcares superiores) no presentan reacción si se acidifica la solución de miel con ácido clorhídrico y se la mezcla luego con alcohol.

Reactivos

- A) Alcohol etílico absoluto.
- b) Acido clorhico
- c) Acido tricloroacético.
- D) Agua destilada

Procedimiento

Preparación de la muestra para el ensayo.

En un vaso de precipitado de 50ml pesar 1g de la muestra y disolverla en 5ml de agua destilada.

Determinación

A) En un tubo de ensayo colocar 1ml de la solución preparada, agregarle 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado y finalmente 5ml de alcohol etílico absoluto.

B) Tapar, agitar y observar el medio alcohólico.

Expresión de los resultados:

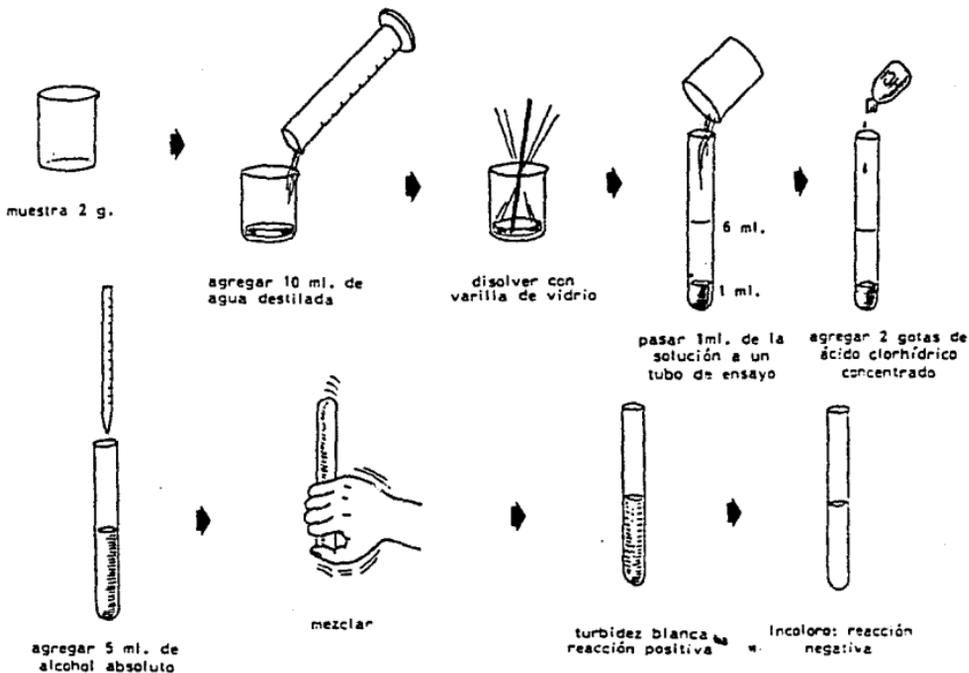
Reacciones posibles

- A) Negativa: mezcla limpia u opalescencia muy débil.
- B) Positiva: Turdez franca, líquido opaco.
- C) Positivo fuerte: enturbiamiento lechoso, precipitación.
- D) Dudosa: opalescencia débil.

En caso de duda, tratar un volumen de la solución problema (5ml), con igual volumen de ácido tricloroacético al 10%, filtrar y repetir la experiencia anterior en un tubo de ensayo.

En caso negativo, la mezcla se mantendrá limpia; de lo contrario, es presumible la presencia de dextrinas de almidón.

DETERMINACION DE LA GLUCOSA COMERCIAL



16.0. Determinación de hidroximetilfurfural (HMF):(10,6)

La miel recién extraída contiene muy pequeña cantidad de H.M. F. En cambio , si se almacena la miel a elevadas temperaturas o bien se la entibia o se la calienta,ello da lugar a que los azúcares contenidos en la miel, especialmente los de la fructosa,se transformen en H.M.F., por deshidratación, formándose un aldehído.

La cantidad de H.M.F. que se forma en la miel,depende del grado de temperatura a la que se expone y al tiempo de exposición.

De acuerdo a la experiencia práctica, cuando hay temperaturas medias entre 12°C y 14°C, el aumento anual del contenido de H.M.F. es mínimo. Aproximadamente 5-6 ppm en las mieles. Aparte de la temperatura, también el valor del ph de una miel posee importancia para la velocidad de formación del H.M.F.

