



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**ESTUDIO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE
POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN CINCO
MIELES DE ABEJA (*Apis mellifera L.*) PRODUCIDAS EN LA
PROVINCIA DE ESMERALDAS, ECUADOR.**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

CLARA ELENA MORENO VILLARREAL

DIRECTORA: ING. ELENA BELTRÁN

COORDIRECTOR: LCDO. LUIS VALDÉS

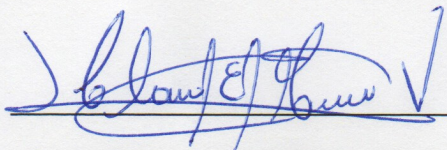
Quito, Agosto 2016

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2016
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo **CLARA ELENA MORENO VILLARREAL**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

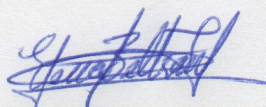


Clara Elena Moreno Villarreal

C.I. 1721948261

CERTIFICACIÓN

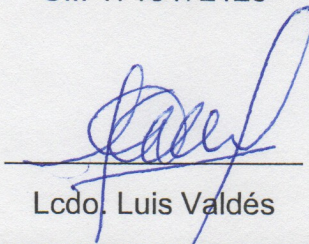
Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**Estudio de capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y actividad antimicrobiana en cinco mieles de abeja (*Apis mellifera L.*) producidas en la provincia de Esmeraldas, Ecuador.**”, que, para aspirar al título de **Ingeniero de Alimentos** fue desarrollado por Clara Elena Moreno Villarreal, bajo mi dirección y supervisión, en la **Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias**; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.



Ing. Elena Beltrán

DIRECTORA DEL TRABAJO

C.I. 1710472125



Lcdo. Luis Valdés

COORDIRECTOR DEL TRABAJO

C.I. 1754572822

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	172194826-1
APELLIDO Y NOMBRES:	Moreno Clara Elena
DIRECCIÓN:	Mayas N 45 – 189 y Guarumos
EMAIL:	claraelena6g@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	022256042
TELÉFONO MOVIL:	0992833275

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	ESTUDIO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN CINCO MIELES DE ABEJA (APIS MELLIFERA. L.) PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE ESMERALDAS, ECUADOR.
AUTOR O AUTORES:	Clara Moreno
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Agosto, 2015
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	ING. ELENA BELTRÁN MSc
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera de alimentos
RESUMEN: Mínimo 250 palabras	<p>El presente estudio, consistió en caracterizar cinco muestras de mieles de abeja (<i>Apis mellifera. L.</i>) recolectadas en la ciudad de Quito – Ecuador. La apicultura en el país no está muy desarrollada, a pesar de que, la variedad y cantidad de vegetación existente, puede brindar a la miel propiedades beneficiosas; como alta capacidad antioxidante y una actividad antimicrobiana o antifúngica importante contra el mayor número de cepas.</p>

Se evaluó las propiedades fisicoquímicas, conductividad con un valor medio de 0.522 mS / cm; pH con un valor medio de 3.984; densidad con un valor medio 1.4098 g / cm³; humedad con un valor medio de 11.6619 %; ceniza total con un valor medio de 0.1921 % y acidez total con un valor medio de 48.8 meq / Kg; es importante recalcar ciertos parámetros; en los que los rangos obtenidos por experimentación se encuentran fuera de la normativa ecuatoriana o internacional; como por ejemplo para la acidez total, los valores obtenidos en un 40 % de las muestras analizadas incumplen con la norma INEN.

En lo que respecta al contenido de metales pesados, la concentración de sodio en las mieles estudiadas presentó un valor medio de 43.038 mg / 100 g; potasio un valor medio de 124.198 mg / 100 g de miel; calcio un valor medio de 2.523 mg / 100 g de miel; magnesio un valor medio de 2.500 mg / 100 g de miel; manganeso un valor medio de 0.569 mg / 100 g de miel; plomo con un valor medio de 0.607 mg / 100 g; cobre con una media de 0.085 mg / 100 g miel; níquel con una media de 0.029 mg / 100 g de miel; plata con un valor medio de 0.011 mg / 100 g; y no existe presencia de cromo; todo esto basado en el peso húmedo; hay algunos que son diferentes a los reportados en la bibliografía o son mayores a los valores máximos permisibles de consumo, los cuales son sodio, manganeso y plomo, siendo este último el más perjudicial, por el grado de toxicidad que presenta sobre la salud humana según la OMS.

	<p>El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin- Ciocalteu y se obtuvo valores que están en un rango de 18.272 a 368.914 mg GAE / 100 g miel; la capacidad o actividad antioxidante, se determinó en un rango de 12.948 a 929.536 umol Equivalentes de Trolox / 100 g muestra usando reactivo ABTS para la curva de calibración.</p> <p>La actividad antibacteriana se analizó de forma cualitativa en cepas ATCC de <i>Clostridium perfringes</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Escherichia coli</i>; y antifúngica sobre la cepa ATCC de <i>Cándida albicans</i>; se presentó inhibición en todas las cepas, a excepción de <i>L. acidophilus</i> que no presentó inhibición con ninguna muestra de miel, y <i>Cándida albicans</i> que presentó inhibición con 2 muestras de miel analizadas.</p>
<p>PALABRAS CLAVES:</p>	<p>Miel, metales, polifenoles, antioxidantes, antibacteriana</p>
<p>ABSTRACT:</p>	<p>The present study was to characterize five samples of honey bee (<i>Apis mellifera L.</i>) collected in Quito city - Ecuador. Beekeeping in the country is not well developed, despite the variety and quantity of existing vegetation, these can provide beneficial properties of honey; as high antioxidant capacity and significant antimicrobial or antifungal activity against as many strains.</p> <p>The physicochemical properties, conductivity was evaluated with an average value of 0.522 mS / cm; pH with an average value of 3.984;</p>

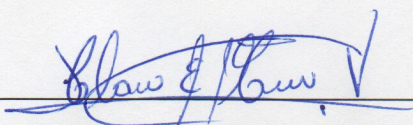
with an average density 1.4098 g / cm³; humidity with an average value of 11.6619%; total ash with a mean value of 0.1921% and total acidity with an average value of 48.8 meq / Kg; it is important to emphasize certain parameters; in which the ranges obtained by experimentation outside the Ecuadorian or international law; such as the total acidity, the values obtained by 40% of the samples fail to comply with standard INEN.

Regarding the content of heavy metals, the concentration of sodium in the honey bee studied presented a mean value of 43.038 mg / 100 g; Potassium an average value of 124.198 mg / 100 g of honey; calcium a mean value of 2.523 mg / 100 g of honey; Magnesium a mean value of 2.500 mg / 100 g of honey; Manganese a mean value of 0.569 mg / 100 g of honey; Lead with a mean value of 0.607 mg / 100 g; copper with an average of 0.085 mg / 100 g honey; nickel with an average of 0.029 mg / 100 g of honey; silver with a mean value of 0.011 mg / 100 g; and no presence of chromium; all it based on the wet weight; there are some that are different from those reported in the literature or are greater than the maximum allowable consumption values, which are sodium, manganese and lead, the latter being the most harmful, the degree of toxicity presented on human health as the OMS.

The polyphenol content was determined by the Folin-Ciocalteu and values are in the range of 18.272 to 368.914 mg GAE / 100 g honey was obtained; the ability or antioxidant activity was determined in a range of 12.948 to 929.536

	<p>Trolox Equivalents $\mu\text{mol} / 100\text{g}$ sample using ABTS reagent for the calibration curve.</p> <p>The antibacterial activity was analyzed qualitatively in ATCC strains of <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i>; and Antifungal on <i>C. albicans</i> ATCC strain; inhibition occurred in all strains except <i>L. acidophilus</i> that did not show any inhibition with honey sample, <i>Candida albicans</i> and presented inhibition with 3 honey samples analyzed.</p>
KEYWORDS	Honey , metals , polyphenols, antioxidants, antibacterial

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

f: 

MORENO VILLARREAL CLARA ELENA

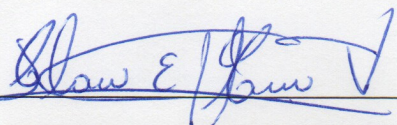
172194826-1

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **MORENO VILLARREAL CLARA ELENA**, CI 172194826-1 autora del proyecto titulado: **Estudio de capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y actividad antimicrobiana en cinco mieles de abeja (*Apis mellifera L.*) producidas en la provincia de Esmeraldas, Ecuador** previo a la obtención del título de **Ingeniera de Alimentos** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, 17 de agosto de 2016

f: 

MORENO VILLARREAL CLARA ELENA

172194826-1

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1. MIEL DE ABEJA	2
2.2. CLASIFICACIÓN	3
2.2.1. POR SU ORIGEN	3
2.2.1.1. Miel de flores	3
2.2.1.2. Miel de mielada	4
2.2.2. POR SU UTILIZACIÓN	5
2.3. ELABORACIÓN DE MIEL POR LAS ABEJAS.	5
2.4. PROCESAMIENTO	6
2.4.1. EXTRACCIÓN	7
2.4.2. FILTRACIÓN	7
2.4.3. ALMACENAMIENTO	7
2.4.4. PASTEURIZACIÓN	7
2.4.5. ENVASADO	7
2.5. PRODUCCIÓN MUNDIAL	8
2.6. MERCADO Y PRODUCCIÓN NACIONAL	9
2.7. USO INDUSTRIAL	10
2.8. COMPONENTES DE LA MIEL.	10
2.8.1. AZÚCARES	10
2.8.2. AGUA	12
2.8.3. ÁCIDOS ORGÁNICOS	12
2.8.4. ENZIMAS	13
2.8.5. VITAMINAS	15
2.8.6. PROTEÍNAS	16
2.8.7. AMINOÁCIDOS LIBRES	16

	PÁGINA
2.8.8. MINERALES	16
2.9. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	18
2.9.1. COLOR	18
2.9.2. HUMEDAD	18
2.9.3. CENIZA	19
2.9.4. ACIDEZ TOTAL Y pH	19
2.9.5. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	19
2.10. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	20
2.11. CAPACIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA	21
2.11.1. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA NO PERÓXIDO DEPENDIENTE.	22
2.12. INCONVENIENTES DE LA MIEL	22
2.12.1. ALTERACIONES	22
2.12.1.1. Cristalización	22
2.12.1.2. Pardeamiento	23
2.12.1.3. Fermentación	23
2.12.2. PELIGROS BIOLÓGICOS.	24
2.12.2.1. Químicos de origen biológico.	24
2.12.3. PELIGROS QUÍMICOS	25
3. METODOLOGÍA	26
3.1. MUESTRAS	26
3.2. CONDUCTIVIDAD	26
3.3. PH	27
3.4. DENSIDAD	27
3.5. HUMEDAD	27
3.6. CENIZA	28
3.7. ACIDEZ TOTAL	28
3.8. METALES PESADOS	29
3.9. FENOLES TOTALES	30
3.10. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	30

	PÁGINA
3.11. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA	31
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
4.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	32
4.1.1. RESUMEN GENERAL	32
4.1.2. CONDUCTIVIDAD	32
4.1.3. pH	34
4.1.4. DENSIDAD	35
4.1.5. HUMEDAD	36
4.1.6. CENIZA	37
4.1.7. ACIDEZ TOTAL	38
4.2. METALES PESADOS	40
4.2.1. RESUMEN GENERAL	40
4.2.2. OLIGOELEMENTOS	41
4.2.2.1. Sodio	41
4.2.2.2. Potasio	42
4.2.2.3. Calcio	43
4.2.2.4. Magnesio	43
4.2.2.5. Manganeso	44
4.2.3. ELEMENTOS TRAZA	45
4.2.3.1. Plomo	45
4.2.3.2. Cobre	47
4.2.3.3. Níquel	48
4.2.3.4. Plata	49
4.2.3.5. Cromo	50
4.3. FENOLES TOTALES	50
4.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	51
4.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA	53
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1. CONCLUSIONES	59
5.2. RECOMENDACIONES	60

BIBLIOGRAFÍA

PÁGINA

62

ÍNDICE DE TABLAS

PÁGINA

Tabla 1. Azúcares presentes en la miel de abeja	11
Tabla 2. Principales constituyentes de los azúcares de la miel.	11
Tabla 3. Concentración de enzimas en la miel	15
Tabla 4. Concentración de minerales en Miel	17
Tabla 5. Muestras analizadas	26
Tabla 6. Resumen general. Propiedades fisicoquímicas	32
Tabla 7. Resumen general. Concentración de metales.	40
Tabla 8. Cepas bacterianas con mayor nivel de inhibición por cada una de las diluciones de las 5 mieles analizadas.	57
Tabla 9. Muestras que presentan mayor inhibición por cepa bacteriana	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Esquema general de la obtención de miel.	6
Figura 2. Conductividad eléctrica	33
Figura 3. pH	35
Figura 4. Densidad	36
Figura 5. Humedad	37
Figura 6. Ceniza Total	38
Figura 7. Acidez Total	39
Figura 8. Concentración de Sodio	41
Figura 9. Concentración de potasio	42
Figura 10. Concentración de Calcio	43
Figura 11. Concentración de Magnesio	44
Figura 12. Concentración de Manganeso	45
Figura 13. Concentración de Plomo	46
Figura 14. Concentración de Cobre	47
Figura 15. Concentración de Níquel	48
Figura 16. Concentración de Plata	49
Figura 17. Contenido de Fenoles Totales	51
Figura 18. Capacidad Antioxidante	52
Figura 19. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>S. Aureus</i>	54
Figura 20. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>S. Typhimurium</i>	54
Figura 21. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>E. Coli</i>	55
Figura 22. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>K. Pneumoniae</i>	55
Figura 23. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>C. Perfringes</i>	56
Figura 24. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa <i>C. Albicans</i>	57

RESUMEN

El presente estudio, consistió en caracterizar cinco muestras de mieles de abeja (*Apis mellifera. L.*) recolectadas en la ciudad de Quito – Ecuador. La apicultura en el país no está muy desarrollada, a pesar de que, la variedad y cantidad de vegetación existente, puede brindar a la miel propiedades beneficiosas; como alta capacidad antioxidante y una actividad antimicrobiana o antifúngica importante contra el mayor número de cepas.

Se evaluó las propiedades fisicoquímicas, conductividad con un valor medio de 0.522 mS / cm; pH con un valor medio de 3.984; densidad con un valor medio 1.4098 g / cm³; humedad con un valor medio de 11.6619 %; ceniza total con un valor medio de 0.1921 % y acidez total con un valor medio de 48.8 meq / Kg; es importante recalcar ciertos parámetros; en los que los rangos obtenidos por experimentación se encuentran fuera de la normativa ecuatoriana o internacional; como por ejemplo para la acidez total, los valores obtenidos en un 40 % de las muestras analizadas incumplen con la norma INEN.

En lo que respecta al contenido de metales pesados, la concentración de sodio en las mieles estudiadas presentó un valor medio de 43.038 mg / 100 g; potasio un valor medio de 124.198 mg / 100 g de miel; calcio un valor medio de 2.523 mg / 100 g de miel; magnesio un valor medio de 2.500 mg / 100 g de miel; manganeso un valor medio de 0.569 mg / 100 g de miel; plomo con un valor medio de 0.607 mg / 100 g; cobre con una media de 0.085 mg / 100 g miel; níquel con una media de 0.029 mg / 100 g de miel; plata con un valor medio de 0.011 mg / 100 g; y no existe presencia de cromo; todo esto basado en el peso húmedo; hay algunos que son diferentes a los reportados en la bibliografía o son mayores a los valores máximos permisibles de consumo, los cuales son sodio, manganeso y plomo, siendo este último el más perjudicial, por el grado de toxicidad que presenta sobre la salud humana según la OMS.

El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu y se obtuvo valores que están en un rango de 18.272 a 368.914 mg GAE / 100 g miel; la capacidad o actividad antioxidante, se determinó en un rango de 12.948 a 929.536 μmol Equivalentes de Trolox / 100 g muestra usando reactivo ABTS para la curva de calibración.

La actividad antibacteriana se analizó de forma cualitativa en cepas ATCC de *Clostridium perfringes*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*; y antifúngica sobre la cepa ATCC de *Cándida albicans*; se presentó inhibición en todas las cepas, a excepción de *L. acidophilus* que no presentó inhibición con ninguna muestra de miel, y *Cándida albicans* que presentó inhibición con 2 muestras de miel analizadas.

ABSTRACT

The present study was to characterize five samples of honey bee (*Apis mellifera L.*) collected in Quito city - Ecuador. Beekeeping in the country is not well developed, despite the variety and quantity of existing vegetation, these can provide beneficial properties of honey; as high antioxidant capacity and significant antimicrobial or antifungal activity against as many strains.

The physicochemical properties, conductivity was evaluated with an average value of 0.522 mS / cm; pH with an average value of 3.984; with an average density 1.4098 g / cm³; humidity with an average value of 11.6619%; total ash with a mean value of 0.1921% and total acidity with an average value of 48.8 meq / Kg; it is important to emphasize certain parameters; in which the ranges obtained by experimentation outside the Ecuadorian or international law; such as the total acidity, the values obtained by 40% of the samples fail to comply with standard INEN.

Regarding the content of heavy metals, the concentration of sodium in the honey bee studied presented a mean value of 43.038 mg / 100 g; Potassium an average value of 124.198 mg / 100 g of honey; calcium a mean value of 2.523 mg / 100 g of honey; Magnesium a mean value of 2.500 mg / 100 g of honey; Manganese a mean value of 0.569 mg / 100 g of honey; Lead with a mean value of 0.607 mg / 100 g; copper with an average of 0.085 mg / 100 g honey; nickel with an average of 0.029 mg / 100 g of honey; silver with a mean value of 0.011 mg / 100 g; and no presence of chromium; all it based on the wet weight; there are some that are different from those reported in the literature or are greater than the maximum allowable consumption values, which are sodium, manganese and lead, the latter being the most harmful, the degree of toxicity presented on human health as the OMS.

The polyphenol content was determined by the Folin-Ciocalteu and values are in the range of 18.272 to 368.914 mg GAE / 100 g honey was obtained;

the ability or antioxidant activity was determined in a range of 12.948 to 929.536 Trolox Equivalents μmol / 100g sample using ABTS reagent for the calibration curve.

The antibacterial activity was analyzed qualitatively in ATCC strains of *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*; and Antifungal on *C. albicans* ATCC strain; inhibition occurred in all strains except *L. acidophilus* that did not show any inhibition with honey sample, *Candida albicans* and presented inhibition with 3 honey samples analyzed.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

No se conocen investigaciones, que detallen la composición química y propiedades biológicas de las principales mieles producidas en Ecuador; por lo cual, se requiere estudios de este tipo, para conocer sus potencialidades y/o defectos; para brindar, así un valor agregado, no solo con el objetivo de comercialización, sino también como propuesta en la sustentación científica y rescate de los tratamientos relacionados con prácticas de medicina tradicional; con este enfoque, el presente estudio contribuye con el proyecto de investigación de antioxidantes en la línea de investigación de procesamiento de alimentos , que busca dar una alternativa en la soberanía alimentaria e industrial; aportando, en el cuarto eje para la transformación de la matriz productiva, que habla sobre “incluir mayor valor agregado a alimentos frescos y procesados” (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2012).

El presente trabajo tuvo como objetivo general estudiar la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y actividad antimicrobiana en cinco mieles de abejas (*Apis mellifera. L.*) comerciales en la ciudad de Quito, Ecuador.

