

UNIVERSIDAD NACIONAL

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)
Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)
Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Caracterización Fisicoquímica y Origen Botánico de Muestras de
Mieles de *Apis mellifera*,
de la Provincia de Chiriquí-Panamá

Ing. Charoline Janeth Gutiérrez Rivera

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical.
Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de
Posgrado de la Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

Campus Pbo. Benjamín Núñez

Heredia, Costa Rica

Agosto, 2019

Tutor: **Natalia Fallas M, M.Sc.**

Asesores:

Eduardo Umaña, M.Sc.

Luis Sánchez, M.Sc.

Este trabajo se realizó bajo el auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que con su aporte académico y humano me han apoyado la elaboración de este trabajo.

Agradecer en primer lugar al Centro de Investigaciones Apícolas y profesores por su valioso conocimiento adquirido y el apoyo que me han brindado a lo largo de la Maestría.

Muy especialmente a mi tutora Natalia Fallas M, por su colaboración y acertada orientación la cual me permitió un aprovechamiento máximo en el trabajo realizado y que el mismo llegara a buen término.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado por parte de mis asesores Eduardo Umaña M.Sc., y a Luis Sánchez M.Sc. por haberme brindado conocimientos en otras áreas que serán de gran valor en mi vida profesional.

Dedicatoria

Gracias a Dios por permitirme tener y disfrutar a mi familia, gracias a mi Esposo, Padres y Hermanos por apoyarme en cada decisión que he tomado, gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermosa que es la vida y lo justa que puede llegar a ser, gracias a ti *Diomedes Caballero y Thiago Caballero* por permitirme cumplir con excelencia este nuevo logro. Gracias por creer en mí y nuevamente gracias a Dios por permitirme vivir y disfrutar de cada día.

No ha sido fácil el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo incondicional, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco, y hago presente mi gran amor y afecto hacia ustedes, mi hermosa familia.

Con Cariño

Charoline G

INDICE

INDICE DE FIGURAS.....	viii
I. RESUMEN.....	ix
II. INTRODUCCIÓN.....	1
Antecedentes	1
Justificación	2
OBJETIVOS.....	3
Objetivo General	3
Objetivos Específicos.....	3
Hipótesis.....	3
III. MARCO TEORICO	4
Humedad.....	4
Hidroximetilfurfural (HMF)	5
Acidez.....	6
Enzimas	7
Azúcares.....	7
Melisopalinología	8
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Sitio experimental	9
Unidad experimental.....	9
Metodología	10
<i>Análisis de contenido de agua.....</i>	10
<i>Determinación del contenido de hidroximetilfulfural (HMF)</i>	10
<i>Análisis de acidez libre</i>	10
<i>Análisis de la actividad enzimática diastasa</i>	10
<i>Determinación de azúcares por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)</i>	11
<i>Análisis Melisopalinológico de las muestras de miel mediante el método de tinción con safranina.....</i>	11
Análisis de datos	12
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
Análisis de contenido de agua:	13

Acidez libre:	16
Determinación del contenido de hidroximetilfulfural (HMF):	18
Análisis de la actividad enzimática de la diastasa:	20
Azúcares:	23
Sacarosa:	24
Adulteración de jarabes altos en fructosa	26
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. BIBLIOGRAFIA	35
XI. ANEXOS	40