El método más usado para la verificación del H.M.F. en la miel, es el de procedimiento colorimétrico de Winker (1955). El H.M.F. reacciona con el reactivo de determinación formando un color rojo perceptible a simple vista.

16.1.Principio del metodo cualitativo:(10,6)

Se basa en el método de Fisher.

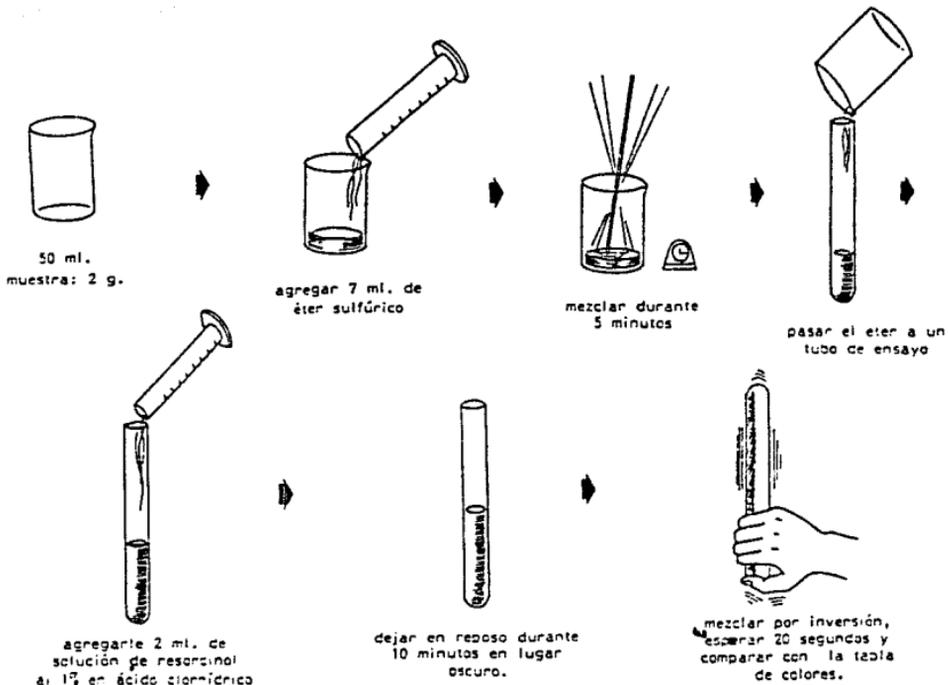
Reactivos:

Eter etílico de peroxidos.

Resorcina.

Acido clorhidrico.

DETERMINACION DEL H.M.F.



Procedimiento:

- A) Pesar 2g de la muestra y agregar 7ml de éter etílico.
- B) Mezclar con varilla de vidrio intensamente durante 5 minutos.
- C) Transferir la solución etérea a un tubo de ensayo y agregarle 2ml de solución de resorcina al 1% en ácido clorhídrico, recientemente preparada.
- D) Dejar en reposo en lugar oscuro durante 10 minutos.
- E) Mezclar por inversión el tubo, esperar 20 segundos para estabilizar el color y comparar con la tabla de colores.

16.2. Principio del método cuantitativo(2,3,4)

Se basa en el método de winkler.

16.2.1 Material:(2,3,4)

Matraces volumétricos

Tubos de ensaye.

16.2.2. Instrumentos y aparatos:(2,3,4)

Espectrofotómetro

Baño María .

16.2.3 Reactivos:(2,3,4)

Ácido acético glacial.

Isopropanol.

Ácido barbitúrico.

Pasar a un matraz volumétrico de 100 cm³, 500 mg. de ácido barbitúrico, disolver en aproximadamente 70 cm³ de agua destilada en baño María, enfriar y completar hasta el volumen.

- P- Toluidina .

Disolver en un matraz volumétrico de 100 cm³, 10 g de p-toluidina con 50cm³ de isopropanol, calentando suavemente en baño María, enfriar , agregar 10cm³ de ácido acético glacial. Completar al volumen con isopropanol. Guardar en frasco ámbar en la oscuridad.