Mientras que los objetivos específicos fueron:

- Determinar las características físicas y químicas de las mieles en estudio.
- Cuantificar la capacidad antioxidante de las mieles en estudio.
- Determinar la actividad antimicrobiana de las mieles en estudio.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. MIEL DE ABEJA

Según la norma NTE INEN 1 572 1988-04 “la miel de abeja es la sustancia dulce producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas que dichos insectos recogen, transforman, combinan con sustancias específicas y almacenan después en panales”.

La miel, para su consumo no requiere procesamiento o purificación alguna, por ello es el único material endulzante que puede ser almacenado o utilizado inmediatamente después de su extracción. En la antigüedad, se usó exclusivamente, con fines religiosos o medicinales; posteriormente, los griegos y romanos lo incorporaron como ingrediente en su dieta. Durante siglos se constituyó como el único endulzante utilizado; hasta que en los últimos 100 años fue remplazado totalmente por el azúcar de caña o remolacha (Acquarone, 2004).

La miel, es un producto biológico complejo; varía en su composición como consecuencia de la zona, la flora de origen, las condiciones climáticas, la conservación, etc. Su color va de casi incoloro a pardo oscuro; su consistencia puede ser fluida, viscosa, total o parcialmente cristalizada. El sabor y el aroma varían; pero estos, derivan de la planta de origen. Es más apropiado hablar de “mieles” que de “miel” (Guerra, 2015).

Para poder considerar a un producto como miel debe existir la intervención de la abeja melífera, substratos provenientes de las plantas, sustancias propias de las abejas y además estar el producto maduro. Es erróneo nombrar como miel a las llamadas popularmente miel de palma (guarapo de palma cocido), miel de caña (melaza de caña), miel de arce (savia de arce) y jarabes de glucosa (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005).

2.2. CLASIFICACIÓN

La miel de abeja se clasifica por su origen y por su utilización.

2.2.1. POR SU ORIGEN

2.2.1.1. Miel de flores

Procede de los néctares de flores. El néctar es un líquido azucarado, que a su vez se clasifica en tres tipos, según el azúcar que contiene, néctares que contienen exclusivamente sacarosa, néctares que contienen una mezcla equilibrada de sacarosa, glucosa y fructosa, néctares que contienen una mezcla de glucosa y fructosa sea en proporciones iguales o con predominio de uno de los dos azúcares.

Y estas a su vez, se clasifican según la cantidad y tipo de polen que contiene

- Miel monofloral

Procede, principalmente de los néctares de un tipo de flor (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988). Debe tener las características típicas propias y además, el polen de dicha especie debe ser superior al 45 %. Sin embargo, en el caso de que las mieles provengan de plantas cuyas flores son pobres en polen (como sucede con diversas variedades de cítricos), o que posean una particular biología floral (como es el caso de la alfalfa), las últimas investigaciones sobre el tema señalan que se debería modificar la asignación del 45 % del total de polen, como criterio, para definir a una miel como monofloral; y también, para aquellas plantas cuyas flores son ricas en polen en un 70 % como sucede con el eucalipto o el castaño (Tellería, 2001).

- Miel polifloral

Procede, principalmente de los néctares de diversos tipos de flores. Sin que ninguna de ellas pueda considerarse predominante, es decir, que ningún tipo de polen representa el 45 % total (Tellería, 2001).

Recientemente, las mieles poliflorales han sido subdivididas en oligoflorales, cuando domina el polen de una familia botánica, biflorales cuando se presentan el polen dos familias botánicas, y las poliflorales propiamente dichas cuando tres o más familias ploriflorales se presentan con porcentajes $\geq 10\%$ (Ramírez, Navarro, & Díaz, 2011).

2.2.1.2. Miel de mielada

Procede, principalmente de exudaciones de las partes vivas de las plantas. Tienen un color que va desde el pardo muy claro o verdoso a casi negro (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988). Se denominan como miel de bosque o con el calificativo de la especie de origen (miel de encina, abeto, etc.). A diferencia de las mieles de néctar de flores, son dextrorrotatorias (Acquarone, 2004).

En la mielada, los hidratos de carbono están presentes aproximadamente en el 90 % del peso seco total y son principalmente glucosa, sacarosa, fructosa, maltosa, trehalosa (disacárido característico del metabolismo del insecto), melecitosa y erlosa; estos dos últimos producidos por la transglicosidasa, la enzima más característica de la miel. Al igual que en el néctar, su proporción es muy variable; por ejemplo, en el abeto el contenido de sacarosa es alrededor del 60 %, 20 % de melecitosa y 10 % de fructosa; en menor cantidad, se encuentran maltosa, trehalosa, glucosa, etc (Guerra, 2015).

2.2.2. POR SU UTILIZACIÓN

La miel de abeja se clasifica en:

- Clase I: para consumo humano directo.
- Clase II: para usos industriales (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988).

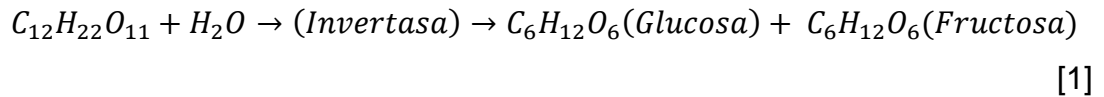
2.3. ELABORACIÓN DE MIEL POR LAS ABEJAS.

Las abejas absorben a su buche el néctar o el mielato, e incorporan secreciones salivares, ricas en enzimas (diastasas, invertasa y glucosa-oxidasa). Durante el transporte a la colmena ya se inicia la transformación del néctar o mielada, en miel, por la acción enzimática, principalmente de la invertasa o sacarasa (Guerra, 2015).

El proceso de maduración, tiene lugar dentro de las celdas abiertas del panal, las cuales son selladas cuando la miel alcanza su densidad máxima. Los panales generalmente son contruidos por las abejas, a partir, de la cera que ellas secretan. La cantidad de cera producida debe ser de 8 a 10 veces la cantidad de miel a almacenar (Hooper, 1976).

Una vez almacenada, en los panales, las abejas cubren cada celdilla llena de miel con cera para impedir el paso de aire, logrando, que el contenido acuoso disminuya, y la concentración de materia seca sea de 60 a 80 % (Guerra, 2015), la transformación propiamente dicha, de néctar a miel se da por la inversión de la sacarosa por una invertasa, a una mezcla de glucosa - sacarosa y la adición de glucosa oxidasa, que produce un incremento de la acidez (por producción de ácido glucónico), más pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno, que contribuyen junto con la baja actividad de agua a la preservación de la miel (White, Subers, & Scheparz, 1963).

Si no se realiza ningún tratamiento térmico, la invertasa seguirá actuando sobre la sacarosa durante toda la vida de la miel según la ecuación 1; mientras más vieja sea la miel tendrá menor contenido de sacarosa (Guerra, 2015).



2.4. PROCESAMIENTO

El procesamiento, desde la recolección de la miel hasta el envasado, comienza con la selección de panales que tiene al menos las 3/4 partes cubiertas por miel. Las etapas del procesamiento y cada uno de los parámetros a controlar en todas las etapas, se observan en la Figura 1.

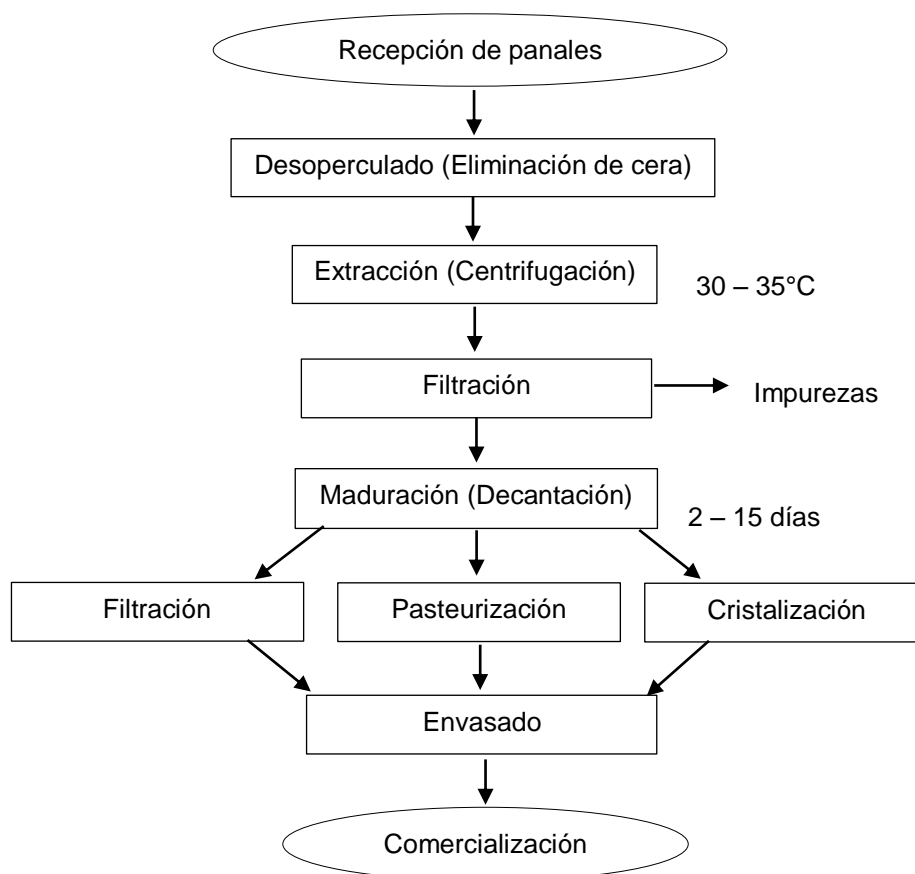


Figura 1. Esquema general de la obtención de miel.
(Guerra, 2015)

2.4.1. EXTRACCIÓN

Los panales son trasladados a la sala de extracción, en donde, se les retira la capa de cera (desoperculado), con un cuchillo eléctrico o con una sierra, e inmediatamente los panales se introducen en un extractor, el cual por fuerza centrífuga extrae la miel (Guerra, 2015).

2.4.2. FILTRACIÓN

Una vez extraída la miel, se filtran las impurezas con una malla fina y se coloca en pequeños tanques donde se eliminan sedimentos y burbujas de aire por decantación durante dos días (Acquarone, 2004).

2.4.3. ALMACENAMIENTO

Se almacena en barriles (Acquarone, 2004) para su posterior distribución y comercialización como materia prima.

2.4.4. PASTEURIZACIÓN

Para algunos tipos de mieles se recomienda una pasteurización suave, se calienta de 78 a 80 °C por dos minutos y se enfría a 54 – 60 °C por 30 minutos, o 71 °C por 1 minuto. Este proceso inactiva las levaduras (Guerra, 2015).

2.4.5. ENVASADO

Para envasar la miel se realiza el control de calidad que consiste en la determinación de la humedad (% H); si el contenido de humedad es inferior al 20 – 23 % se procede a envasar, si el porcentaje de humedad es mayor al 23 %, se mezcla con mieles menos húmedas o se les extrae humedad usando aire caliente o deshumidificador. Luego, se envasa la miel en frascos

generalmente de vidrio; finalmente, se almacena y/o comercializa (Acquarone, 2004). Cuando se envasa miel líquida con alta tendencia a cristalizar, ésta, se almacena 18 a 24 °C, caso contrario a una temperatura de 10 °C.

Para la obtención de la miel crema o cristalizada, se procede a «sembrar» 10 % de cristales de otras mieles granuladas de elevada calidad (cristales de grano fino) en 90 % de miel líquida y se almacena por un mes a temperaturas de 21 a 27 °C. Algunos autores difieren en el tiempo de espera variando desde 5 días a un mes (Acquarone, 2004).

Otra forma de producir la miel crema, es mezclando mieles con tendencia a cristalizar rápidamente, como es el caso de las provenientes de flores compuestas (Ej. girasol), debido a que presentan una relación glucosa / agua mayor a 1.701, lo cual favorece la granulación (Acquarone, 2004).

Durante el almacenamiento, muchas mieles desarrollan con el tiempo cristales de hidrato de glucosa de diferente tamaño; siempre y cuando, no hayan sido calentadas (Acquarone, 2004).

Finalmente, la producción de miel con polen, se realiza mediante el agregado de polen a la miel en diversas cantidades, de acuerdo con la consistencia que se quiera obtener, permitiendo este producto un mejor aprovechamiento del polen, debido a que éste posee una capa externa que no permite su fácil digestión y aprovechamiento cuando se consume en granos (Hooper, 1976).

2.5. PRODUCCIÓN MUNDIAL

La producción mundial estimada por la FAO hasta el año 2001 es de 1.200.000 toneladas, un 33 % en Asia, 30 % en el continente americano y un 25 % en Europa, la Unión Europea produce 130.000 toneladas,

mayoritariamente en los países mediterráneos, incluyendo Portugal (Guerra, 2015).

2.6. MERCADO Y PRODUCCIÓN NACIONAL

En Ecuador las mieles se clasifican de acuerdo a su presentación según la normativa ecuatoriana (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988) en:

- Miel líquida: es aquella en estado líquido, libre de cristales, lista para el consumo directo.
- Miel en Panal: Almacenada por las abejas en panales nuevos, libres de larvas y comercializada en secciones de panales operculados.
- Miel Crema o Cristalizada: Es aquella solidificada como consecuencia de la cristalización, natural o inducida, de la glucosa (Manrique, Párraga, & Guarico, 1995).

Países como Argentina, México, China producen y exportan grandes cantidades de mieles de abeja (Guerra, 2015). Sin embargo, nuestro país tiene una ventaja frente a ellos, la variedad de mieles exóticas que se producen gracias a los numerosos pisos climáticos (Agronegocios, 2015).

El mayor número de colmenas se encuentran en los Andes Ecuatorianos y la principal floración es la de *Eucaliptus glóbulos*, pero se espera un crecimiento importante en la costa y sierra ecuatoriana (Andrade, 2009).

Hasta ahora, no existen aranceles gravados que certifiquen el inicio de las exportaciones. Desfavorablemente, Ecuador importa mieles, siendo este país un lugar ideal para dicha producción (Agronegocios, 2015).

Según Hugo Rosero, responsable del Programa Nacional Sanitario Apícola de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro (Agrocalidad), entidad adscrita al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), en Ecuador hay cerca de *“200 mil colmenas, en la actualidad tenemos apenas 912 explotaciones apícolas con 12188 colmenas catastradas”* (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, 2014).

A partir de los años setentas la producción de miel se realiza con abejas africanizadas, las cuales fueron introducidas al país, pero, estas se ubican en zonas pobladas lo que dificulta su manejo y censo (Andrade, 2009).

2.7. USO INDUSTRIAL

El uso que se le da la miel en la industria alimentaria es diverso, pero generalmente se usa mieles líquidas, de preferencia que presenten un color oscuro e intenso flavor, para de esta forma obtener características organolépticas específicas al producto final las cuales son agradables al consumidor. En algunos casos la miel se usa con el objetivo de aumentar higroscopicidad o ayudar en el pardeamiento de productos horneados (Acquarone, 2004; Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005).

2.8. COMPONENTES DE LA MIEL.

2.8.1. AZÚCARES

Representan aproximadamente el 80 % de los componentes totales y el 95 % al 99 % de los sólidos totales en la miel. En consecuencia son responsables de las propiedades fisicoquímicas de la misma tales como viscosidad, higroscopicidad, poder rotario, propiedades térmicas, etc. Además las propiedades antibacterianas dependen de su concentración (Huidobro y Simal, 1984).

Los azúcares mayoritarios son fructosa (38 %) y glucosa (31 %), como se puede observar en la Tabla 1, resultantes de la hidrólisis de la sacarosa del néctar por acción de la invertasa de las abejas. La sacarosa es el principal disacárido no reductor (Ríos, 2010).

Además de la maltosa, entre los disacáridos reductores se encuentran la isomaltosa, la maltulosa, la turanosa, la nigerosa, la kojibiosa, la melibiosa, b- gentibiosa, la trehalosa, etc., Entre los trisacáridos se pueden mencionar rafinosa, erlosa, melesitosa, maltotriosa, etc (Guerra, 2015).

En la Tabla 2 se puede observar los principales constituyentes de los azúcares de la miel.

Se cree que la tendencia a la granulación puede depender de la relación fructosa/glucosa (Acquarone, 2004).

Tabla 1. Azúcares presentes en la miel de abeja

Componente	Valor medio (%)	Valores extremos (%)
Agua	17.20	13.40 – 22.90
Fructosa	38.20	30.90 – 44.30
Glucosa	31.30	22.0 – 40.80
Sacarosa	1.30	0.3 – 7.6
Maltosa	7.30	2.7 – 16.0
Otros azúcares	3.10	0 – 13.2
Oligosacáridos	1.50	0.1 – 8.5

(Guerra, 2015)

Tabla 2. Principales constituyentes de los azúcares de la miel.

Monosacáridos	Disacáridos	Trisacáridos	Sacáridos complejos
Fructosa	Gentibiosa	Centosa	Isomaltopentosa
Glucosa	Isomaltosa	Eriosa	Isomaltotetraosa
	Maltosa	Isomaltotriosa	
	Maltulosa	Isopanosa	
	Nigerosa	Laminaritriosa	
	Palatinosa	Maltotriosa	
	Sacarosa	Melezitosa	

	Turalosa	Panosa	
--	----------	--------	--

(Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010)

2.8.2. AGUA

El contenido de agua es uno de los parámetros más importantes al igual que el contenido de azúcares, porque influye en el peso específico, viscosidad, sabor, conservación, palatabilidad, solubilidad y en definitiva el valor comercial (Acquarone, 2004). Los valores habituales de agua están en torno al 17-18 %, pero se pueden encontrar valores entre 14-25 % (Guerra, 2015).

Cuando el contenido en agua es superior al 20 %, la miel puede presentar daños como fermentación, cambio de olor, sabor y aumentar la tendencia a cristalizar. Cuando la humedad es inferior al 15 %, la miel tiene una viscosidad demasiado elevada, lo cual dificulta su manejo durante la comercialización y puede ocasionar su cristalización en una sola masa.

La miel es higroscópica, debido a su baja actividad de agua (a_w) con respecto al medio ambiente, por lo tanto tiene gran tendencia a captar agua.

2.8.3. ÁCIDOS ORGÁNICOS

La elevada acidez de la miel es el factor que le da el flavor característico y en cierta parte, es responsable de sus propiedades antisépticas y capacidad antimicrobiana. Todos los ácidos, contribuyen al valor del pH de la miel que es 3.9 con un rango de 3.4 a 6.1. Constituyen aproximadamente el 0.6 % (0.17 - 1.17 %) y existen al menos 20 ácidos orgánicos (Guerra, 2015). El principal ácido es el glucónico en un 70-80 % de los ácidos totales (Stinson, Subers, & Petty, 1960), que se forma por acción de la glucosa oxídasa (de la abeja) sobre la glucosa. Se supone que este ácido, se genera a partir del

néctar, por acción de las abejas; durante el proceso de transformación a miel (Acquarone, 2004).

Otros ácidos orgánicos, también contribuyen a la acidez de la miel; los cuales son málico, butírico, cítrico, tartárico, maleico y succínico, fórmico y oxálico. Sin embargo, un valor elevado de los mismos indicaría alteración del producto, por fenómenos fermentativos. La acidez se expresa en meq / 1000 g se ún NTE INEN 1 572.

2.8.4. ENZIMAS

Son de gran interés por sus aplicaciones en la industria alimentaria y por su efecto en las características organolépticas y fisicoquímicas de la miel. Las principales enzimas presentes en la miel son aquellas proporcionadas por los insectos invertasa, amilasa y glucosa oxidasa. Otras enzimas presentes proporcionadas por las plantas que son catalasa y fosfatasa ácida (Acquarone, 2004).