INDICE DE CUADROS

Tabla N°1. Porcentaje de humedad obtenido en las muestras de miel (<i>Apis mellifera</i>) procedentes de comercio Vs la de productores.....	13
Tabla N° 2. Valores de acidez libre (meq/kg) de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) obtenidas de productores y comercios de la provincia de Chiriquí, Panamá.....	16
Tabla N° 3 Contenido de HMF (mg/kg), de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> analizadas (productores y comercios) de la provincia de Chiriquí, Panamá	18
Tabla N° 4. Valores de diastasa de las muestras de miel de abeja (productores y comercios), de la provincia de Chiriquí, Panamá	20
Tabla N° 5. Contenido de azúcares de muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá.	24
Tabla N° 6. Contenido de sacarosa de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> , de comercios y productores:de la provincia de Chiriquí-Panamá.....	25
Tabla N°7. Detección de jarabes altos en fructosa en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> de la provincia de Chiriquí, Panamá.	27
Tabla N° 8. Muestras de miel (<i>Apis mellifera</i>) de comercio y productores de la provincia de Chiriquí-Panamá que cumplen con los parámetros de calidad según el Codex Alimentario (2001).....	28
Tabla N°9. Granos de polen identificados en las muestras de miel de abeja de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá.	31

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Origen geográfico de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> analizadas en la provincia de Chiriquí, Panamá	9
Figuras N° 2 Intervalos de porcentaje de humedad de las muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá. 15	
Figuras N° 3. Distribución de las 16 muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de comercios y productores, según el contenido el porcentaje de humedad y el valor de acidez libre.	17
Figuras N° 4 Intervalos de los valores de las medias de HMF, de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> , de productores vs comercio.	19
Figuras N° 5. Muestras de miel de abeja (productores y comercio) de la provincia de Chiriquí, Panamá que cumplen con el valor de Diastasa según el Codex Alimentario (2001).....	21
Figuras N° 6 Distribución de la calidad de las 16 muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de comercios y productores, según el contenido de HMF y la actividad de diastasa.....	23
Figuras N° 7 Distribución de las 16 muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de comercios y productores, según el contenido de sacarosa, fructosa y glucosa	26
Figuras N° 8 Familias botánicas con mayor frecuencia presentes en las muestras de miel (<i>Apis mellifera</i>) de la provincia de Chiriquí, Panamá.	29
Figuras N° 9 Diversidad de granos de polen presente en una muestra de miel (<i>Apis mellifera</i>) de origen polifloral, tomada a 4X.....	30
Figuras N° 10 Diversidad de granos de polen presentes en una muestra de miel (<i>Apis mellifera</i>) de origen polifloral, tomada a 10 X.....	30

RESUMEN

Este estudio consistió en determinar las características físico-químicas y el origen floral de 16 muestras de miel de abeja de la provincia Chiriquí-Panamá. Para ello, se recolectaron 8 muestras de mieles comerciales y 8 muestras de mieles de productores para comparar la calidad de las mismas.

Para determinar la calidad de las mieles se siguió, el protocolo descrito en los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel, (*Bogdanov, 2009*). Mientras que para la determinación de jarabes altos en fructosa se utilizó el método conocido como Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a un índice de refracción (HPLC), para verificar las muestras positivas y negativa (*Wang, 2014*), donde esta detección se hace a través de la aparición de un pico a un tiempo específico en el cromatograma.

El estudio del origen botánico de la miel se basó en un análisis melisopolinológico, con la técnica de tinción con safranina, para la identificación microscópica de los granos de polen que indicaron el origen botánico de las mieles utilizadas en el presente trabajo.

Con este estudio, se pretende conocer la calidad de las mieles producidas en la región de Chiriquí-Panamá, para desarrollar y aplicar metodologías enfocadas a mejorar la calidad, y así garantizarle un buen producto al consumidor. El 100% de las muestras de mieles analizadas de productores cumplen con los parámetros fisicoquímicos, mientras que las mieles de comercios no todas cumplen con estos parámetros. Las muestras de comercio C5 y C7 cumplen con la normativa para el contenido de agua. Sin embargo, para el contenido de sacarosa no cumplen, lo que indica que son mieles que han sido adulterada con sacarosa, y para HMF solo la muestra de comercio C5 no cumple con dicho parámetro, mientras que para la actividad diastásica solo tres muestras (C5, C6, y C7) no cumplen con los parámetros de calidad establecidos por el *Codex Alimentario (2011)*

Los resultados obtenidos para el origen botánico de las muestras analizadas, evidencian que el 100% de las muestras de productores son de origen polifloral, mientras que el 75% de las muestras de comercios son de origen polifloral y el 25% de las muestras de miel de comercio no muestran granos de polen, ya que son muestras adulteradas con sacarosa.

I. INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia natural dulce producida por la abeja melífera, *Apis mellifera*, a partir del néctar de las plantas (flores) o secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en ellas (miel de mielada), que las abejas recolectan, transforman (combinándolas con sustancias específicas propias), deshidratan, almacenan y depositan en los panales dentro de las colmenas para que madure (B.O.E., 2003; Directiva 2001/110/CE; L10/47).

Desde el punto de vista de composición química, la miel es una solución acuosa concentrada de hasta siete azúcares, de los cuales están en mayor proporción la glucosa, fructosa y sacarosa, que además contiene, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias antioxidantes y aromáticas, pigmentos, cera y granos de polen (Belitz y Grosh, 1988).

La composición fisicoquímica y las características organolépticas de las mieles están directamente relacionadas con las especies vegetales de las que proceden los néctares colectados, de las condiciones edafo-climáticas del lugar (Díaz, 2003); así como de las prácticas de manipulación por parte de la persona productora durante la extracción y almacenamiento de la miel (Haydee, 1989).

Antecedentes

En las últimas décadas, el mercado panameño ha experimentado cambios derivados de la globalización de los sistemas productivos, los cuales ejercen presión sobre los productos alimenticios (nacionales e internacionales), que se comercializan en el país.

En Panamá, mediante el artículo 91, de la Ley 23 el reglamento técnico DGNTI-COPANIT (66-2002 azúcar, melazas y miel de abejas), se establece un ámbito de normalización técnica para los bienes o servicios, que se consumen en el país, garantizando que los productos consumidos posean la calidad organoléptica e inocuidad requerida para el consumo y la salud humana.

La miel de abejas, por ser un producto para el consumo humano, ya sea directa o indirectamente, tiene que ser sometido a este rigor y cumplir con los valores establecidos por el *Codex Alimentario (2001)* y el *Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002)*.

Justificación

En Panamá son muy pocos los estudios que se han realizado sobre calidad y/o caracterización físico-químico y origen botánico de mieles de *Apis mellifera*, por lo que se hace necesario realizar este estudio para determinar la calidad de las mieles con respecto a parámetros fisicoquímicos de calidad como: porcentaje de agua, acidez libre, hidroximetilfulfural, actividad de diastasa y azúcares, de la provincia de Chiriquí- Panamá, constituyendo para la zona un trabajo pionero.

Dichos parámetros son usados ampliamente en los controles de rutina de la calidad de las mieles a nivel internacional (*Bogdanov et al., 2004*). Los métodos han sido validados y normalizados por la Comisión Internacional de la Miel (IHC) y pueden ser usados dentro del alcance del *Codex Alimentario (Bogdanov et al., 204)*.

Además, métodos microscópicos como el análisis melisopalinológico, permiten la identificación del origen botánico de las mieles, de forma que se puedan clasificar las mismas según el recurso floral utilizado por las abejas para coleccionar el néctar. Mediante esta técnica se permite dilucidar si hay fuentes primarias dominantes que le pueden conceder a la miel una denominación de origen de tipo monofloral, o si por el contrario son mieles multiflorales o poliflorales, cuando no hay una fuente dominante según criterios internacionales (Sawyer R, 1988).

OBJETIVOS

Objetivo General

- ❖ Determinar las características fisicoquímicas y el origen botánico de muestras de miel *Apis mellifera*, de la provincia de Chiriquí-Panamá.

Objetivos Específicos

- ❖ Caracterizar las muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, mediante análisis fisicoquímicos, para determinar su calidad.
- ❖ Determinar el origen floral de las muestras de miel de abejas *Apis mellifera* de Chiriquí, mediante análisis melisopalinológicos, para conocer las especies de plantas melíferas relevantes.