16.2.4. Preparación de la curva estándar de HMF:(2,3,4)

Preparar diluciones de HMF que contengan 1,2,3,4,5 mg/ cm³ , agregar 5cm³ de p-toluidina y un cm³ de ácido barbitúrico, agitar por 1 ó 2 minutos. Transferir rápidamente a celdas de un cm. de paso de luz y leer la absorbancia a 550nm cuando haya alcanzado su máximo desarrollo de color (1 a 4 minutos) , utilizando agua tratada de igual manera a como en el testigo.

16.2.5. Preparación de la muestra:(2,3,4)

Disolver 10g de miel con 20 cm³ de agua, pasar a un matraz volumétrico de 50 cm³ y llevar a volumen. La muestra deberá ser analizada inmediatamente.(2,3,4)

procedimiento.

En cada uno de 2 tubos de ensayo, pasar con pipeta 2 alícuotas de 2.0 cm³ de solución de miel y agregar a cada uno 5.0 cm³ de p-toluidina. A uno de los tubos agregar 1.0 cm³ de agua (testigo) y al otro 1.0 cm³ de ácido barbitúrico, agitar por 1 ó 2 minutos. Transferir rápidamente a celdas de un cm. y leer la absorbancia de la muestra a 550 nm, ajustando a cero con el testigo (2,3,4 norma regional europea)

Cálculos:

Determinar el contenido de HMF interpolando al valor de absorbancia obtenida en la gráfica preparada con las absorbancias de la curva de calibración. (2,3,4, norma regional europea)

17.0 Determinación de la actividad de la Diastasa: (10,6)

La determinación de la actividad de las enzimas de la miel está adquiriendo cada vez mayor importancia como una forma de valor de calidad. Entre esas enzimas se encuentra la diastasa cuya determinación analítica solo se realiza en determinados laboratorios, los cuales no siempre están al alcance de los productos.

Teniendo en cuenta lo manifestado, es imprescindible disponer de un método simple para quienes no cuentan con la dotación cómoda de un laboratorio y quieren determinar la cantidad aproximada de diastasa, a fin de poder valorar la calidad de la miel.

Es así que se ha propuesto un nuevo método simple que no requiere instrumental complicado y es de fácil realización.

En este método el sustrato de almidón se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática, que se determina por el agregado del reactivo yodo, el cual produce coloración con el remanente de almidón no hidrolizado. La disminución del color que ocurre en los tubos del desconocido después de incubarlo, respecto al tubo control, es una medida de la actividad de la diastasa de la muestra, que se expresa en unidades de diastasa.

17.1. Principio del método:(10,6)

El sustrato de almidón tamponado se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática, que se determina por el agregado del reactivo yodo, el cual produce con el remanente de almidón no hidrolizado.

17.2.Reactivos:(10,6)

1-Buffer acetato ph 5.3 (1.59M):

Acetato de sodio..... 87g.
 Acido acético glacial..... 10.5ml.
 Agua destilada c.s.p.....500ml.

Disolver el acetato de sodio en 400ml de agua, añadir el ácido acético disuelto en un poco de agua y completar hasta 500ml.

Ajustar el ph a 5.3 con acetato de sodio o ácido acético según el caso utilizando un ph-metro.

2-Solución de cloruro de sodio al 1%

Cloruro de sodio.....1g

Agua destilada c.s.p.....100ml.

Disolver el cloruro de sodio p.a.en agua destilada hervida y completar a volumen. El tiempo de conservación está limitado por la formación de mohos.

3- Solución de almidón

Almidón soluble.....0.050g

Agua destilada c.s.p.....100ml

Pesar el almidón soluble, en una balanza analítica, en un vaso de presipitación de 50ml, disolverlo en 10ml de agua destilada fría. Luego pasarlo a un vaso de presipitación de 100ml con ayuda de agua destilada y llevar a un volumen de 70ml con agua destilada caliente.

Someter al calentamiento y mantenerlo en ebullición por tres minutos. Dejar enfriar espontáneamente y una vez frío, pasar a un matraz aforado de 100ml y completar a volumen con agua destilada.

4-Solución de yodo 0.1 N.

Yoduro de potasio.....20.0g

Yodo.....12.7g

Agua destilada c.s.p.....100ml

Se disuelve el yoduro de potasio libre de yodato p.a. en 30/ 40 ml de agua en un matraz aforado de un litro, con tapa esmerilada.