Las enzimas no tienen interés nutricional, la diastasa y la invertasa se utilizan como indicadores de la manipulación sufrida durante su proceso y del estado de conservación de la miel. Por otra parte, el peróxido de hidrógeno que se produce por la acción de la glucosa-oxidasa sobre la glucosa se cree que contribuye a la ligera acción bacteriostática de la miel (Guerra, 2015).

Algunas de las enzimas que se puede encontrar en la miel se citan en la Tabla 3, entre las cuales están:

- Invertasa: es incorporada a la miel, por la abeja, cuando traspasa la miel desde el buche a las celdillas del panal (Bachmann, 2007) y es la responsable, de la transformación de la sacarosa presente en el néctar a fructosa y glucosa, durante el proceso de elaboración y maduración de la

miel dentro de los panales. La cantidad presente después de la recolección y procesamiento de la miel es pequeña, ya que se inactiva casi totalmente, por calentamiento durante 10 minutos (Acquarone, 2004).

- Amilasa: su presencia en la miel es considerada como un índice de calidad. Debido a que esta enzima es muy estable al calor, la cantidad presente en la miel indica el tratamiento térmico al que ha sido sometida la miel. Así el Codex Alimentarius incluye su determinación como un estándar de calidad. El origen, de la misma, no es claro; algunos dicen que proviene del néctar, otros de la abeja y otros del polen (Acquarone, 2004).

- Glucosa oxídasa: La glucosa oxídasa presente en las glándulas de las abejas, es la responsable, en gran medida de la acidez de la miel. Por acción de la misma sobre la glucosa presente en el néctar se produce ácido glucónico más pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno, que contribuyen junto con la baja a_w , a la preservación de la miel (White, Subers, & Scheparz, 1963). La actividad de la misma, cesa cuando la miel alcanza su máxima viscosidad, durante el proceso de transformación del néctar en miel. La presencia del peróxido de hidrógeno explica las propiedades bactericidas de la miel, que en un momento fueron atribuidas a un factor antibiótico denominado Inhibina (White, Subers, & Scheparz, 1963).

- Catalasa: Se encuentra, en pequeñas cantidades y proviene de la glándula de la abeja. Produce la descomposición del peróxido de hidrógeno (producida por la glucosa oxídasa) en agua y oxígeno. Esto, explicaría las cantidades variables de peróxido de hidrógeno, encontradas en diferentes mieles; y, su correspondiente actividad bacteriostática (White, Subers, & Scheparz, 1963).

- Fosfatasa ácida: La principal fuente de la fosfatasa en la miel, es el polen, y podría ser la responsable de la presencia de fósforo inorgánico en la miel (Acquarone, 2004).

Tabla 3. Concentración de enzimas en la miel

Enzima	Actividad Media unidades	Número de muestras analizadas	Unidades
a – Glucosidasa (Invertasa)	7.5 – 10	1468	g de sacarosa hidrolizado / 100 g de miel
Diastasa (α y β -amilasa)	16 - 24	1483	g de almidón convertido / 100 g de miel
Glucosa oxidasa	20.8	263	mg de H ₂ O ₂ acumulados / g de miel
	80.8	90	
	167	24	
	210	10	
Catalasa	4.97	28	actividad catalítica / g
	86.9	10	
Fosfatasa ácida	13.4	25	mg P/ 100 g de miel/ 24 horas.
	5.07		

(Acquarone, 2004)

2.8.5. VITAMINAS

Proviene del néctar y el polen. Se encuentran presentes en pequeñas proporciones, dependiendo de, la cantidad y calidad del origen floral de la miel. La B y la C (0.5 - 2 mg / 100 g); según Guerra (2015), son las que se encuentran en mayor proporción, aunque también se han detectado pequeñas cantidades de vitamina A, E, D, y K (Acquarone, 2004). El contenido disminuye en las mieles filtradas ya que disminuyen los granos de

polen, que son los que poseen el mayor contenido de estos elementos (Guerra, 2015).

2.8.6. PROTEÍNAS

El porcentaje de nitrógeno, en la miel, por lo general es bajo y variable. La miel presenta muy bajos niveles de proteína; al igual que las enzimas, su procedencia es doble; vegetal y animal (Guerra, 2015).

2.8.7. AMINOÁCIDOS LIBRES

El contenido medio de aminoácidos libres es de 0.1 %, aunque los valores son muy variables, pueden oscilar entre 0.05 y 0.4% (Guerra, 2015). El aminoácido mayoritario es la prolina con un 80 % del total de aminoácidos, seguido de la fenil-alanina (Wootton, Edwards, & Faraji, 1976). Pese a la pequeña cantidad de aminoácidos, se cree, que tienen un papel fundamental en el desarrollo del color, flavor y aroma de las mieles durante su procesamiento y almacenamiento. Esto, se debe a la reacción de los grupos amino con los carbonilos; para formar compuestos coloreados y numerosos productos volátiles; como consecuencia de la reacción de Maillard (Wootton, Edwards, & Faraji-Haremi, 1976; Pereyra, Burin, & Buera, 1999).

2.8.8. MINERALES

El porcentaje de minerales en la miel es bajo, entre un 0.05 y 1.5% (Guerra, 2015); las proporciones de minerales presentes en la miel varía, según; el origen floral, geográfico y las técnicas de extracción. Existe una cierta correlación, entre el contenido de sustancias minerales y el color; en general, cuanto más oscura es una miel, mayor es su contenido en sales minerales.

Esta posee, la mayoría de los elementos minerales esenciales para el organismo humano. Entre los cuales se puede destacar potasio, calcio,

azufre, cloro, hierro, magnesio, yodo, sodio, fósforo, manganeso, silicio, boro, cromo, aluminio, níquel, plomo, estaño, zinc, cadmio. El mineral que se encuentra en mayor proporción, es el potasio, que representa aproximadamente el 30 % de las cenizas totales según Guerra (2015). En la Tabla 4 se puede observar la concentración en ppm de cada metal por miel.

Tabla 4. Concentración de minerales en Miel

Elemento	Color	Número de muestras analizadas	Rango ppm de miel	Promedio ppm de miel
Potasio	Clara	13	100 – 538	205
	Obscura	18	115 - 4733	1676
Sodio	Clara	13	6 -35	18
	Obscura	18	9 - 100	76
Calcio	Clara	14	23 – 68	49
	Obscura	21	5 - 266	51
Magnesio	Clara	10	11 – 56	19
	Obscura	6	7 - 126	35
Hierro	Clara	10	1.20 – 4.80	2.40
	Obscura	6	0.70 – 33.50	9.40
Cobre	Clara	10	0.14 – 0.70	0.29
	Obscura	10	0.36 – 1.04	0.56
Manganeso	Clara	13	0.17 – 0.44	0.30
	Obscura	14	0.46 – 9.53	4.09
Cloro	Clara	10	23 – 75	52
	Obscura	13	28 - 201	113
Fósforo	Clara	14	23 – 50	35
	Obscura	21	27 - 58	47
Azufre	Clara	10	36 – 108	56
	Obscura	13	56 - 126	100
Sílice	Clara	10	7 – 12	9
	Obscura	10	5 - 28	14

(Acquarone, 2004)

2.9. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Las mieles presentan una gran diferencia en cuanto a color, aroma, sabor, humedad, acidez, etc., características, que le confieren identidad a cada una, y de acuerdo a ellas son apreciadas por los consumidores (Sanz & Sanz, 1994). La variabilidad de estas características, depende del material vegetal del cual las abejas han extraído el néctar para elaborar su miel; en consecuencia, también de la región geográfica en que se encuentra ubicada la colmena (Córdova, Ramírez, Martínez, & Zaldívar, 2013); de allí que, para caracterizar una miel, los análisis físico-químicos y organolépticos, deben estar estrechamente relacionados, con el origen botánico de la misma.

2.9.1. COLOR

Es una característica de tipo organoléptico, que se asocia a la calidad del producto, por ello, el color es uno de los atributos que puede determinar el rechazo o aceptación de la miel. La naturaleza del color; como, parámetro discriminante del origen botánico y geográfico de las mieles, permite complementar otras propiedades y factores de calidad como el contenido de minerales, polifenoles, actividad diastásica, aminoácidos libres e hidroximetilfurfural (Salamanca & Serra, 2002). Respecto a los componentes responsables del color tampoco se conoce mucho, pero se cree, que el mismo podría estar determinado por la presencia de polifenoles, taninos, sustancias coloreadas etc (Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010). El color de las mieles varía desde los tonos blancos hasta los pardos oscuros; existiendo mieles rojizas, amarillentas, verdosas, aunque predominan los tonos castaño - claro o ámbar (Acquarone, 2004) .

2.9.2. HUMEDAD

La humedad en la miel deberá ser de un 20 % como máximo en mieles tipo I y de 23 % máximo en mieles tipo II según la NTE INEN 1 572. Las

variaciones en el contenido de humedad, dependen de diversos factores; entre los cuales uno de los más importantes es el período de tiempo que la miel se encuentre dentro del panal (lapso de maduración de la miel). De acuerdo a varios autores, este tiempo es de alrededor de 3 meses, es decir, con 75 % o más del panal operculado (Bianchi, 1993).

2.9.3. CENIZA

Las cenizas son, los residuos inorgánicos de la miel, que permanecen en la muestra después de la ignición u oxidación completa de la materia orgánica (López , 2014).

2.9.4. ACIDEZ TOTAL Y PH

El bajo pH (3.5 a 5.5) de la miel, se debe, a los ácidos orgánicos; esto proporciona estabilidad en la misma. Son varios los ácidos orgánicos, presentes en la miel; el que predomina es el ácido glucónico (Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010).

La acidez total, es la suma de las sustancias ácidas que pueden valorarse en una muestra de miel, por la adición de una solución alcalina de normalidad conocida (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988).

2.9.5. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Es un parámetro que se utiliza para conocer el origen geográfico de las mieles, ya que, está relacionado con la concentración de sales minerales, ácidos orgánicos y proteínas. La conductividad eléctrica es una técnica indirecta para determinar el contenido de minerales; ya que, es estable durante el almacenamiento del alimento; además, indica si las abejas han

sido alimentadas con azúcares. El rango de conductividad eléctrica en la miel es de 0.60 y 2.17 mS / cm (mili Siemens /centímetro) (Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010).

2.10. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Se conoce como actividad o capacidad antioxidante a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. En los alimentos de origen vegetal, se atribuye esta capacidad a la presencia de compuestos fenólicos, especialmente a los flavonoides (Ciappini, Stoppani, Martinet, & Alvarez, 2013), en el caso de la miel, se destaca pinocembrina, pinobanksin, chrysin, galagin (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005). Las mieles oscuras, presentan generalmente, mayores niveles de estas sustancias, por lo tanto, las características antioxidantes son mayores.

Existe un consenso, de que la actividad antioxidante de los flavonoides, resulta de, una combinación de las propiedades, quelantes del hierro y captadoras de radicales libres, además a la inhibición de oxidasas (lipoxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y xantina oxidasa), que evitan, la generación “in vivo” de especies reactivas del oxígeno (ROS), así como; hidroperóxidos orgánicos; se ha podido establecer, que también inhiben, enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2, al mismo tiempo que estimulan otras, con reconocidas propiedades antioxidantes (catalasa y superóxido dismutasa) (Martínez, González, Culebras, & Tuñón, 2000).

La capacidad antioxidante de los alimentos, ha despertado gran interés en los últimos tiempos, ya se comercializan extractos con capacidad antioxidante, usados como ingredientes alimentarios; algunos alimentos se comercializan enfatizando esta propiedad, como un atributo de fundamental

interés, para la conservación de la salud o para la prolongación de la vida útil de los productos (Blasa, Candiaracci, Accorsi, Piacentini, & Piatti, 2007).

2.11. CAPACIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA

En las civilizaciones antiguas se usaba la miel de abeja como un antiséptico, en curaciones de heridas, úlceras, quemaduras e infecciones, ya que también presenta actividad antiinflamatoria.

Se han presentado varios estudios, en los que se reporta el efecto inhibitorio, sobre aproximadamente 60 diferentes especies bacterianas, así como; actividad antifúngica contra algunas levaduras y especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Lusby, Coombes, & Wilkinson, 2005).

Varios autores, atribuyen la propiedad antimicrobiana al peróxido de hidrógeno, como el principal agente bactericida (Wahdan, 1998); compuesto que se va perdiendo a medida que pasa el tiempo de almacenaje de las mieles. En segundo lugar, se le atribuye dicha actividad a las características físico-químicas inherentes a las mieles, como son el alto contenido de azúcar (cercano al 80 % w/w) y el pH ácido (3 y 4.5) (Molan, 1992; Montenegro, Salas, Peña, & Pizarro, 2009).

Además esta propiedad, depende de factores relacionados con su composición como alta presión osmótica, baja actividad de agua A_w (0.5-0.65), sistema glucosa oxidasa (forma agua oxigenada), bajo nivel de proteínas (Alta relación C/N), bajo potencial rédox (Eh), por el alto contenido en azúcares reductores, alta viscosidad (pocas corrientes de convección e intercambio gaseoso), presencia de antioxidantes (pinocembrín, pinobanksin, chrysin, galagin), y otros agentes químicos lisozyma, ácidos (fenólicos), terpenos, alcohol benzílico, etc. (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005).

2.11.1. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA NO PERÓXIDO DEPENDIENTE.

En las mieles de abeja también existen compuestos de tipo no peroxídicos, que generan actividad antibacteriana; estos varían según las especies vegetales en que las abejas recogen el néctar (Cooper, 2007). Por otra parte, White, Subers, & Scheparz, (1963), atribuyen dicha actividad al ácido glucónico, derivado de la catálisis de la glucosa, cuya concentración varía marcadamente entre diferentes tipos de mieles.

Molan (2006) y Cooper (2007) coinciden en señalar que la desodorización rápida de las heridas es probable que ocurra por la acción antibacteriana de la miel. Se sabe que no todas las mieles tienen la misma actividad antimicrobiana, esto debido a las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno y de factores no peróxido (Zamora & Arias, 2011), los cuales dependen del origen de la miel (Bansal, Medhi, & Pandhi, 2005), como la fuente de néctar, área geográfica y procesamiento, al cual es sometida (Lusby, Coombes, & Wilkinson, 2005).

2.12. INCONVENIENTES DE LA MIEL

2.12.1. ALTERACIONES

La miel puede sufrir, ciertos cambios o transformaciones, que pueden ser de tipo organoléptico, sin alterar su valor nutritivo; o de tipo químico, en el que existe transformación a productos diferentes. Los cuales son:

2.12.1.1. Cristalización

Es una de las alteraciones más notorias para el consumidor; la solidificación de la miel se debe a la precipitación de glucosa. Este fenómeno es natural en todas las mieles, aunque su velocidad es directamente proporcional al contenido de glucosa, a la presencia de partículas como polen, cera, o burbujas de aire que favorecen la formación de núcleos de cristalización, e

inversamente proporcional al contenido de agua y a la viscosidad (Guerra, 2015).

Si la relación glucosa/agua en la miel es mayor a 2.1 cristaliza muy rápidamente, pero se detiene o retrasa si la temperatura está por debajo de 10 °C o sobre los 25 °C. Los envases de polietileno de baja densidad permiten la pérdida de agua y favorecen este proceso. La cristalización pueda darse de diferentes formas, separación de fases (masa blanquecina en el fondo del envase), presencia de estelas blanquecinas (marmolización) o la cristalización incompleta o fraccionada (masas cristalinas compactas intercaladas con miel licuada de alto contenido en agua) (Guerra, 2015).

2.12.1.2. Pardeamiento

Es el cambio de color característico de la miel a uno más oscuro. Se produce por la inestabilidad de la fructosa, en el medio ácido del producto, y esto da lugar a la formación de hidroximetilfurfural (HMF) y polímeros de color pardo.

2.12.1.3. Fermentación

Es un proceso que produce la pérdida de las características organolépticas de la miel de forma irreversible. La germinación y desarrollo de levaduras osmófilas, son las responsables de esta alteración; pueden provenir del néctar o de una contaminación posterior. En el proceso de fermentación se desarrollan alcoholes y polioles (principalmente alcohol etílico y ácidos volátiles y no volátiles) y el desprendimiento de gas carbónico. Este fenómeno se produce generalmente en mieles que han sido recolectadas antes de alcanzar el grado de maduración, o en mieles cristalizadas, en su parte más líquida (Guerra, 2015).

2.12.2. PELIGROS BIOLÓGICOS.

La miel, al igual que todo producto de origen biológico, presenta una flora bacteriana propia, pero reducida, debido a las propiedades antibacterianas que presenta; lo que limita la presencia de la mayoría de microorganismos, a excepción de levaduras y esporas de bacterias *Bacillus* y *Clostridium*. En la miel no pueden crecer formas vegetativas de bacterias patógenas y por lo tanto tampoco se puede producir toxina, debido a que no sobreviven a un pH inferior a 4.6. Pero, si puede contener esporas, las cuales germinan y colonizan el tracto gastrointestinal de los individuos que lo ingieren (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005).

Las levaduras presentes en la miel son del tipo osmófilo; se han investigado levaduras pertenecientes a los géneros *Cándida*, *Pichi* y las que pertenecen al grupo *Zygosaccharomyces* (Farris, Fatichenti, Deiana, & Agostini, 1985).

Estas últimas son las responsables de la fermentación de la miel, cuando las condiciones de humedad y temperatura son favorables. Ninguna de las especies de levaduras son patógenas, por tanto, su presencia y proliferación son un problema de calidad del producto, no de seguridad alimentaria (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005).

2.12.2.1. Químicos de origen biológico.

Existen sustancias tóxicas naturales en la miel, que las abejas toman del néctar de ciertas plantas. Como por ejemplo, los alcaloides de la pirrolicidina, toxina presente en la miel, de algunas especies de rododendros, procedentes de Turquía, Nueva Zelanda, Japón, Australia y EE.UU.

En menor medida se han detectado en mieles de otras familias de plantas (especies de *Ericáceas* y en *Echium plantagineum*) (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005); los cuales tiene efectos secundarios en el ser

humano, del tipo alucinógeno o en mayor concentración, intoxicación sanguínea.

2.12.3. PELIGROS QUÍMICOS

Se puede encontrar en la miel, contaminantes que provienen de tratamientos fitosanitarios y veterinarios. Se ha encontrado también, residuos de medicamentos en distintas partes del mundo, normalmente residuos de antibióticos y de sulfamidas (tetraciclinas y cloranfenicol en mieles de China, y nitrofuranos en mieles argentinas) (Hernández, Bentabol, Modino, & García, 2005); lo cual es controlado por la Organización Mundial de la Salud.

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. MUESTRAS

El estudio se realizó en 5 muestras de mieles comerciales, tomadas de distintos centros de abasto y expendio de la ciudad de Quito - Ecuador; dichas muestras fueron recolectadas en el último trimestre del año 2015 y almacenadas a temperatura ambiente hasta su análisis. Dichas muestras, se encuentran codificadas según la Tabla 5, en la cual se indica el tipo de floración a la que corresponden, 3 muestras poliflorales y 2 muestras monoflorales según indica el etiquetado de las mismas.