Hipótesis

- a. El 100% de las muestras de miel *Apis mellifera*, cumplen con los parámetros fisicoquímicos establecidos por las normas internacionales vigentes para miel de abeja.
- b. El 100% de las muestras de miel de *Apis mellifera* proceden de fuentes multiflorales.

II. MARCO TEORICO

La calidad de la miel de abejas se ve influenciada por factores extrínsecos, que se derivan de la actuación acertada o negligente del apicultor y operarios durante su manipulación; entre estos la higiene y las buenas prácticas asociadas, condición que está en relación directa a la manera de extraer, filtrar y procesar el producto; además un factor importante es la no observación del grado de madurez al momento de la extracción. La maduración de la miel es imprescindible para obtener un producto sin aromas ni sabores extraños, característica que confiere buenas propiedades para su preservación y/o de conservación, evitando así los procesos de fermentación.

Por otra parte, un producto sobrecalentado, cosechados en sitios inadecuados, con impurezas de cualquier índole, cosechado antes de que alcance su madurez (deshidratación y condensación), debe dar como resultado una miel de calidad inferior. Para establecer la calidad de la miel de abejas el investigador o técnico responsable puede valerse del estudio de las características físico-químicas y organolépticas del producto.

La composición química de la miel permite evaluar su calidad con base en su contenido no solo de agua sino de azúcares, acidez, enzimas, hidroximetilfurfural y sustancias insolubles (*Crane, 1976; Vit, 1993*). A continuación, se describe la contribución de los parámetros antes mencionados en la calidad físico-química de mieles colectadas y provenientes de explotaciones apícolas de la provincia de Chiriquí en Panamá.

Humedad

El contenido de agua de las mieles es una de las características más importantes porque éste determina su grado de conservación. Se menciona que para la cosecha de las mieles solo deben cosecharse panales con más del 85% de celdas operculadas, lo que indica un porcentaje alto de celdas con miel madura. De no cumplir con este requerimiento, las mieles cosechadas provenientes de celdas no operculadas o inmaduras aportarían un contenido elevado de agua y/o humedad y/o acelerando el riesgo de fermentación de la miel (*Tosi et al., 2004*).

Además, hay que tener presente que la humedad de la miel puede incrementarse durante el proceso de su extracción, producto de su propiedad higroscópica. Aparte de ello, este

factor debe tomarse muy en cuenta para su almacenamiento, especialmente cuando se presentan bajas temperaturas y el producto es almacenado en ambientes húmedos; porque las mieles absorben humedad y el producto se diluye, lo cual finalmente provoca su fermentación. En caso contrario, cuando se almacena en un ambiente con poca humedad, la miel también puede perder agua, de modo que se vuelve más densa.

El contenido de agua de la miel suele oscilar entre un 13 y un 25% (*Simal et al., 1983*), dependiendo de las condiciones climáticas de la región donde están ubicadas las colmenas; lo cual influye en la humedad del néctar y el grado de la maduración de la miel alcanzado en la colmena (*White, 1975; Perez-Arquillue et al., 1994*). El Reglamento Técnico para Miel de Abejas de Costa Rica (RTCR 432:2009 Reglamento Técnico para miel de abejas N° 35853-MAG-MEIC), admite un máximo de un 21% de humedad, mientras que la Norma de calidad de la miel de España (*Anónimo, 2003*), permite un máximo de un 20% de humedad salvo para la miel de Cataluña, que puede alcanzar hasta el 23%.

Serrano et al. (1994) refiere la importancia de la época y el momento en que se debe realizar la recolección, pues se debe esperar que la eliminación del agua este bastante avanzada, para que el producto obtenido tenga la máxima calidad y garantía de conservación.