Se pesa el yodo p.a. resublimado sobre vidrio de reloj, empleando una balanza común y se pasa, mediante un embudo pequeño y seco, al matraz aforado que contiene la solución concentrada de yoduro de potasio.

Se tapa el matraz y se agita hasta que el yodo se haya disuelto.

Se deja la solución en reposo unos 20 minutos, para que tome la temperatura, se lleva a volumen con agua destilada y se homogeniza.

La solución de yodo se conserva bien en frascos pequeños, en lugar frío y oscuro.

5-Solución de floruro de sodio.

Floruro de sodio.....2g

Agua destilada c.s.p.....100ml

Disolver el floruro de sodio en 30/40ml de agua destilada y en un vaso de presipitación, transvasar a un matraz aforado de 100ml y completar a volumen.

6-Solución de trabajo de yodo 0.01 N

Solución de yodo.....1 parte.

Solución de floruro de sodio.....9 partes.

Mezclar ambas soluciones. Esta solución se conserva bien en un frasco pequeño y oscuro, en la heladera.

17.3.Material necesario:(6,10)

1-Balanza.

2-Baño María.

3- Tubos de ensayo.

4- Gradilla para tubos de ensayo.

5- Pipetas.

6- Vaso de presipitación.

7- Instrumental de laboratorio.

17.4. Preparación de la muestra:(6,10)

Pesar 2g de la muestra de miel en un vaso de precipitación de 50ml y añadir 1ml de buffer 5.3ph, mezclar con varilla de vidrio.

17.5 Procedimiento:(6,10)

1- Colocar en una gradilla 10 tubos de ensayo y agregarle a cada uno 1 ml de solución de cloruro de sodio al 1%.

2- Agregar al primer tubo 1 ml de la muestra y mezclar por aspiración y expulsión con una pipeta.

3- Pasar luego 1ml del primer tubo al segundo. Mezclar y continuar así hasta el noveno tubo, desechando el último ml.

4- El tubo décimo sirve de testigo.

5- Colocar en cada tubo 1ml de solución de almidón 0.050% e incubar por 30 minutos a 37°C.

6- Retirar, enfriar rápidamente y colocar una gota de solución de trabajo de yodo en cada tubo y agitar.

Observar la coloración.

17.6. Cálculo y expresión de los resultados:(6,10)

U.D.(dilución mayor que permanece incolora) x 2.

Diluciones

Tubo Nº 1: dilución1/2.

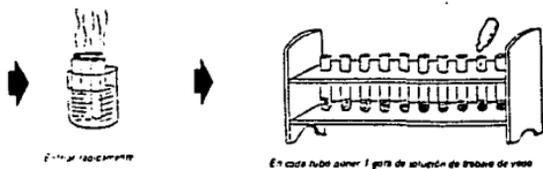
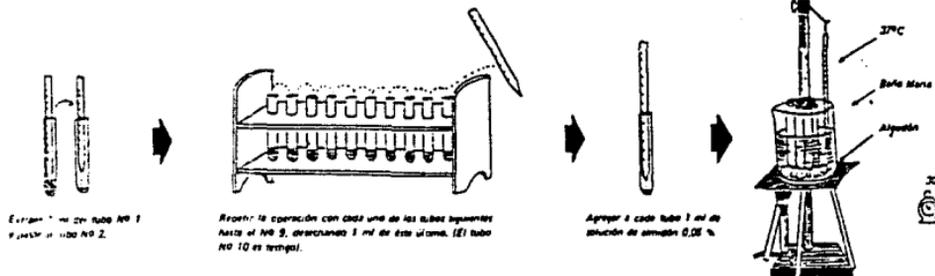
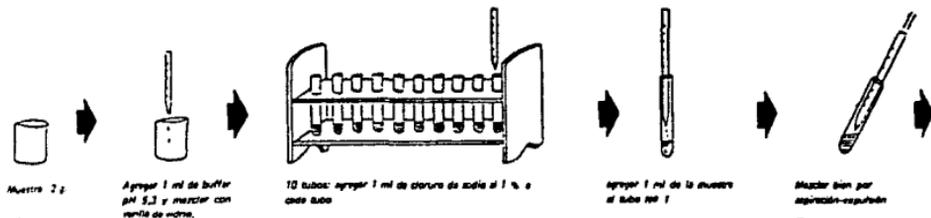
Tubo Nº 2: dilución.....1/4.