Tabla 5. Muestras analizadas

Muestras	Tipo de floración
I3	Polifloral
II4	Polifloral
II5	Monofloral "Eucalipto"
III5	Polifloral
III6	Monofloral "Aguacate"

3.2. CONDUCTIVIDAD

Para determinar la conductividad, se tomó en consideración el procedimiento de IHC, (2009); se pesó 10 ± 0.0010 g de miel líquida y homogenizada, en un vaso de precipitación, se añadió 75 ml de agua destilada, se mezcló, se sumergió el electrodo del conductímetro (Mettler Toledo) previamente calibrado. La experimentación se realizó para 5 muestras de mieles comerciales con 6 repeticiones para cada una y se midió en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

3.3. PH

Para la determinación de pH se tomó en consideración el procedimiento de IHC, (2009); se pesó 10 ± 0.0010 g de miel líquida y homogenizada en un vaso de precipitación, se añadió 75 ml de agua destilada y se homogenizó con un agitador magnético, se sumergió el electrodo de pH (Mettler Toledo) previamente calibrado. La experimentación se realizó para 5 mieles comerciales con 6 repeticiones, para cada una.

3.4. DENSIDAD

Se diluyó 1 ± 0.0010 g de miel líquida y homogenizada en 40 ml de agua destilada. Se midió en el densímetro, 5 muestras de miel comercial por triplicado. Antes de cada medición se limpió el equipo con acetona y agua, se aspiró residuos de muestra y reactivo con una bomba al vacío según el procedimiento.

3.5. HUMEDAD

Este método se basa en la desecación del producto hasta obtener una muestra seca o deshidratada. Se emplearon 5 muestras de mieles comerciales con 3 repeticiones para cada una.

Para la determinación del contenido de humedad se pesó 2 ± 0.010 g de miel líquida y homogenizada en crisoles previamente tarados, se los colocó en la mufla a una temperatura de 120 °C de 5 a 6 horas aproximadamente, hasta peso constante. Se enfrió los crisoles con la muestra seca en un desecador durante 15 a 30 minutos. El contenido de humedad se expresó en porcentaje de pérdida de peso y se determinó mediante la ecuación 2:

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

[2]

Dónde:

- Hg = Porcentaje de pérdida de peso por desecación (%)
- M = Masa del crisol vacío (constante)
- M1 = Masa del crisol con la porción de ensayo desecada (g)
- M2 = Masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

3.6. CENIZA

Este método se basa en la incineración del producto hasta obtener un residuo incombustible. Se emplearon 5 muestras de mieles comerciales y 3 repeticiones para cada una.

Para la determinación del contenido de cenizas totales; se realizó la metodología según NTE INEN 1636:1989 (2012) con las siguientes modificaciones, se pesó 4 ± 0.0010 gramos de miel líquida y homogenizada en crisoles previamente tarados, se desecó previamente a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 6 horas aproximadamente, se calcinó el residuo seco en una mufla a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 6 - 8 horas aproximadamente y se enfrió en un desecador por 30 minutos. El contenido de cenizas totales se expresó en porcentaje en masa y se obtiene de acuerdo a la ecuación 3:

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

[3]

Donde:

- P1: Peso de muestra calcinada (g)
- P2: Peso del crisol tarado (g)
- M: Peso de la muestra (g).

3.7. ACIDEZ TOTAL

Se realizó la experimentación según la NTE INEN 1634 (2012) con algunas variaciones, se tituló las soluciones de 10 ± 0.0010 gramos de miel líquida y

homogenizada en 75 ml de agua destilada con hidróxido de sodio 0.05N, hasta alcanzar pH 8.5, medidos con un pHmetro (Mettler Toledo); luego, se añadió 10 ml de hidróxido de sodio 0.05N y se retituló rápidamente con ácido clorhídrico 0.05N, hasta pH 8.3. Se realizó una titulación del blanco con hidróxido de sodio 0.05N hasta pH 8.3. Se experimentó con 5 muestras de miel y 6 repeticiones para cada una. La acidez total, se expresó en meq / kg miel según la ecuación 4.

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

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

$$Acidez\ Total = acidez\ libre + lactonas$$

[4]

Para expresar la acidez calculada como porcentaje de ácido fórmico, los valores obtenidos por este método en miliequivalentes / kg pueden convertirse en porcentaje de ácido fórmico, multiplicándolos por 0.004603 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1988).

3.8. METALES PESADOS

Se emplearon 5 muestras de mieles comerciales. Se realizó digestión por vía húmeda (DVH). Las muestras fueron preparadas según el método 920.180 de la A.O.A.C (2000b) con ciertas modificaciones. Se colocó 2 ± 0.0010 g de miel líquida y homogenizada en un balón de 50 ml. Se diluyó la miel con agua ultrapura. Se colocó 10 ml de ácido nítrico. Y se dejó reposar 30 minutos. Se aforó hasta a un volumen de 50 ml cada muestra. En algunos metales fue necesario realizar una dilución extra de 0.5 ml en 25 ml de agua ultrapura para obtener mejores resultados en la curva de calibración; se midió la concentración de 10 metales los cuales fueron plomo, cromo, cobre, níquel, plata, sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso; las soluciones realizadas para la curva de calibración de cada metal se procesó con estándares comerciales ©AccuStandard y ©ULTRASCIENTIFIC Analytical Solutions o sus respectivas sales. La medición se hizo en un

espectrofotómetro de absorción atómica ©Varian spectrAA 55. Los resultados se expresaron en mg de metal / 100 g de muestra húmeda.

3.9. FENOLES TOTALES

Se emplearon 5 mieles comerciales. Para el proceso de determinación se usó el método de Folin- Ciocalteu con las siguientes modificaciones, se diluyó 1 g de miel en 10 ml de agua destilada, a 0.5 ml de la solución de miel se añadió 2.5 ml de reactivo de Folin Ciocalteu 0.2 N y se dejó reposar por 5 minutos; finalmente se colocó 2 ml de Carbonato de Sodio y se dejó reposar por 2 horas. Las concentraciones de fenoles totales se determinaron a partir de lecturas de absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Enterprise Plus

Series UPS, realizando una curva de calibración de Acido Gálico a las siguientes concentraciones 3 mM, 2 mM, 1.5 mM, 1 mM, 0.75 mM, 0.5 mM; el resultado se expresó en mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de miel.

3.10. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Para la determinación de capacidad antioxidante en las 5 muestras de mieles comerciales, analizadas por triplicado se tomó 1 g de miel pura y se diluyó en 10 ml de agua destilada. Se preparó; con 16 horas de anterioridad a la experimentación, el reactivo ABTS 7 nM y Peroxo Sulfato de Potasio 2.45 mM; y se lo conservó en la obscuridad. Se preparó también TROLOX (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) para la curva de calibración, se pesó 16.3 mg en 25 ml de etanol, que fue la solución madre, al 100 %; y se diluyó a 75 %, 50 %, 25 %, 12.5 %. En el espectrofotómetro Enterprise Plus Series UPS, se midió a una longitud de onda de 734 nm. Para la toma de las medidas de absorbancia, tanto para la curva de calibración como para las muestras, se colocó 1 ml de ABTS y 10 µl de Trolox o muestra según corresponda. Las mediciones se hicieron cada 60 y

300 segundos, para conseguir de esta forma la estabilidad de la reacción y poder medirla.

3.11. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA

Se realizó el análisis de la actividad antimicrobiana de 5 muestras de mieles comerciales cada una por triplicado. La actividad antimicrobiana se midió frente a varias cepas de microorganismos ATCC. Gram positivos *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 314); Gram negativos *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Escherichia coli* (ATCC 9637); y en el caso de levaduras *Cándida albicans* (ATCC 10231).

En un tubo con 10 ml de agua estéril se añadió 4 asadas del microorganismo y se homogenizó. De dicho tubo se tomó 500 µl y se resembró en cajas Petri con un medio de cultivo específico para cada microorganismo. Se incubó a 24 °C por 1 día en el caso de las bacterias y 5 días para hongos y levaduras, con ciertas excepciones.

Pasado el tiempo de incubación, se realizó 4 ponches o perforaciones en el agar de cada placa Petri; se colocó en ellos las diluciones de mieles en distintas concentraciones que fueron 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. La medición de los halos de inhibición se procesó dos veces al día durante 3 días. Para poder verificar la variación del crecimiento del halo de inhibición.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

4.1.1. RESUMEN GENERAL

En la Tabla 6 se muestra un resumen general de los valores obtenidos mediante experimentación para cada una de las muestras analizadas, así como la desviación estándar media, el porcentaje de error medio y los valores máximos y mínimos.

Tabla 6. Resumen general. Propiedades fisicoquímicas

Muestras Analizadas	pH	Conductividad mS / cm	Densidad g / cm ³	% Humedad	% Cenizas	Acidez meq / 1000g
I3	4.130	0.530	1.4091	12.7676	0.2938	37.3
II4	3.420	0.782	1.4078	14.2824	0.0921	25.9
II5	4.155	0.544	1.4118	12.6800	0.1097	38.2
III5	3.105	0.260	1.4101	6.9871	0.0046	65.9
III6	5.109	0.495	1.4101	11.5925	0.4602	76.6
Media	3.984	0.522	1.4098	11.6619	0.1921	48.8
Desviación Estándar media	0.015	0.002	0.0001	0.4436	0.0180	0.4
%Error medio	0.363	0.000	0.01	3.8463	9.1197	1.0
Máximo	5.109	0.782	1.4118	14.2824	0.4602	76.6
Mínimo	3.105	0.260	1.4078	6.9871	0.0046	25.9

4.1.2. CONDUCTIVIDAD

Los valores de conductividad eléctrica en las mieles estudiadas son los presentados en la Figura 2.

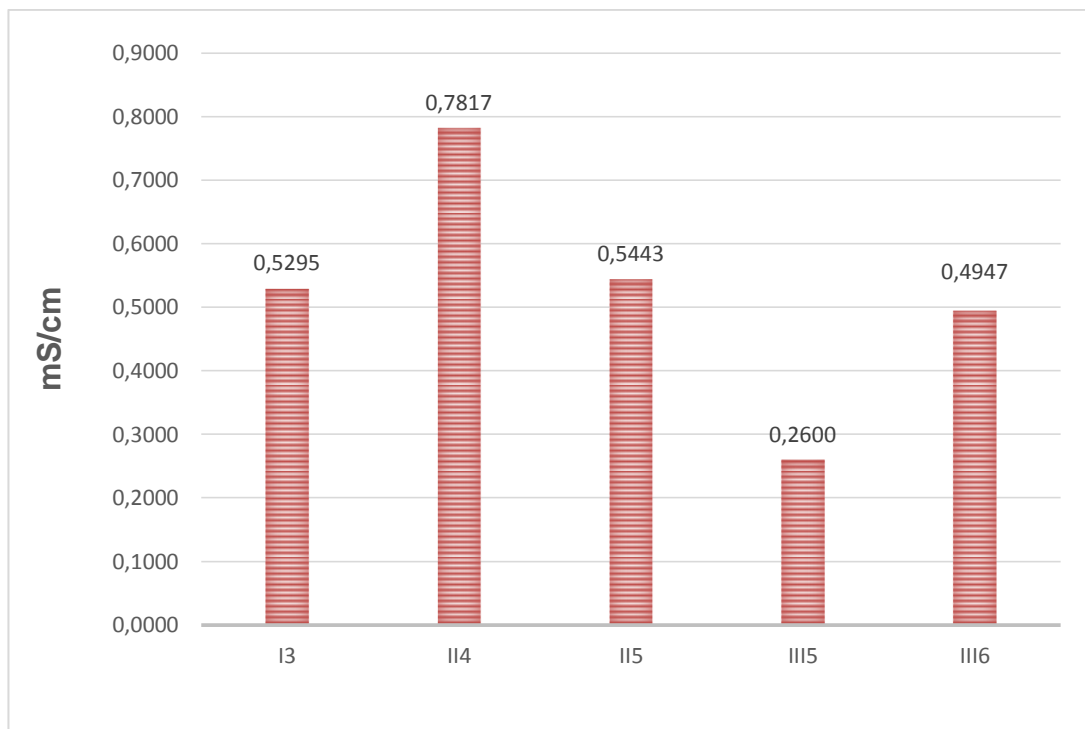


Figura 2. Conductividad eléctrica

En la normativa ecuatoriana, no existe un valor de referencia para conductividad eléctrica. Sin embargo, en la normativa chilena se tiene datos de referencia para esta propiedad, en la cual nos dice que los valores están entre 0.22 y 1.52 mS / cm según experimentación realizada en este país (Instituto Nacional de Normalización, 2007). Existen estudios realizados en Argentina, donde los valores de conductividad eléctrica obtenidos por experimentación para 19 muestras de miel son 157 a 915 dS / m (Colosimo & Galetti, 2010). La Guía de prácticas para higiene, inspección y control de la miel de la Universidad de Murcia nos indica que las mieles florales y las mezclas de mieles florales tienen valores de conductividad eléctrica menores de 0.8 mS / cm; que las mieles de mielada y de castaña poseen valores mayores de 0.8 mS / cm con ciertas excepciones (Periago, 2015). El rango de conductividad eléctrica en la miel es de 0.60 y 2.17 mS / cm (mili Siemens/centímetro) (Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010).

Con toda esta información se puede deducir que todos los valores obtenidos experimentalmente en las 5 muestras de miel analizadas están dentro de los rangos presentados por la mayoría de los estudios antes citados.

Se tiene una diferencia con el estudio de Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, (2010) con respecto al valor mínimo, el estudio dice que este es de 0.60 mS / cm, pero en la experimentación el valor mínimo obtenido es 0.22 mS / cm.

Cabe resaltar que, la conductividad eléctrica es un parámetro que nos ayuda a determinar el origen botánico de la miel; actualmente sustituye la determinación de cenizas en análisis de rutina. Esta medición es directamente proporcional al contenido de cenizas y a la acidez de la miel (Periago, 2015).

4.1.3. PH

El valor de pH no se encuentra normado en el país, pero al comparar los valores obtenidos y presentados en la Figura 3, con los valores de diferentes estudios como por ejemplo entre 3.4 y 6.1 (RIOS, 2010; Guerra, 2015), 3.5 a 5.5 (Ulloa, Mondragón, Rodríguez, Reséndiz, & Rosas, 2010); vemos que los obtenidos experimentalmente están dentro de estos rangos, siendo el mínimo 3.017 y el máximo 5.109 en la miel III6, la cual es de origen monofloral de Aguacate.

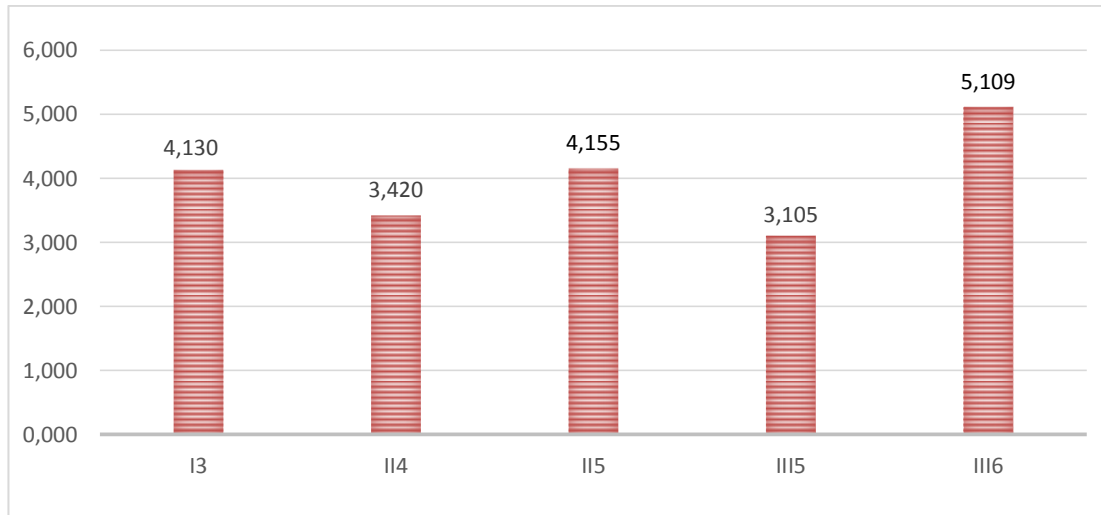


Figura 3. pH

El pH ácido proporciona estabilidad a la miel, y está directamente ligado a la cantidad de ácidos que esta contiene. El medio ácido de la miel, hace que sea un producto libre de bacterias patógenas, en forma vegetativa. Y a su vez contribuye al efecto bactericida que se pretende estudiar y demostrar.

4.1.4. DENSIDAD

Según el Instituto Ecuatoriano de Normalización (1988) en la NTE INEN 1572 la densidad relativa mínima a 27 °C es de 1.39 para mieles clase I y los datos encontrados en bibliografía nos indican una densidad mínima de 1.3 a 1.4 g / mL (Bachmann, 2007). Esto quiere decir, que los valores obtenidos por experimentación presentados en la Figura 4, de las 5 mieles analizadas están cumpliendo con la normativa, siendo el rango de 1.4078 a 1.4118 g / mL con una media de 1.4098 g / mL

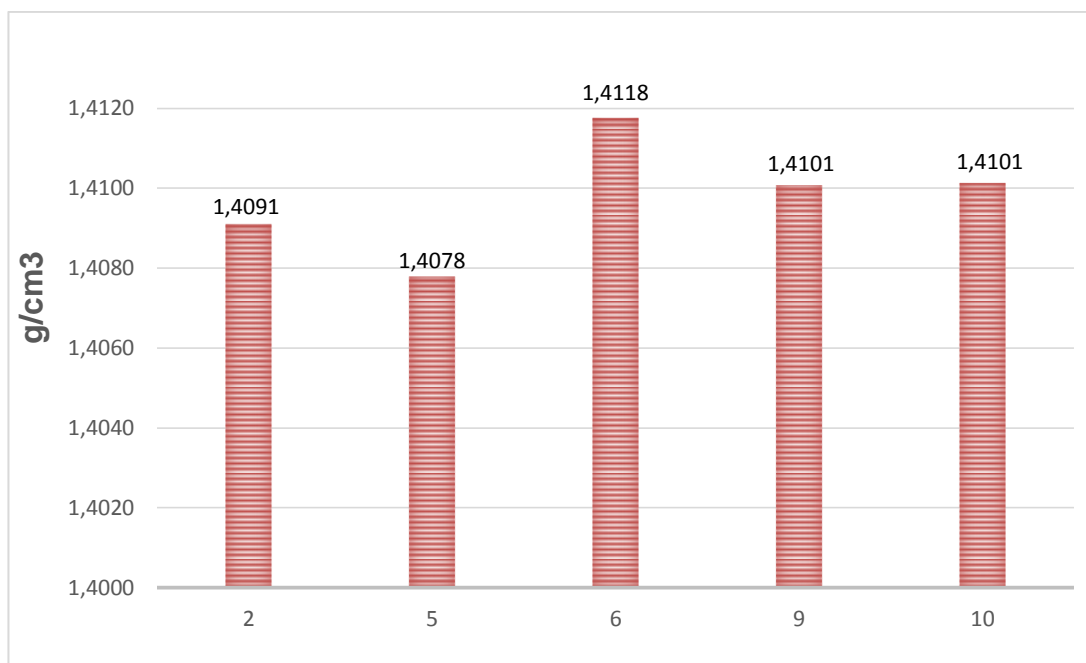


Figura 4. Densidad

Siendo la más densa la muestra con código III6 que es una miel monofloral de eucalipto.

El valor de densidad es muy importante ya que nos ayuda a identificar una posible adulteración del producto. Ya que, si la densidad es muy baja y cercana al agua, la miel podría haber sido adulterada en alguna parte del proceso.