La fermentación de las mieles depende esencialmente de la contaminación inicial, el tiempo y temperatura de almacenamiento y el contenido de humedad (*White, 1975*), siendo esta última la causa más importante (*Sanz et al., 1995*). Muchos autores están de acuerdo en que mieles con un contenido en humedad inferior al 17,1% no fermentan, en cambio en aquellas con humedad entre 17,1 y 20 %, la aparición de la fermentación dependerá de la carga microbiana. Los contenidos de humedad por encima del 20% permiten el crecimiento de levaduras osmófilas (*Frias y Hardisson, 1992 y Grosch, 1997*). Mieles con contenidos en agua inferiores al 14% son excesivamente viscosas y difíciles de extraer y utilizar (*Sancho et al., 1991*).

Hidroximetilfurfural (HMF)

El contenido de HMF nos indica el grado de frescura de la Miel. El HMF es un compuesto que se forma por descomposición de la fructosa ante la existencia de ácidos, su presencia en

la miel puede aumentar por exposición de ésta a altas temperaturas, por lo que se utiliza como indicador de calentamiento y envejecimiento de la miel *Bosch y Serra (1986)*.

Aun cuando el contenido enzimático no es considerado de utilidad para evaluar la calidad de la miel, en algunos países como Europa (*White,1992*), la actividad diastásica y el hidroximetilfurfural siguen siendo utilizados en la evaluación de la frescura de la miel (*Hardon et al.,1962*) y ambos pueden ser usados como indicadores de frescura de la miel y de las condiciones de almacenamiento (*Huidobro et al.,1995*).

Según *Anónimo, 2003* y *el Codex Alimentario, (2001)* se admite hasta un máximo de 40 mg/kg en general y un 80 mg/kg para climas tropicales. Se ha demostrado que la tasa de formación de HMF está relacionada directamente con la humedad y el contenido inicial del mismo en la miel (*Shade et al.,1958*). También, la acidez ejerce un efecto positivo en su formación, como se ha comprobado en mieles suizas calentadas con una baja tasa de HMF, debido a su alto pH (4,5-5,0) (*Hardorn et al., 1962*).

Acidez

La acidez protege a la miel de los ataques microbianos y contribuye a otorgarle aroma (*Piana et al.,1989*). Los ácidos de la miel se originan fundamentalmente a partir de las secreciones de las glándulas salivares de la abeja que producen los procesos enzimáticos y de las fermentaciones (*Graca 1987*). La acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas y a algunos iones inorgánicos como fosfatos, cloratos y sulfatos, cuyos ácidos son constituyentes de la miel (*Pérez-Arquillué et al., 1994*).

La acidez suele ser más elevada en mieles fermentadas, este parámetro no debe superar los 40 miliequivalentes por kilogramo. Los valores promedio de pH normales para una miel se encuentran comprendidos entre 3.0 y 4.5 debido a la presencia de ácidos orgánicos.

Se ha encontrado que el ácido glucónico es el más abundante y procede principalmente de la descomposición de la glucosa, debido a la acción de la enzima glucosa oxidasa presente de manera natural en la miel. Como producto intermedio en esta descomposición se produce la gluconolactona, que también influye en la concentración de la acidez (*Mato et al., 1997*)

Enzimas

Las mieles son ricas en enzimas, autores como *Huidobro y Simal (1984)* señalan enzimas de gran importancia como la diastasa (amilasa), invertasa y glucosa oxidasa. Una de las enzimas de mayor interés en la miel es la diastasa, que tiene la facultad de escindir el almidón en glucosa, es muy termolábil y las técnicas analíticas para determinarla son muy sencillas, su ausencia indica calentamiento y/o envejecimiento de la miel.

Muchos países requieren valores mínimos para la actividad de diastasa, la cual se degrada fácilmente con el calor y con el envejecimiento desapareciendo la mitad de su contenido en un determinado tiempo (17 meses) a temperatura ambiente. Así como también existen mieles con baja actividad enzimática, por ejemplo: los cítricos (*Serra-Bonvehí, et al., 2000; Tosi et al., 2007*).