Tubo Nº 3: dilución1/8.

Tubo Nº 4: dilución.....1/16.

Tubo Nº 5: dilución.....1/32.

DETERMINACION DE DIASTASA EN LA MIEL (METODO BIANCHI)



U.D. ... (Ducción mayor que permanece incolora a 2

Tubo N° 6: dilución	1/64.
Tubo N° 7: dilución.....	1/128
Tubo N° 8: dilución	1/256.
Tubo N° 9: dilución.....	1/512

Ejemplo: Si el tubo 5 es el último incoloro, se tiene $32 \times 2 = 64$ U.D. valor normal: no menos de 64 U.D.

Interpretación: normalmente los valores están entre 64 a 128 U.D., cantidades menores de 64 U.D. corresponden a una miel vieja, calentada, mal procesada o adulterada. Existen mieles con bajo contenido natural de diastasa, por ejemplo, mieles de cítricos.

18 0 Contaminantes (5,8)

18 1. Microbiológicas (8)

La miel deberá satisfacer a las siguientes normas microbiológicas:

Germes patógenos o toxinas patógenas : Ausentes.

Recuento de colonias aerobias (31 +/- 1°C) máximo. 1.10 a la 4 col/gr.

Enterobacterias totales. Ausentes /25gr.

Mohos máximo 1 10 a la 2 col/gr.

E. coli. Ausencia 7gr

Salmonella-Shigella /25 gr.

Mohos máximo 1 10 a la 2 col/gr.

Las tolerancias de productos contaminantes y sustancias tóxicas no deberán sobrepasar las contenidas en la legislación vigente y en su defecto en las normas internacionales aceptadas.

18.2. Materia extraña objetable:(5)

El producto objeto de esta norma debe estar libre de: fragmentos microscópicos de insecto y excretas de roedores, así como de cualquier otra materia extraña.

18.3.No se permite el uso de aditivos alimentarios para su conservación, suministro de agua, ni mezclarla con almidón, melazas, glucosa, dextrinas o azúcares:(5)

18.4. Contaminantes químicos:(5)

El producto objeto de esta norma no deberá contener ningún contaminante químico (plaguicidas u otros) en cantidades que puedan presentar un riesgo para la salud. Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a lo que establezca la secretaría de Salubridad y Asistencia.

19.0.Muestreo(5)

Cuando se requiera el muestreo del producto para una inspección este podrá ser establecido de común acuerdo entre productores y compradores, recomendándose el uso de la Norma Oficial Mexicana NOM-R-18.

20.0. Marcado ,etiquetado, envase y embalaje:(5)**20.1. Marcado y etiquetado:(5)****20.1.1 Marcado en el envase (5)**

Cada envase del producto debe llevar una etiqueta o impresión permanente, visible e indeleble con los siguientes datos

Denominación del producto, conforme a la clasificación de esta norma.

Nombre o marca comercial registrada, pudiendo aparecer el símbolo del fabricante.

El contenido neto de acuerdo con las disposiciones de la Secretaría de Comercio leyenda contenido neto deberá ir seguida del dato cuantitativo y símbolo de la unidad correspondiente de acuerdo al sistema general de unidades de medida, expresado en minúsculas, sin pluralizar y sin punto abreviatorio, deberá presentarse en el ángulo inferior derecho o centrada en la parte inferior, de manera clara y ostensible en un tamaño que guarde proporción.

Nombre o razón social del fabricante o titular del registro y domicilio donde se envase el producto.

La leyenda PRODUCIDO EN MÉXICO:

Texto de las siglas: S.S.A. No _____ A, debiendo figurar en el espacio el número de registro correspondiente.

20.1.2 Marcado en el embalaje:(5)

Deben anotarse los datos necesarios en 10.1.1 para la identificación del producto y todos aquellos otros que se juzguen convenientes, tales como las precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los embalajes.

20.2 Envase:(5)

El producto objeto de esta norma, se debe envasar en un material atóxico, resistente e inocuo, que garantice la estabilidad del mismo , que evite su contaminación, no altere su calidad , ni sus especificaciones sensoriales.