4.1.5. HUMEDAD

Según el Instituto Ecuatoriano de Normalización (1988) en la NTE INEN 1572 la humedad de la miel clase 1 debe ser máximo de 20 % en masa. Lo cual hace que todos los valores obtenidos experimentalmente de las 5 muestras analizadas presentados en la Figura 5, estén en cumplimiento de la misma, ya que, estas se encuentran en un rango de 7.79 a 14.48 % con un valor medio de 12.05 % en masa.

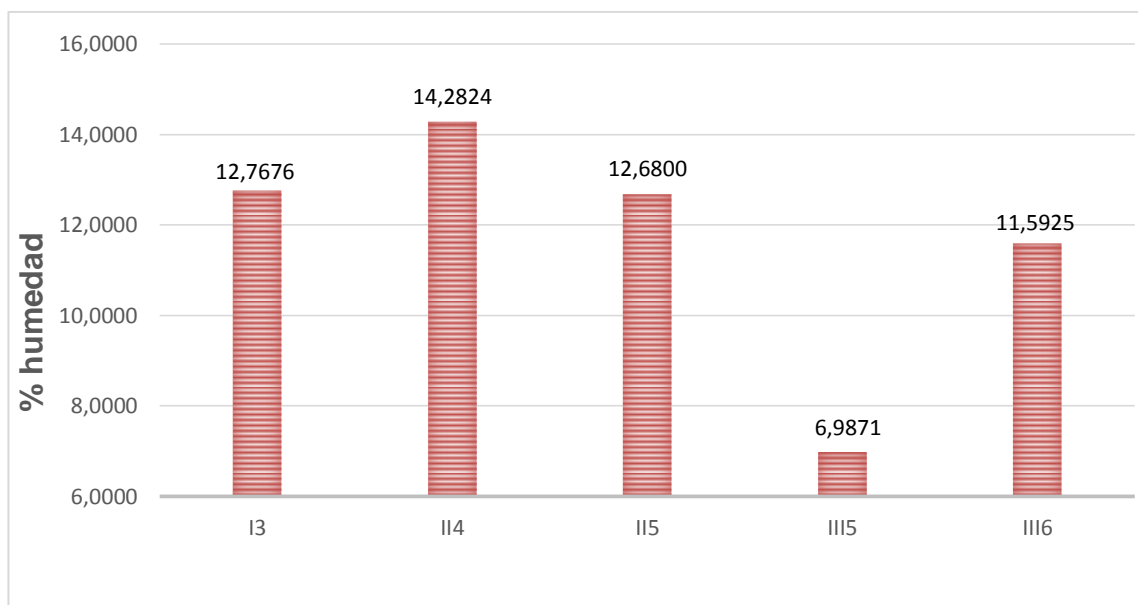


Figura 5. Humedad

El contenido de humedad en los alimentos es importante, y especialmente en la miel, ya que, la humedad relativamente baja le brinda estabilidad y tiempo de conservación más largo al producto. La humedad tiene una relación directa con la densidad, la viscosidad y también el sabor. La miel que presenta el valor de humedad más bajo, tiende a cristalizar con mucha facilidad.

Se conoce que para una miel con contenidos de humedad altos, cercanos a 18 %, el riesgo de fermentación es elevado, alterando su sabor, olor, color y por tanto su valor comercial disminuye, esto debido a la rápida multiplicación de las levaduras ya que la concentración de sólidos no es suficiente para impedirlo (Lino, 2002).

4.1.6. CENIZA

Según el Instituto Ecuatoriano de Normalización, (1988) en la NTE INEN 1572; el contenido de ceniza máximo para las dos clases de mieles es 0.5 % en masa. Los análisis realizados a las 5 muestras presentados en la Figura

6, los coloca dentro del valor permitido, con un rango que va de 0.02046 a 0.4602 % en masa con un valor medio de 0.1921 %.

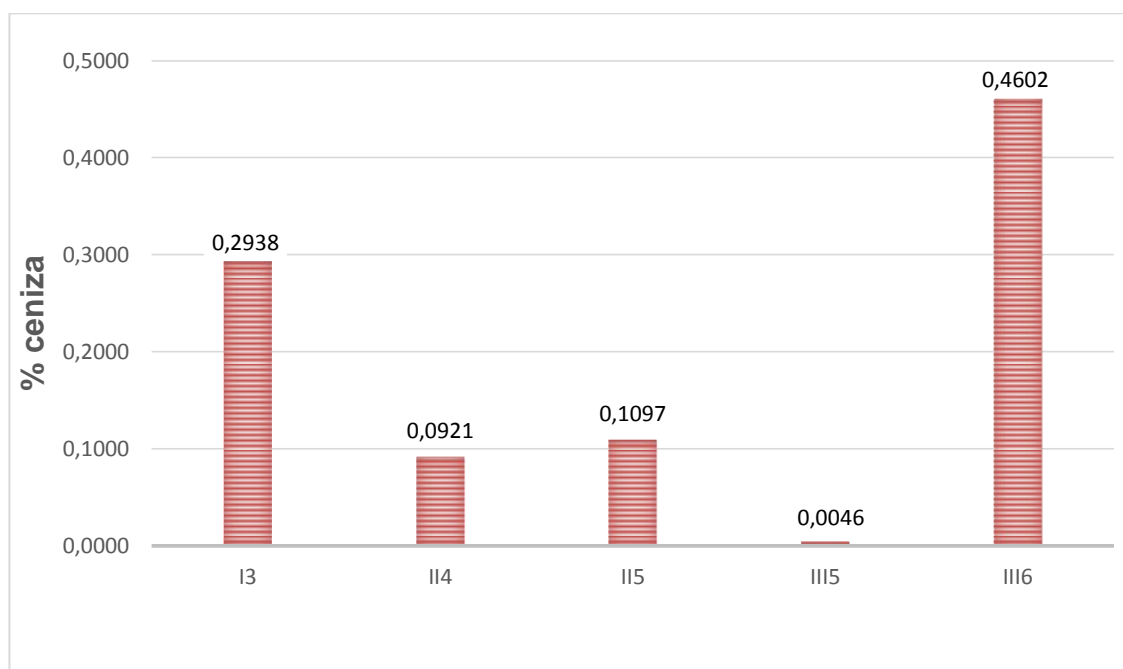


Figura 6. Ceniza Total

El contenido de cenizas es una medida indirecta del contenido total de minerales presentes en el alimento, lo cual, depende del origen botánico del néctar, del que fue elaborada la miel, condiciones climáticas y la correcta manipulación del producto en cada una de sus etapas. Cabe mencionar que el Codex Alimentarius tiene 0.6 % como valor máximo.

Estudios demuestran que generalmente la miel de mielada presenta valores más altos (Lino, 2002). En nuestro caso la miel con mayor contenido de ceniza es la muestra III6 que corresponde a una miel monofloral de aguacate.

4.1.7. ACIDEZ TOTAL

Para la Acidez total la normativa ecuatoriana en la NTE INEN 1572, da como valor máximo 40 meq / 1000 g; lo cual no se cumple en todas las mieles anlaizadas, presentadas en la Figura 7.

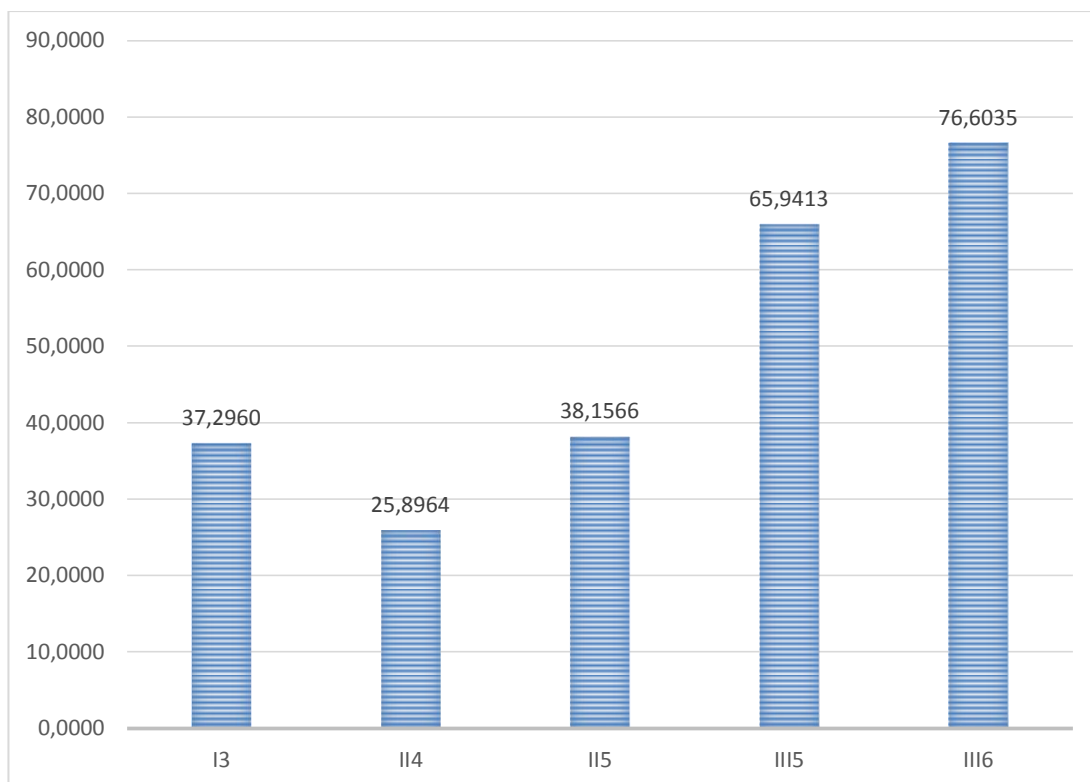


Figura 7. Acidez Total

Existe un 40 % de mieles que incumplen con la norma, pero hay 2 muestras que presentan valores muy altos con respecto al valor máximo permitido, son III5 con 65.9 meq / 1000 g y III6 con 76.6 meq / 1000 g.

La acidez alta puede ser perjudicial, para las características organolépticas del producto, como consistencia, color, olor, sabor, y esto produce una disminución en el valor comercial.

4.2. METALES PESADOS

4.2.1. RESUMEN GENERAL

En la Tabla 7 se resume de forma general, los valores obtenidos experimentalmente para la concentración de 10 metales en las muestras analizadas.

Tabla 7. Resumen general. Concentración de metales.

Muestras Analizadas	Concentración g metal / 100 g Miel									
	Plomo	Cromo	Cobre	Níquel	Plata	Sodio	Potasio	Calcio	Manganeso	Magnesio
I3	0.547	0.000	0.079	0.000	0.016	21.390	113.287	5.387	2.234	9.507
II4	0.511	0.000	0.025	0.041	0.000	22.647	24.294	1.614	0.082	0.824
II5	0.744	0.000	0.032	0.032	0.024	7.280	45.301	2.548	0.194	1.213
III5	0.595	0.000	0.023	0.015	0.000	69.148	46.743	0.989	0.000	0.541
III6	0.640	0.000	0.266	0.058	0.017	94.725	391.365	2.077	0.332	0.415
Media	0.607	0.000	0.085	0.029	0.011	43.038	124.198	2.523	0.569	2.500
Desviación Estandar Media	0.030	0.000	0.008	0.017	0.008	0.995	1.789	0.097	0.054	0.084
% Error medio	5.160	0.000	0.132	0.621	0.346	1.668	2.238	3.089	19.832	10.392
Máximo	0.744	0.000	0.266	0.058	0.024	94.725	391.365	5.387	2.234	9.507
Mínimo	0.511	0.000	0.023	0.000	0.000	7.280	24.294	0.989	0.000	0.415

4.2.2. OLIGOELEMENTOS

4.2.2.1. Sodio

Los valores presentados en la Figura 8, corresponden a los valores obtenidos mediante experimentación en las 5 mieles.

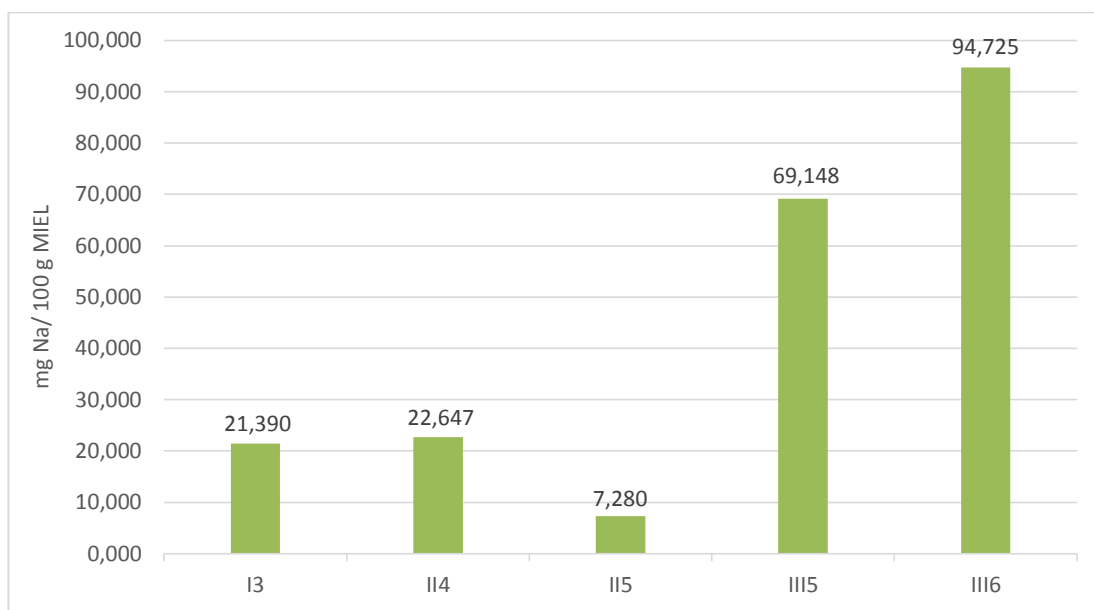


Figura 8. Concentración de Sodio

El rango es de 7.280 a 94.725 mg de sodio / 100 g de miel, con un valor medio de 43.038. No se tiene referencia de valores de sodio en miel y tampoco se encuentra en la normativa de miel en Ecuador, sin embargo, en la normativa Suiza se considera que el valor de tolerancia para vino es de 60 mg / kg. Todos los valores obtenidos experimentalmente sobrepasan este valor llegando a ser 15 veces mayor en la muestra III6. Según USDA, (2016) en la base de datos de referencia para la miel, la concentración de sodio en la miel es 4 mg / 100 g, el cual es un valor extremadamente bajo, en comparación a los obtenidos experimentalmente. Se sabe que los metales como el sodio y el potasio dependen de factores de tipo geográfico, por ejemplo, las mieles procedentes de regiones costeras, presentan mayores niveles de sodio y potasio, debido a la influencia de la salinidad del mar.

4.2.2.2. Potasio

Los valores representados en la Figura 9 corresponden a la concentración de potasio que está en un rango de 24.294 a 391.365 mg K / 100 g miel, con un valor medio de 124.198 mg K / 100 g de miel.

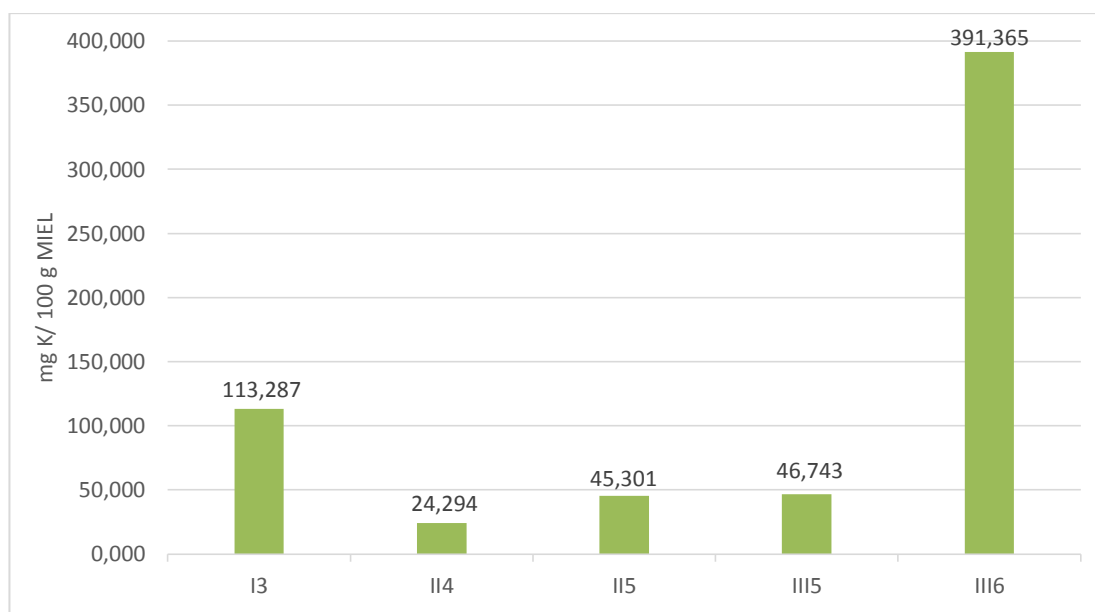


Figura 9. Concentración de potasio

Este metal es el más abundante en la miel, según la bibliografía este valor oscila entre el 45 y el 85 % del contenido total de minerales (Chacín, 2010). Según Prior, (1989) los valores de concentración de potasio están en un rango de 43 a 50 mg K / 100 g miel, al igual que para USDA, (2016) en la base de datos de referencia para la miel, la concentración de potasio de la miel es 52 mg / 100 g, el cual es un valor similar para 3 de las 5 muestras analizadas las cuales son II4, II5 y III5, pero, las muestra I3 y III6 presentan valores con un amplio rango de diferencia. Los contenidos de potasio son dependientes del lugar de origen, al igual que el sodio. De esto, pueden depender las diferencias entre la bibliografía de España y los valores obtenidos en Ecuador.

4.2.2.3. Calcio

Los valores representados en la Figura 10 corresponden a la concentración de calcio, que está en un rango de 0.989 a 5.387 mg Ca / 100 g miel, con un valor medio de 2.520 mg Ca / 100 g de miel.

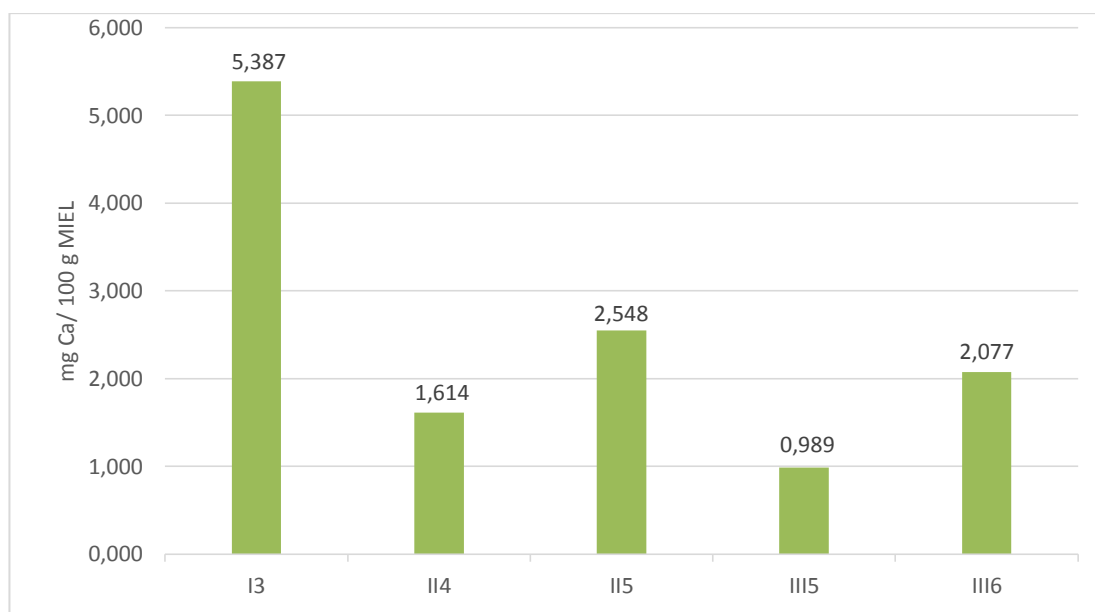


Figura 10. Concentración de Calcio

Según Prior, (1989) los valores de concentración de calcio en miel están en un rango de 3.60 a 5 mg / 100 g de miel, el cual es similar a los valores obtenidos en la experimentación. El contenido de calcio está influenciado principalmente por las plantas y los tipos de suelos que rodean la colmena.

4.2.2.4. Magnesio

Los datos obtenidos por experimentación para la concentración de magnesio se los presenta en la Figura 11.

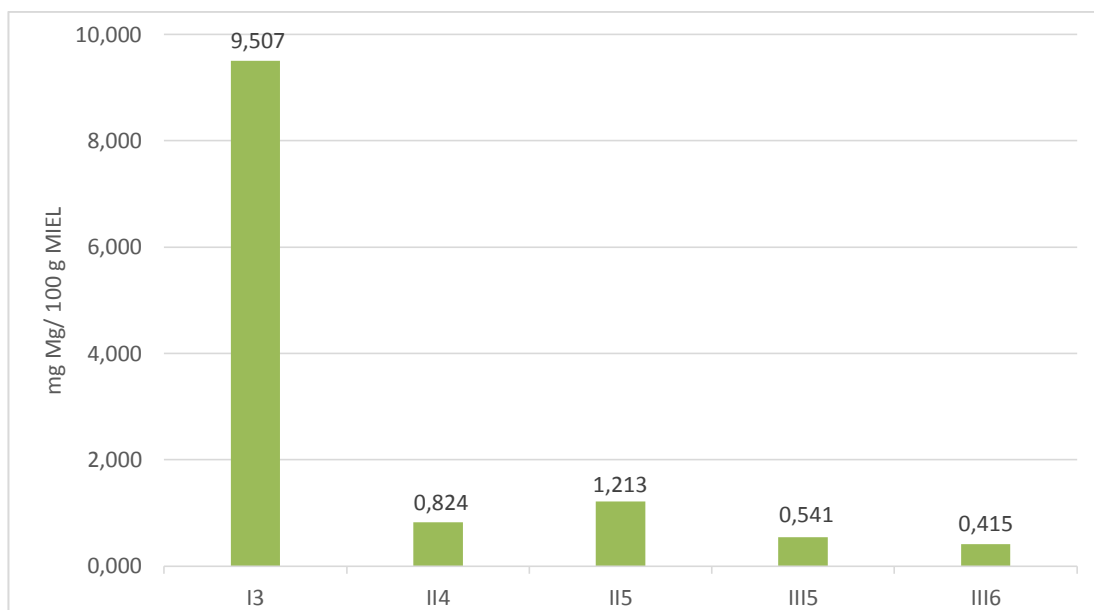


Figura 11. Concentración de Magnesio

Donde se observa que están en un rango de 0.415 a 9.507 mg Mg / 100 g de miel con una media de 2.500 mg Mg / 100 g de miel.

Al compararlos, con la bibliografía que reporta un valor medio de 5.50 mg / 100g (Prior, 1989) vemos que son similares, a excepción de la muestra I3. Existe un valor referencial que es de 2 mg / 100g de miel (United States Department of Agriculture, 2016) el cual también es similar a los valores obtenidos experimentalmente a excepción de la muestra I3. Cabe recalcar, que el color en mieles claras está estrechamente relacionado con la cantidad de magnesio y aluminio que contienen (Chacín, 2010).

4.2.2.5. Manganeso

El contenido de Manganeso en las muestras analizadas presentadas en la Figura 12 está en un rango de 0 a 2.234 mg Mn / 100 g de miel con un valor medio de 0.568 mg Mn / 100 g de miel.

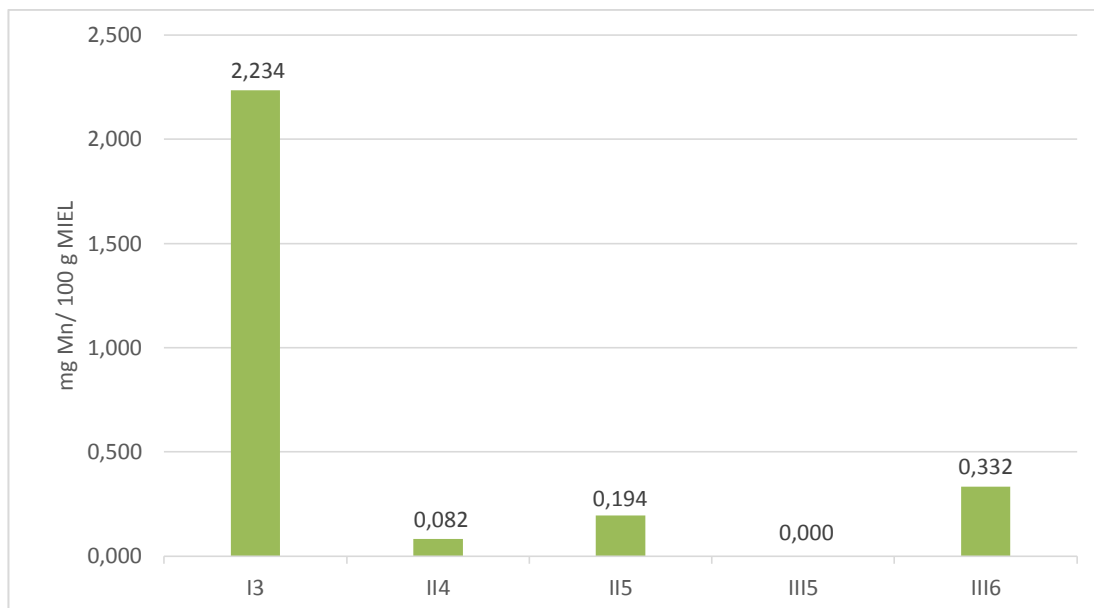


Figura 12. Concentración de Manganeso

El valor reportado en bibliografía es de 0.03 mg Mn / 100 g de miel (Prior, 1989) el cual es por mucho, un valor inferior al obtenido en la experimentación. Cabe recalcar que los valores de manganeso varían significativamente según la frescura que presenta la miel (Chacín, 2010).

4.2.3. ELEMENTOS TRAZA

4.2.3.1. Plomo

Los valores obtenidos experimentalmente, referentes a la concentración de plomo, en las muestras analizadas se presentan en la Figura 13 y están expresadas en mg de plomo / 100 g miel en base al peso húmedo, y están en un rango de 0.5106 a 0.7442 mg Pb / 100 g miel.

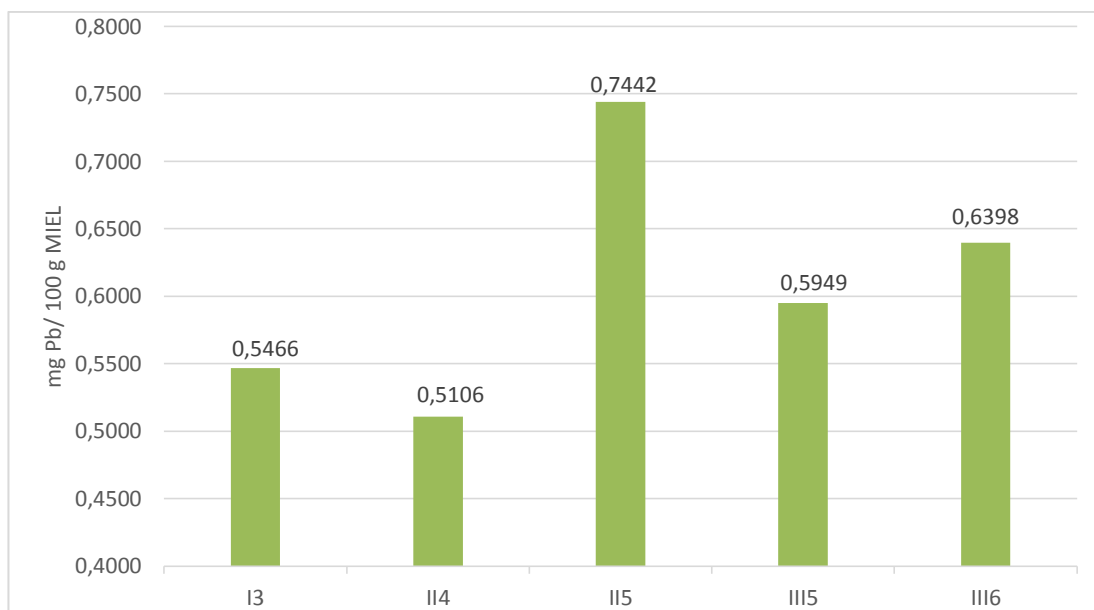


Figura 13. Concentración de Plomo

La normativa ecuatoriana de miel, no indica rangos de aceptabilidad de metales en este producto. Para efectos de comparación se tomará los valores en un rango de 5.106 a 7.442 mg Pb / Kg de miel. En un estudio realizado en mieles de abeja de Chile, bajo similares condiciones, obtuvieron valores que van de 0.1 a 0.11 mg Pb / Kg de miel (Fredes & Montenegro, 20016), según la Unión Europea los valores máximos permisibles de plomo en alimentos va de 0.002 a 1.5 mg / kg, siendo el más alto en moluscos bivalvos (Díaz, 2014), pero tampoco presenta una medida específica para miel de abeja. La legislación española establece límites máximos permitidos de plomo en los alimentos que oscilan entre 0.1 mg / kg (aceites vegetales comestibles, grasas animales y vegetales comestibles) y 5 mg / kg (pescados y productos de la acuicultura moluscos bivalvos y gasterópodos, te y café). Según la FAO/OMS se permite un consume máximo de 0.0243 mg de plomo / día (Olivares, Mejías, & Montenegro, 2008).

Con toda esta información se puede deducir, que los valores obtenidos en esta experimentación superan por un amplio margen, los valores de otros estudios y también los valores máximos permisibles de la unión europea y legislación española; además, si se consume una cucharada de estas mieles

(10 g) se sobrepasa aproximadamente por el triple del valor máximo permisible de consumo diario estipulado por la FAO.

Las emisiones más importantes de plomo a la atmósfera; proceden de la combustión de gasolinas con aditivos antidetonantes, de las fundiciones de plomo - cobre, y de las industrias del hierro y del acero.

La contaminación de plomo en los vegetales, es la vía principal de entrada de este metal en la cadena alimentaria, la incorporación desde el suelo a través de las raíces de las plantas es mínima. La miel se contamina con este metal a través del viento y especialmente, por la cercanía de las colmenas a caminos, carreteras o poblaciones grandes.

4.2.3.2. Cobre

Los valores obtenidos, tras la experimentación, de la concentración de cobre en las mieles analizadas presentadas en la Figura 14, están en un rango de 0.0232 a 0.2659 mg / 100 g miel, con un valor medio de 0.0851 mg / 100 g miel.

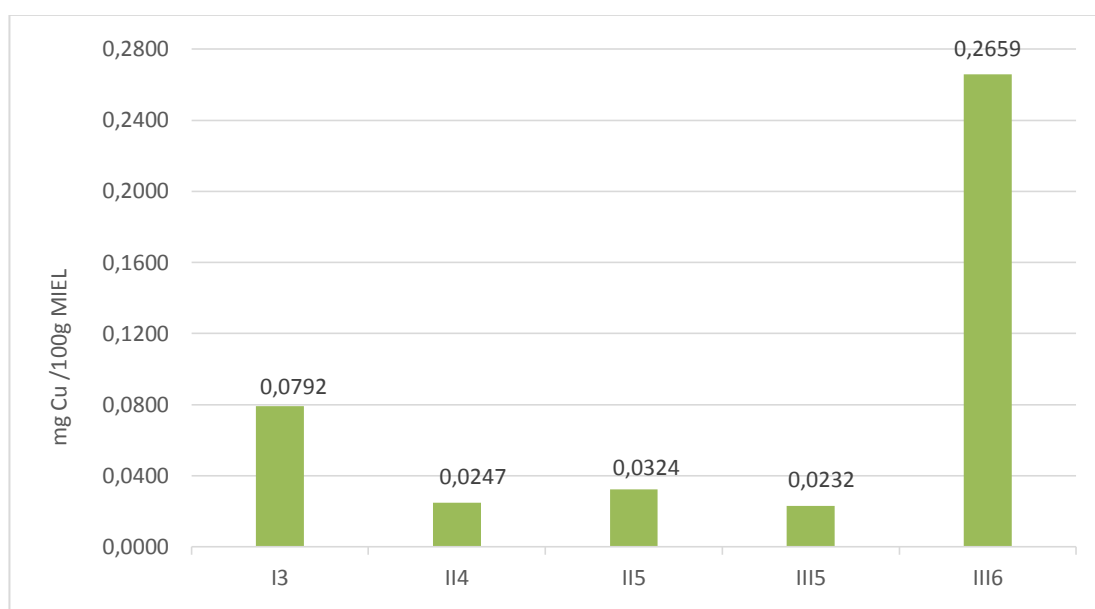


Figura 14. Concentración de Cobre

La normativa ecuatoriana de miel, no presenta rangos de aceptabilidad de metales en este producto. Para efectos de comparación se tomará los valores en un rango de 0.232 a 2.659 mg / kg de miel; otros estudios reportan concentraciones de cobre en un rango de 0.06 a 2 mg / kg (Fredes & Montenegro, 20016); de acuerdo a la normativa de la Comunidad Europea el límite máximo permisible es de 10 mg / kg (Olivares, Mejías, & Montenegro, 2008).

Con toda esta información se puede concluir, que el contenido de cobre en las muestras de miel analizadas, está dentro de los valores establecidos internacionalmente.

4.2.3.3. Níquel

Los valores obtenidos de concentración de níquel en las 5 muestras analizadas presentadas en la Figura 15; están en un rango de 0 a 0.0582 mg / 100 g de miel con un valor medio de 0.0294 mg / 100 g de miel.

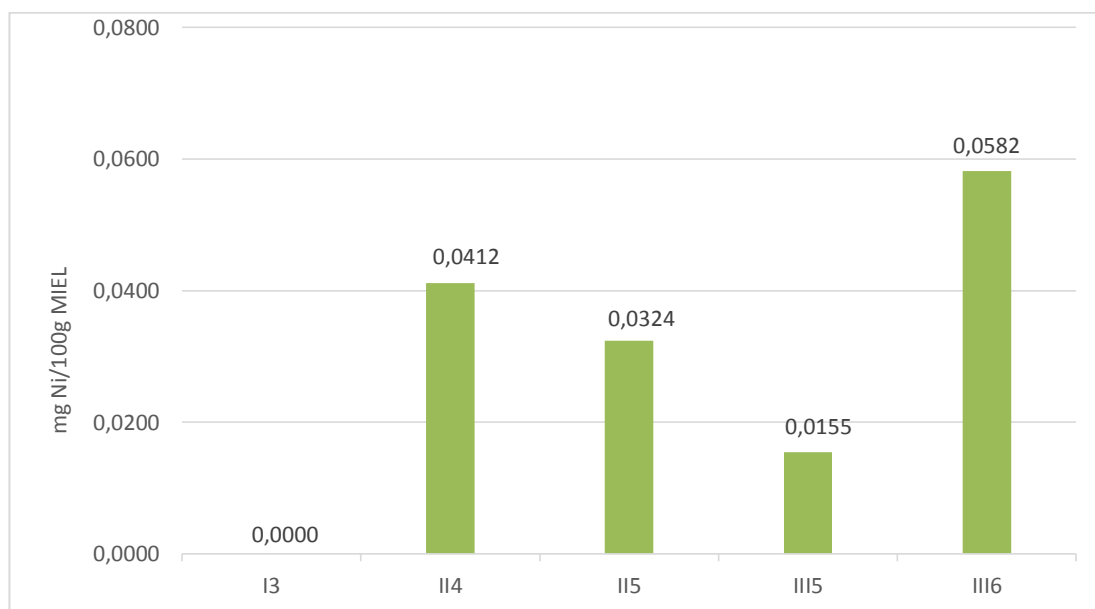


Figura 15. Concentración de Níquel

Los valores presentados en una investigación en mieles chilenas, presentan un rango de 0.01 a 1.04 mg / kg, valores semejantes a los obtenidos en esta investigación; es importante resaltar, que en la investigación antes citada declara valores más altos en un análisis realizado a partir de oxidación, por vía seca. En el Ecuador no existen valores normados para este metal en miel, pero según la normativa de Brasil el valor máximo permisible de 3 mg / kg en zumos de frutas y bebidas alcohólicas. Lo cual hace que, estos valores estén dentro del rango permisible.

4.2.3.4. Plata

Los valores obtenidos en el análisis de la concentración de plata presentados en la Figura 16, se encuentran en un rango de 0 a 0.0243 mg / 100 g de miel con una media de 0.0113 mg / 100 g.

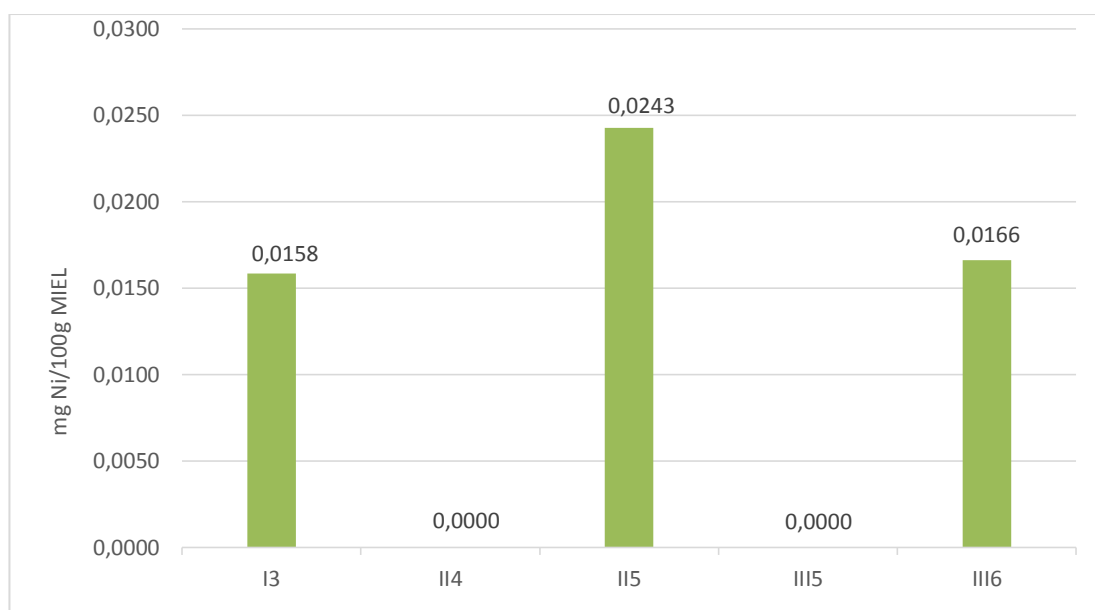


Figura 16. Concentración de Plata

Existen muy pocos países que tienen normativa con respecto a este metal en los alimentos, uno de ellos es Suiza, donde el valor de tolerancia para agua potable es 0.1 mg / kg. Con este valor se puede comparar las mieles analizadas y vemos que todas están muy cercanas al valor de referencia a

excepción de una, que es la muestra II5 que es una miel monofloral de Eucalipto y su valor duplica el valor máximo permisible.