20.3. Para el embalaje final de la miel de abeje se deben usar cajas de cartón o de algún otro material apropiado, que tengan la debida resistencia y que ofrezcan la protección adecuada a los envases para impedir su deterioro exterior, a la vez que faciliten su manipulación en el almacenamiento y distribución de los mismos, sin exponer a las personas que los manipulen.(5)

20.4. Almacenamiento:(5)

El producto terminado debe almacenarse en locales que reúnan los requisitos sanitarios que señala la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

21.0 Conclusión.

México tiene una producción de 69,500 toneladas por año, esto lo ubica como el cuarto productor de miel en el mundo y segundo exportador a nivel mundial.

Se estima que de la producción anual de miel en México, un 80% de ésta se exporta, esto se debe a que la miel mexicana está catalogada como una de las mejores del mundo. La miel en el extranjero se encuentra regida por la Norma Regional Europea, lo cual junto con la oferta y la demanda de el mercado le asigna un precio. En éste momento son muy pocos los apicultores nacionales que conocen las características organolépticas y químicas de sus mieles, por lo tanto no pueden exigir en un momento dado un buen precio para ésta.

Dentro de los artículos mencionados en el Tratado de Libre Comercio, el segundo producto enlistado: Es la miel, lo cual trae como consecuencia una mayor exigencia en cuanto a calidad de nuestras mieles.

En el presente trabajo se llevó a cabo una recopilación de normas e información con el propósito de conocer la mayor cantidad de técnicas aplicables a la miel, encontrándose que la mayoría no se llevan a cabo por ser solo clasificadas en base a color y porcentaje de humedad pasando por alto las otras pruebas por ser muy costosas, un ejemplo es la técnica de separación de azúcares por cromatografía en columna la cual en México no se ha estructurado, es muy laboriosa y altamente costosa. Por lo anterior se propone:

- 1- Actualizar la Norma Regional Europea con métodos modernos, con la consecuente actualización de las normas mexicanas
- 2- Elaborar una norma mexicanas o boletín técnico con técnicas analíticas sencillas que estén abaladas por una autoridad oficial

3-Difundir la información para que tanto el apicultor como los acopiadores den precio justo en base a la calidad de la miel.

4-En base al tratado de libre comercio: Dar más importancia a las pruebas microbiológicas que en México no han sido consideradas, afectando nuestro comercio al ser introducidas mieles de otros países que no siempre serán de mejor calidad que la nacional

22.0 LITERTURA CITADA.

Normas.

1-Secretaria de Economía, Dirección General de Normas, Norma Oficial para Miel de Abeja, Diario Oficial, México D.F. 1958.

2-Secretaria de Comercio, Anteproyecto de Normas de Metodos de Prueba Para Miel de Abeja NCM-1-1980, Diario Oficial, México D.F. 1980.

3-Secretaria de Comercio, Normas de Metodos de Prueba Para Miel de Abeja NCM/1-S-1980, Diario Oficial, México D.F. 1980.

4-Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial, Norma Oficial Mexicana NOM-F-416-C-1982, Productos Alimenticios Para Uso Humano-Miel de Abeja-Metodos de Prueba, Diario Oficial. México D.F. 1982.

5-Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial, Norma Oficial Mexicana NOM-F-36-A-1981(revisada 1983), Miel de Abeja-Especificaciones, Diario Oficial, México D.F.1983

6-Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius, ref N° Alinorm 69/67, abril 1969, Norma Regional Europea Recomendada Para La Miel, segunda Edición del Manual de Procedimientos de la comisión.

Libros

7- Root. A.I.: ABC y XYZ de la Apicultura. Ed. Hemisferio Sur. 4a reimpresión, Buenos Aires, Argentina 1990

8- Ricciardellid A.:G., La Miel, Agroguias Mundi-Prensa.

Articulos.

9-Serra Bonvehi J. y Gómez Pajuelo A., La calificación de mieles mediante el analisis organoleptico, Revista Internacional Técnica, Economica y de Información Apícola, Vol 4: 103 a107(1988).

10- Bianchi E.M., Control de calidad de la miel y la cera, Boletin de Servicios Agricolas de la F.A.O., 13 a 48(1990).