4.2.3.5. Cromo

No existe presencia de cromo en las muestras analizadas, a pesar de que, según la bibliografía de estudios realizados en mieles chilenas se puede ver, que se presenta concentraciones de 0.03 a 1.92 ppm (Fredes & Montenegro, 20016).

La contaminación con cromo en miel suele proceder del uso de materiales inadecuados en la extracción de la misma.

4.3. FENOLES TOTALES

El contenido de fenoles totales expresados en mg GAE / 100 g miel, obtenidos en la experimentación presentados en la Figura 18, están en un rango de 18.27 a 368.91 mg GAE / 100 g miel.

Según Vattuone et al, (2007) los valores obtenidos por ellos son 41.8 - 44.0 y 28.3 - 32.1 mg GAE / 100 g miel. Al compararlos, con los obtenidos experimentalmente, vemos que estos son superiores.

Otro estudio realizado en Guatemala en miel de abejas *Melipona beecheii* y *Melipona solani* presentan valores de 107.35 y 68.66 mg GAE / 100 g miel respectivamente (Gutiérrez et al, 2009), los cuales se asecan mucho mas a los obtenidos en esta investigación, al igual que en un estudio realizado a la miel de abejas *Melipona favosa* en Venezuela que reportan valores de 51.50 a 127.19 mg GAE / 100 g (Vit et al, 2012), que también son similares a los experimentales.

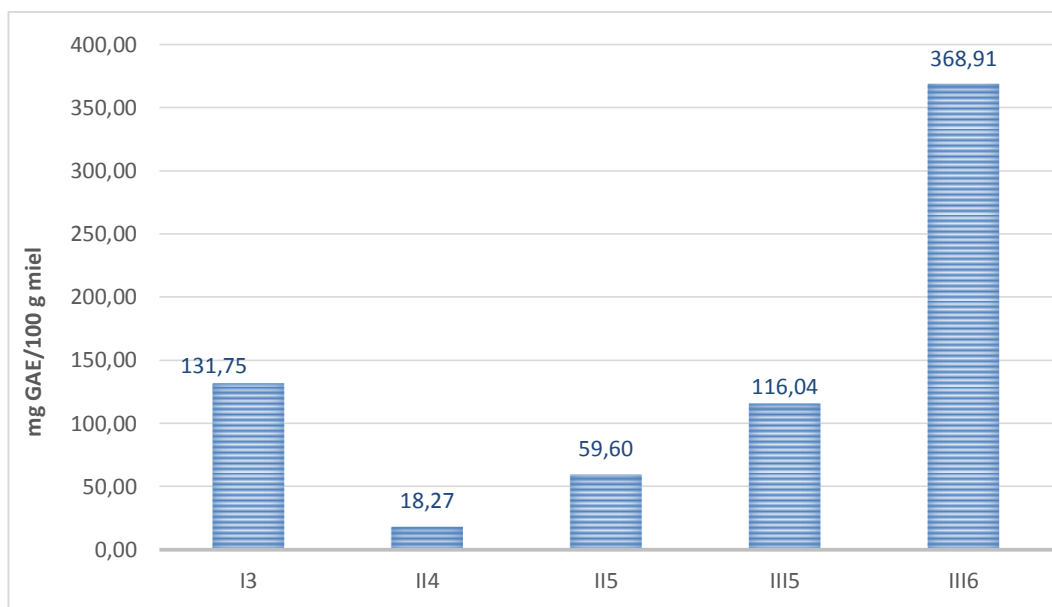


Figura 17. Contenido de Fenoles Totales

En la experimentación, el valor máximo obtenido corresponde a la miel monofloral de aguacate con código III6. La cual es aproximadamente 3 veces superior a los valores reportados en literatura.

Cabe recalcar que un contenido alto de polifenoles, no es un indicativo de que exista capacidad o actividad antioxidante.

4.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los valores obtenidos en esta experimentación presentados en la Figura 19, son similares a los obtenidos en otros estudios, según López, (2014) en un estudio realizado con mieles poliflorales mexicanas, la actividad antioxidante, evaluadas mediante el mismo método, dan un valor máximo de 71.5 uM trolox / 100 g miel y mínimo de 29 uM trolox / 100 g miel. Otro estudio realizado en Guatemala en miel de abejas *Melipona beecheii* y *Melipona solani* presentan valores de capacidad antioxidante de 87.38 y 39.07 uM trolox / 100 g miel respectivamente (Gutiérrez et al, 2009).

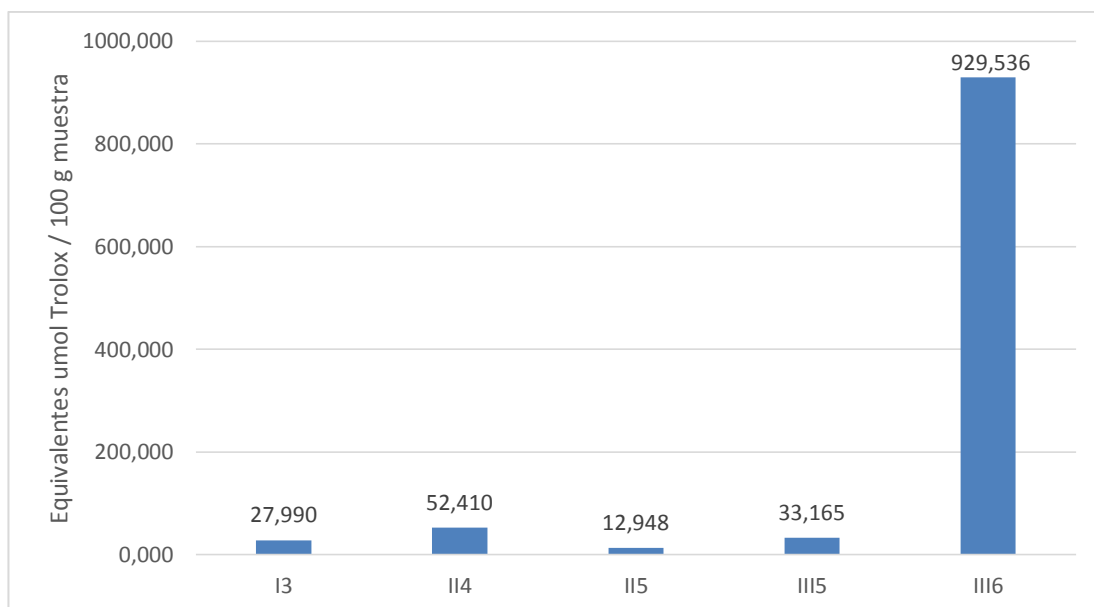


Figura 18. Capacidad Antioxidante

El valor obtenido experimentalmente para la muestra III6 que corresponde a una miel monofloral de aguacate supera por un amplio margen al resto de muestras de miel analizadas en este y otros estudios. Pero este valor es muy cercano a los obtenidos en un estudio de propoleo, otro producto elaborado por abejas, realizado en Colombia donde se ve un rango de 455.5 a 1091.0 uM trolox / g de propoleo (Palomino, García, Gil, Rojano, & Durango, 2009).

Cabe recalcar que el ABTS utilizado en esta experimentación, presenta baja selectividad, ya que reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado, independientemente de su potencial antioxidante real (Roginsky & Lissi, 2005).

Por otro lado, si la capacidad antioxidante se debe a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y otro tipo de polifenoles, como se reporta generalmente en la literatura (Park, Alencar, & Aguiar, 2002; Russo et al, 2004), se debe tener en cuenta que el método DPPH es más selectivo que el ABTS+ y, a diferencia de este último, no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo B, ni con ácidos aromáticos, que contengan un solo grupo hidroxilo (Roginsky & Lissi, 2005). A pesar de que

el contenido de polifenoles, no está estrechamente relacionado con la actividad antioxidante, es importante destacar que la muestra III6 presenta el más alto contenido de fenoles totales y también, es la que presenta mayor actividad antioxidante; esto a diferencia de la muestra I3 que presenta un contenido alto de fenoles totales pero la actividad antioxidante es mínima.

4.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA

Para analizar los resultados de los valores obtenidos en el estudio de la actividad antimicrobiana y antifúngica, se separó, los resultados por cada cepa bacteriana analizada, como se puede observar en las Figuras 19, 20, 21, 22, 23 y 24.

Cabe recalcar que, a pesar de tener valores numéricos correspondientes al tamaño de halo de inhibición, este análisis es de carácter cualitativo. Los valores de halo de inhibición se los tomará como comparativos de mayor o menor capacidad de inhibición; de cada una de las mieles sobre cada una de las cepas bacterianas analizadas.

También, es importante resaltar que cada una de las mieles fue analizada en su estado puro, es decir al 100 % de su concentración y también en 3 diluciones de 25 %, 50 % y 75 %.

La cepa de *Lactobacillus acidophilus*, es la única que no presentó inhibición con ninguna de las mieles estudiadas, se considera que esto, se debe a la naturaleza ácida de la cepa bacteriana, la cual no es alterada por el pH de la miel; la acidez de la miel es un factor importante en el poder inhibitorio de la misma.

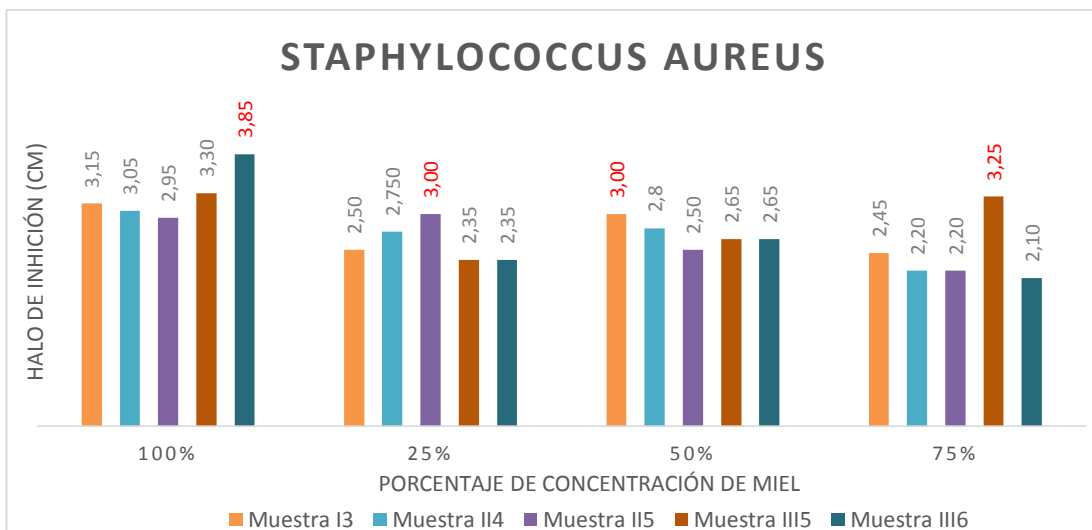


Figura 19. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *S. Aureus*

Para la cepa de *Staphylococcus Aureus* existe inhibición con todas las muestras de miel y en todas las concentraciones, siendo mayor al 100 y 75 % en las muestras III6 y III5 respectivamente. Para las concentraciones de 25 y 50 % el grado de inhibición es igual, siendo el mayor en la muestra II5 y I3 respectivamente como se observa en la Figura 19.

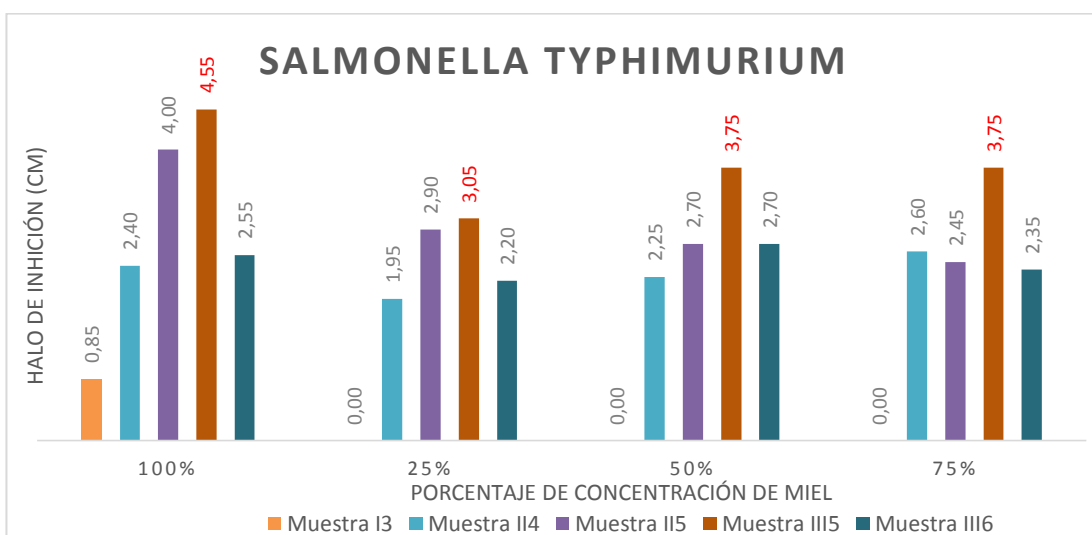


Figura 20. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *S. typhimurium*

Para la cepa de *Salmonella typhimurium* la mayor inhibición se presenta en la muestra de miel III5 en todas las concentraciones analizadas, la muestra I3 solamente presenta un mínima inhibición en la concentración al 100%.

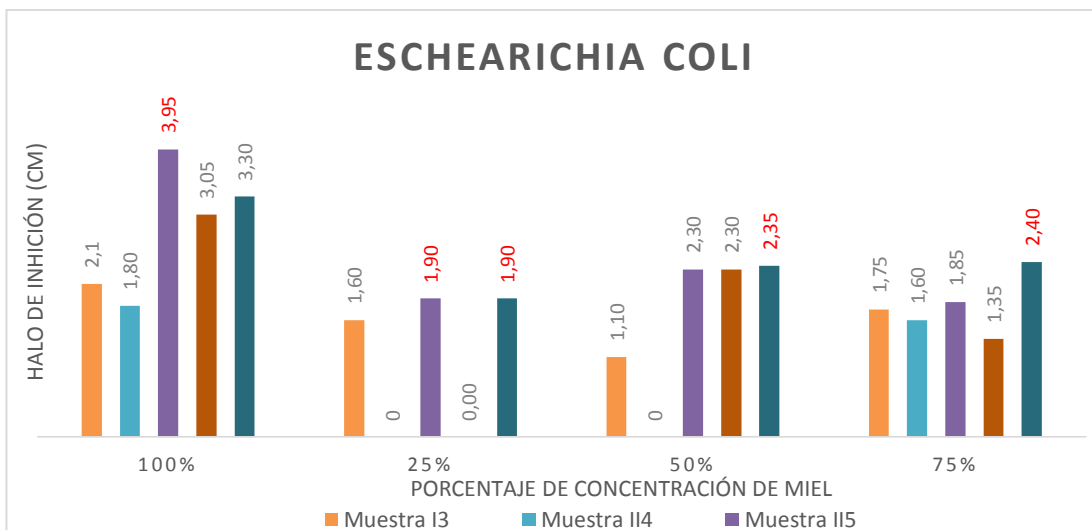


Figura 21. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *E. Coli*

Es importante observar, que las cepas bacterianas que presenta mayor inhibición de crecimiento por la adición de miel, independientemente del tipo de miel y concentración son *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium*, mientras que para *E. coli* se presenta el nivel más alto de inhibición de crecimiento, solamente en la concentración 75 % en 1 muestra de miel, la III6 según se observa en la Tabla 8; con esto no se pretende decir que solamente esta muestra inhibe el crecimiento de *E. coli*, como se puede observar en la Figura 21, la inhibición para esta bacteria es importante, especialmente en la concentración del 100 % de las 5 muestras analizadas.

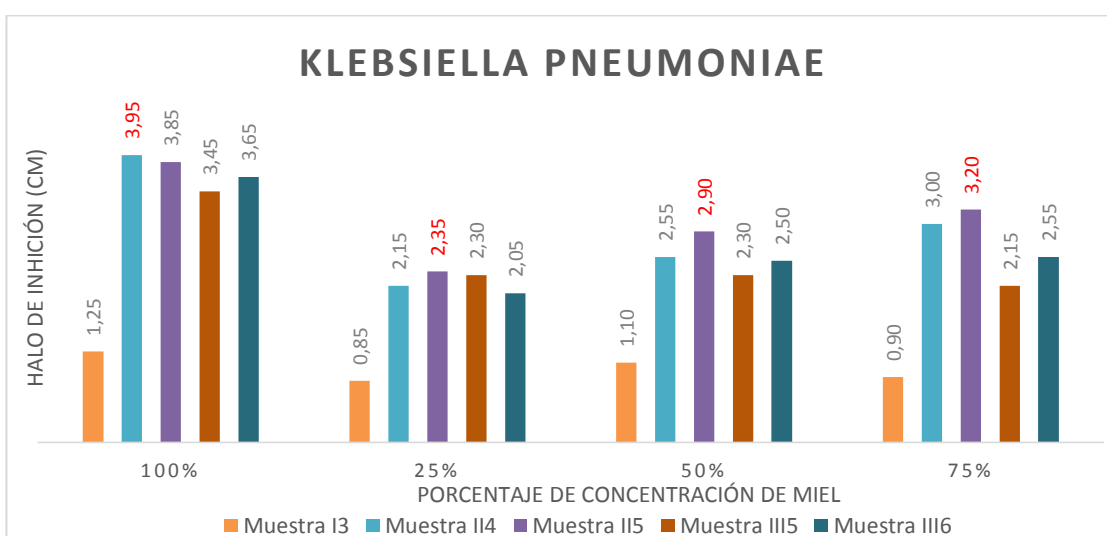


Figura 22. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *K. Pneumoniae*

La cepa bacteriana de *Klebsiella pneumoniae* se inhibe con mas facilidad con la muestra II5 al 25, 50 y 75 %; y la muestra II4 al 100 %, como se observa en la Figura 22; además es la que mayor inhibición presenta con miel diluida al 75 %, teniendo los halos de inhibición más amplios en 3 de las 5 mieles estudiadas, las cuales son I3, II4 y II5 según la Tabla 8.

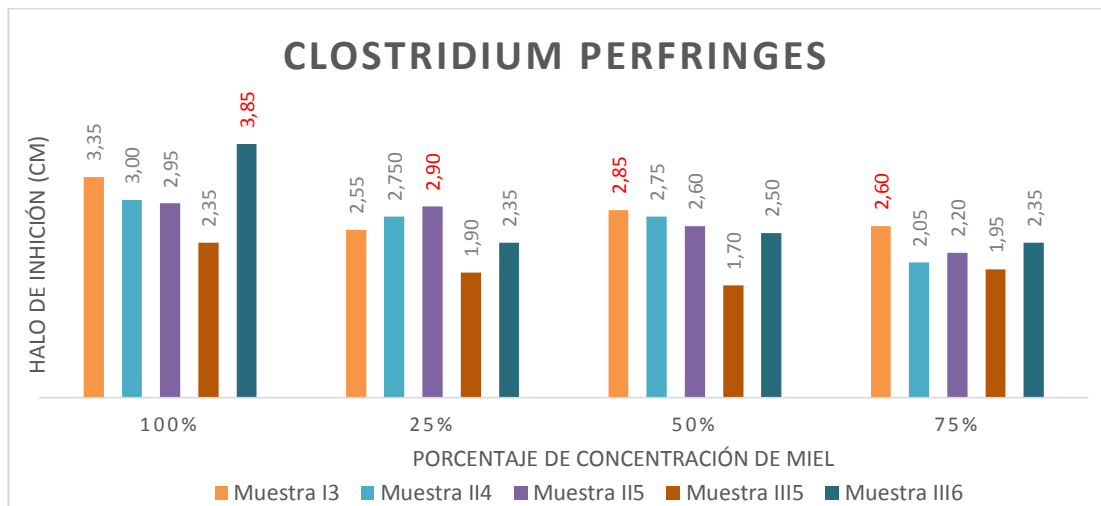


Figura 23. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *C. Perfringes*

Para las cepas de *Clostridium perfringens* existe mayor inhibición con la muestra III6 al 100 %, II5 al 25 % y I3 al 50 y 75 % según la Figura 23. Existe, inhibición por igual para dos cepas de bacterias, en las mismas muestras de miel y concentraciones; eso es para *Clostridium perfringens* y *S. aureus* en las muestras III6, concentraciones 100 % y 25 %; y en la muestra II4 al 25 % de concentración; además, de *Salmonella typhimurium* y *Cándida albicans* en la muestra II5 al 100 % de concentración según la Tabla 8.

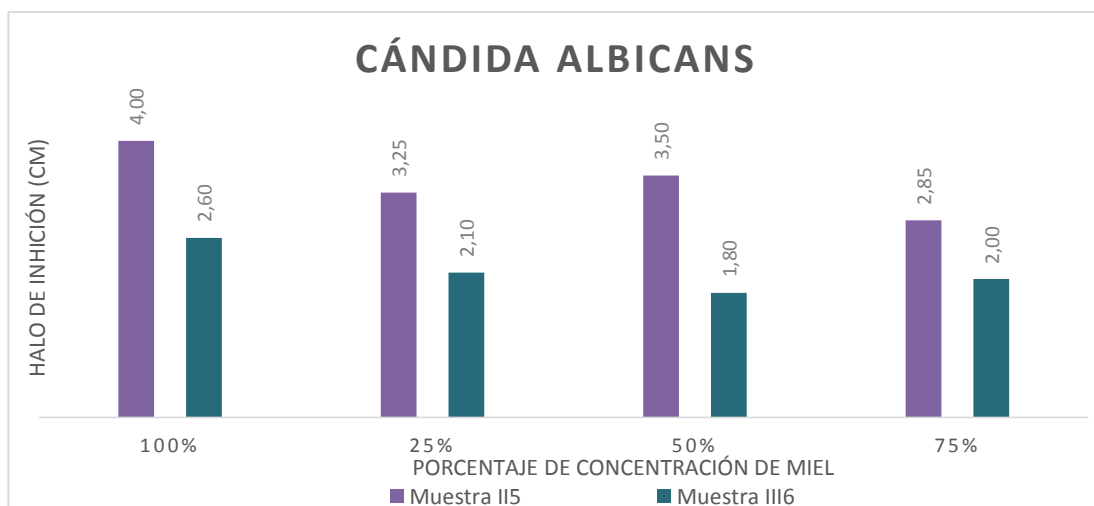


Figura 24. Actividad antimicrobiana y antifúngica cepa *C. Albicans*

La cepa *Cándida albicans* no presentó inhibición en 3 de las 5 mieles estudiadas, pero presenta inhibición en las dos mieles monoflorales estudiadas, las muestras II5 y III5; teniendo mayor inhibición en todas las concentraciones la muestra II5 según la Figura 24. Se observa en una de ellas, los valores más altos de inhibición bacteriana para la miel con código II5, como se observa en la Tabla 8.

Con todo esto, se puede resumir que las cepas bacterianas, que presentan, mayor grado de inhibición por cada dilución en las 5 mieles analizadas son las que se indica en la Tabla 8.

Tabla 8. Cepas bacterianas con mayor nivel de inhibición por cada una de las diluciones de las 5 mieles analizadas.

		Diluciones de miel				Sin efecto
		100 %	25 %	50 %	75 %	
MUESTRAS	II3	<i>C. perfringes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>L. achidophilus</i> <i>Cándida albicans</i>
	II4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>C. perfringes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>L. achidophilus</i> <i>Cándida</i>
	<i>S. aureus</i>					

						<i>albicans</i>
II5	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Cándida albicans</i>	<i>Cándida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>L. achidophilus</i>
	<i>Cándida albicans</i>					
III5	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>		<i>L. achidophilus</i> <i>Cándida albicans</i>
III6	<i>C. perfringes</i>	<i>C. perfringes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>		<i>L. achidophilus</i>
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>				

En la Tabla 9, se presenta la muestra de miel, que tiene mayor efecto inhibitorio para cada una de las cepas bacterianas.

Tabla 9. Muestras que presentan mayor inhibición por cepa bacteriana

		Muestra	Concentración
Cepas bacterianas	<i>Clostridium perfringes</i>	III6	100 %
	<i>Staphylococcus aureus</i>	III6	100 %
	<i>Salmonella typhimurium</i>	III5	100 %
	<i>Escherichia coli</i>	II5	100 %
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	II4	100 %
	<i>Cándida albicans</i>	II5	100 %

Se puede observar que para 4 de las 7 cepas estudiadas, la mayor inhibición está dada en las muestras de mieles monoflorales, como es en el caso de *Clostridium perfringes* y *Staphylococcus aureus* con la muestra III6, que corresponde a una miel monofloral de aguacate; y para *Escherichia coli* y *Cándida albicans* con la muestra II5, que corresponde a una miel monofloral de Eucalipto. Todas ellas en las concentraciones del 100 %.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los resultados, obtenidos en este trabajo, corresponden a la caracterización de la miel de abeja (*Apis mellifera. L.*) que se produce en Ecuador y se comercializa en los centros de expendio en la ciudad de Quito.
- Los resultados obtenidos para la determinación de las características físicas y químicas de las mieles en estudio fueron; para conductividad eléctrica el rango obtenido experimentalmente es de 0.781 a 0.260 mS / cm con una media de 0.520 mS / cm; pH un rango de 3.105 a 5.109 con un valor medio de 3.984; densidad un rango de 1.4078 a 1.4118 g / cm³ con un valor medio de 1.4098 g / cm³; humedad en un rango de 6.9871 a 14.2824 % con un valor medio de 11.6619 %; ceniza total en un rango de 0.0460 a 0.4602 % con un valor medio de 0.1921 % y acidez total en un rango de 25.9 a 76.6 meq / Kg con un valor medio de 48.8 meq / Kg.
- La determinación de metales pesados se hizo en base al peso húmedo y las concentraciones medias obtenidas experimentalmente fueron para plomo 0,60 g / 100 g miel, cobre 0.09 g / 100 g miel, níquel 0.03 g / 100 g miel, plata 0,01 g / 100 g miel, sodio 43.03 g / 100 g miel, potasio 124,19 g / 100 g miel, calcio 2.52 g / 100 g miel, manganeso 0.57 g / 100 g miel y magnesio 2.50 g / 100 g miel.
- En la determinación de la capacidad antioxidante de las mieles en estudio el resultado obtenido fue de 27.999 a 929.536 uM trolox / 100 g miel, adicionalmente se determinó el contenido de polifenoles en un rango de 18.27 a 368.91 mg GAE / 100 g miel.

- Los resultados obtenidos en la determinar la actividad antimicrobiana de las mieles en estudio fue de carácter cualitativo, teniendo mayor grado de inhibición al ocupar miel sin ninguna dilución sobre todas las cepas estudiadas, además la cepa que presenta mayor grado de inhibición es *Salmonella typhimurium* al presentar el halo de de inhibición de mayor tamaño con respecto al resto de cepas bacterianas. La cepa *Lactobacillus achidopilus*, es la única que no presentó inhibición con ninguna de las mieles estudiadas y la cepa *Cándida albicans* presenta inhibición únicamente con las dos mieles monoflorales estudiadas.
- En síntesis, las mieles de origen monofloral estudiadas, son las que presentan mayor contenido de metales los cuales deberían ser controlados por la autoridad correspondiente. Mayor capacidad antioxidante; y también mayor grado de inhibición antibacteriana y antifúngica sobre el mayor número de cepas estudiadas; lo cual puede ser explotado comercialmente en favor de la salud humana.

5.2. RECOMENDACIONES

- Comparar los valores experimentales de la determinación de metales pesados, aplicando la técnica de oxidación por vía seca.
- Implementar en la normativa nacional límites máximos permisibles de concentración de metales pesados en miel, además de generar control en la extracción, procesamiento y expendio de las mismas.
- Capacitar a la población productora y consumidora de miel, en los beneficios que brinda este producto y de esta forma ampliar el mercado y la producción nacional de mieles especialmente monoflorales.

- Realizar estudios aplicando tecnología para la conservación de alimentos en donde se use miel de abeja como inhibidor de crecimiento bacteriano.
- Estudiar la capacidad antimicrobiana de la miel en cepas bacterianas que no fueron experimentadas en este estudio de forma cuantitativa.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Acquarone, C. (2004). *Parámetros fisicoquímicos de mieles, relación entre los mismos y su aplicación potencial para la determinación del origen botánico y/o geográfico de mieles argentinas*. Universidad de Belgrano, Buenos Aires.
- Agronegocios. (2015). *Agronegocios Ecuador*. Recuperado el 24 de Marzo de 2016, de <http://agronegociosecuador.ning.com/page/miel-de-abeja-un-regalo>
- Andrade, E. (2009). *Desarrollo de buenas prácticas de manufactura para la producción de miel de abeja en dos planteles apícolas*. Proyecto pregrado, Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Quito.
- Arvouet, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). *J. de Pharmacie de Belgique*(49), 462-468.
- Bachmann, H. (2007). *Estudios preliminares de caracterización de miel de abeja: determinación de carbohidratos por gc / ms y análisis enzimáticos*. Universidad Austral del Chile, Facultad de Ciencias, Valdivia.
- Bansal, V., Medhi, B., & Pandhi, P. (2005). *Honey - A remedy rediscovered and its therapeutic utility*. Kathmandu University Medical Journal.(3), 305 - 309.
- Bianchi, E. (1993). *Control de calidad de la miel y la cera*. Boletín de servicios agrícolas de la FAO, 68/3.
- Blasa, M., Candiaracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M., & Piatti, E. (2007). *Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells*. Food Chemistry(104), 1635-1640.
- Chacín, C. (2010). *Estudio cualitativo del contenido de metales en muestras de miel mediante espectroscopía de plasma inducido por laser*. Bucaramanga.
- Chávez, M. (2007). *Proyecto de factibilidad para la producción y comercialización de miel de abeja (Apis mellifera) en la comuna de*

- Timbre, provincia de Esmeraldas*. Proyecto de grado, Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición, Quito.
- Ciappini, M., Stoppani, F., Martinet, R., & Alvarez, M. (2013). *Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa*. *Revista de Ciencia y Tecnología*(19).
- Colosimo, J., & Galetti, V. (2010). *Evaluación de la conductividad eléctrica y otros parámetros fisicoquímicos en mieles monoflorales de Lotus y Eucalipto*. Rosario.
- Cooper, R. (2007). *Honey in wound care: antibacterial properties*. *Medizinischer Honig in der Wundbehandlung: antibakterielle Eigenschaften*. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär*(2), 1 - 3.
- Córdova, C., Ramírez, E., Martínez, E., & Zaldívar, J. (2013). *Botanical characterisation of honey (Apis mellifera L.) from four regions of the state of Tabasco, Mexico, by means of melisopalynological techniques*. *Universidad y ciencia*, I(29), 163 - 178.
- Díaz, A. (2014). Unión Europea. *Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios*. Valencia, España: Secretaría de Estado de Comercio.
- Farris, G., Fatichenti, F., Deiana, P., & Agostini, F. (1985). *Aerobic and anaerobic spore forming bacteria in sardinian honey*. *Studi Saresi Sez*, III(32), 173 - 179.
- Fredes, C., & Montenegro, G. (2006). *Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile*. *Ciencia e Investigación Agraria*, 1(33), 57 - 66.
- Guerra, E. (2015). *Azúcares y Miel*. En A. Gil, *Tratado de Nutrición* (págs. 327 - 359). España.
- Gutiérrez, M., Enríquez, E., Lusco, L., Rodríguez, A., Persano, O., & Vit, P. (2009). *Characterization of Melipona beecheii and Melipona solani honey from Guatemala*. *Fac Farm*, 1(50), 2 - 6.

- Hernández, Z., Bentabol, A., Modino, D., & García, P. (2005). *Guía de prácticas correctas de higiene (GPCH) para el sector de la miel. 1.* Tenerife.
- Hooper, T. (1976). *Guide to Bees and Honey.* Gran Bretaña: Landford Press Ltd.
- IHC. (2009). *Harmonised Methods of the Internatonal Honey Commission.* Recuperado el Marzo de 2016, de <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1988). *NTE INEN 1 572. Miel de abejas. Requisitos.* Quito.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (16 de Noviembre de 2012). *NTE INEN 1634:1989 Miel de abejas. Determinación de la acidez total.* Ecuador.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2012). *NTE INEN 1636:1989 Miel de abejas. Determinación de las cenizas.* Quito
- Instituto Nacional de Normalización. (2007). *NCh3064-2007. Miel de abejas. Determiación de la conductividad eléctrica.* Chile.
- Lino, F. (2002). *Estudio de la calidad de la miel de abeja Apis mellifera L. comercializada en Tegucigalpa, Honduras.* Tegucigalpa: Zamorano.
- López, A. (2014). *Técnicas y métodos de análisis instrumental II.* Recuperado el 05 de Mayo de 2016, de <https://analisisinstrumentalmeh.files.wordpress.com/2011/03/determinacion-del-contenido-de-humedad-y-cenizas.pdf>
- López, M. (2014). *Influencia de los factores climáticos sobre el color y el perfil de antioxidantes en las mieles tabasqueñas.* Tabasco, México: Instituto de Enseñanzas e Investigación en ciencias agrícolas.
- Lusby, P., Coombes, A., & Wilkinson, J. (2005). *Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria.* Arch Med Rev(36), 464 - 467.
- Manrique, A., Párraga, R., & Guarico, S. (1995). *Fonaiap Divulga.* (48), 4 - 6.

- Martínez, S., González, J., Culebras, J., & Tuñon, M. (2000). *Los flavonoides: propiedades y sus acciones antioxidantes*. Nutr. Hosp., XVII(6), 271-278.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (2014). *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 20 de Marzo de 2016, de <http://www.agricultura.gob.ec/ecuador-tiene-potencial-para-la-apicultura/>
- Molan, P. (1992). *The antibacterial activity of honey*. Bee World, 73, 5 - 28.
- Molan, P. (2006). *The Evidence Supporting the Use of Honey as a Wound Dressing*. International Journal of Lower Extremity Wounds March, 5, 40 - 54.
- Montenegro, G., Salas, F., Peña, R., & Pizarro, R. (2009). *Antibacterial and antifungic activity of the unifloral honeys of Quillaja saponaria, an endemic Chilean species*. International Journal of Experimental Botany(78), 141 - 146.
- Olivares, L., Mejías, E., & Montenegro, G. (2008). *Presencia de cobre, plomo y cadmio en mieles de distintos orígenes geográficos*. Revista Latinoamericana de Química, 150.
- Palomino, L., García, C., Gil, J., Rojano, B., & Durango, D. (2009). *Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from Antioquia (Colombia)*. Revista de la facultad de Química Farmaceutica, 16(3), 388-395.
- Park, Y., Alencar, S., & Aguiar, C. (2002). *Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis*. J Agric Food Chem, 9(50), 2502-2506.
- Pereyra, A., Burin, L., & Buera, M. (1999). *Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color*. Food research International., 4(32), 185 - 191.
- Periago, M. J. (2015). *Higiene, Inspección y Control Alimentario*. Higiene, inspección y control de la miel. Murcia, España.
- Prior, M. (1989). *La miel en la alimentación humana*. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, 20.

- Ramírez, E., Navarro, L., & Díaz, E. (2011). *Botanical characterization of Mexican honeys from a subtropical region (Oaxaca) based on pollen analysis*. Grana(50), 40 - 54.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., & Yang, M. & -E. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. En Biol. Med (págs. 1231-1237).
- Ríos, A. (2010). *Quimiometría en miel de abeja para la determinación de azúcares y detección de adulteración utilizando espectroscopia infrarroja*. Tepletita, Tlaxcala: Centro de investigación en biotecnología aplicada.
- Roginsky, V., & Lissi, E. (2005). *Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food*. Food Chem, 2(92), 235-254.
- Russo, A., Cardile, V., Sánchez, F., Troncoso, N., Vanella, A., & Garbarino, J. (2004). *Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines*. Life Sci, 5(76), 545–558.
- Salamanca, G., & Serra, J. (2002). *Estudio analítico comparativo de las propiedades fisicoquímicas de mieles de Apis mellifera en algunas zonas apícolas de los departamentos de Bocayá y Tolima*. Publicación interna de la Universidad del Tolima y de la Universidad Politecnica de Valencia., Tolima, Valencia.
- Sanz, S., & Sanz, M. (1994). *Humedad, cenizas y conductividad eléctrica en mieles de La Rioja*. Zubía(12), 143 - 158.
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2012). *Cambio de la matriz productiva*. Recuperado el marzo de 2016, de <http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=627&force=0>.
- Stinson, E., Subers, M., & Petty, J. (1960). Arch. Biochem. Biophys. *The composition of honey. Separation and identification of the organic acids*.(89), 6 -12.
- Tellería, M. (2001). *El polen de las mieles, un indicador de su procedencia botánica y geográfica*. Ciencia Hoy, 11 (4-5)(62), 63 - 65.

- Ulloa, J., Mondragón, P., Rodríguez, R., Reséndiz, J., & Rosas, P. (Septiembre de 2010). *La miel de abeja y su importancia*. Revista Diente(4), 10 - 18.
- United States Department of Agriculture. (Mayo de 2016). *Agricultural Research Service*. Recuperado el 10 de Junio de 2016, de National Nutrient Database for Standard Reference Release 28: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/6287?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=19296>
- Vattuone, M., Quiroga, E., Sgariglia, M., Soberón, J., Jaime, G., Martínez, M., & Sampietro, D. (2007). *Compuestos fenólicos totales, flavonoides, prolina y capacidad captadora de radicales libres de mieles de tetragonisca angustula fiebrigi (Schwarz, 1938) y de plebeia wittmanni. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6(5), 299-300.
- Vit, P., Mejías, A., Rial, L., Ruiz, J., Peña, S., Gonzalez, A., Barth, O. (2012). *Knowing the melipona favosa honey from Paraguaná Peninsula, Falcon state, Venezuela*. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", 1(43), 15 - 19.
- Wahdan, H. (1998). *Causes of the Antimicrobial Activity of Honey*. Infection, 26, 26 - 31.
- White, J., Subers, H., & Scheparz, A. (1963). *The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide, and its origin in a honey glucose-oxidase system*. Biochimica and Biophysica Acta, 57 - 70.
- Wootton, M., Edwards, R., & Faraji, R. (1976). *Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian honeys. Changes in sugar and free amino acid contents*. J. Apic., 15(1), 29 -34.
- Zamora, L., & Arias, M. (2011). *Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin agujón*. Biomed(22), 59 - 66.