Anklam, (1998) refiere a la diastasa, como un índice de calentamiento sufrido por la miel durante su proceso y/o condiciones de almacenamiento como valor menos exacto que el contenido de HMF, ya que la actividad enzimática varía mucho de una muestra de miel a otra, debido a la cantidad de saliva con enzimas segregadas por las abejas durante su elaboración de la miel la cual varía bajo condiciones diferentes.

Azúcares

Los azúcares constituyen prácticamente 80% del peso seco de la miel y por ello determinan altamente muchas de sus características como higroscopicidad, viscosidad y baja actividad de agua (A_w) (*ICMSF 2001*).

Los azúcares más predominantes en la miel son fructosa y glucosa, estando la fructosa en mayor concentración (38%) y la glucosa en un 31% (*Loveaux, 1985*). Mientras que la concentración de sacarosa es muy variable y esta depende del tipo de miel y de su estado de maduración. Mieles con alto contenido de sacarosa pueden ser debido a una maduración inadecuada o alimentación artificial de las abejas con jarabe de sacarosa durante mucho tiempo (*Serra et al., 1987*).

Según *Louveaux (1985)* la composición de los azúcares es importante para así poder valorar el grado de pureza de la miel. Por mucho tiempo se creía que la fricción de los azúcares en la miel estaba compuesta básicamente por glucosa y fructosa, con algo de sacarosa y

dextrinas en pequeñas cantidades. Estudios realizados por *Huidobro y Simal (1985)* muestran nuevos métodos de análisis y separación de azúcares donde evidencian más de treinta azúcares diferentes. Gran parte de los azúcares no se encuentra en el néctar, estos se forman durante la maduración y almacenamiento de la miel, mediante diversos procesos enzimático, del proceso de transformación de néctar a miel y de distintas reacciones no enzimáticas que ocurren (*Piana et al., 1989*).

Para *White (1980)* la sacarosa no es un adulterante potencial ya que los azúcares invertidos pueden ser añadidos a la miel en cantidades considerables sin que quede fuera de los rangos establecidos por la legislación. Ya que ciertos tipos de flores dan lugar a mieles con elevados contenidos en sacarosa *Anónimo (2003)*.

Melisopalinología

Es una rama dentro de la palinología, cuyo objeto es estudiar el origen botánico y geográfico de las mieles, su base fundamental reside en el análisis microscópico del sedimento obtenido por centrifugado del polen (*Tellería y Cols 1997*).

La melisopalinología, estudia el polen como un elemento morfológicamente constante, que no sufre cambios, asumiendo que los granos de polen de las flores visitadas en cantidades variables contaminan el néctar, permitiendo así identificar las especies significativamente importantes que proveen este recurso (*Diaz, 2003*).

La abeja melífera, es un insecto muy selectivo en la utilización de recursos florales, como fuente de néctar y polen (*Basilio, A. Y Noetinger, M. 2002*).

El análisis microscópico del polen obtenido en la miel, puede generar una lista de especies vegetales usadas por las abejas como recurso de néctar (*Montenegro et al., 2003*). Al calcular el porcentaje de polen presente durante el análisis, se excluye el polen de plantas no melíferas (*Kropf et al. 2008*).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Química Apícola, del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, de la Universidad Nacional (UNA) de Costa Rica.

Unidad experimental

Se utilizaron 16 muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*), producidas en apiarios de la provincia de Chiriquí-Panamá de las cuales se compraron ocho en super mercados y las otras ocho de apicultores de la zona. En la Figura N°1. se puede observar los lugares de obtención de las muestras de miel de *Apis mellifera*.

El color verde representa las muestras de miel obtenidas de los comercios de la cual se compraron 4 de un super mercado y las otras 4 de otro super mercado y el color amarillo indica las muestras obtenidas directamente de los productores.

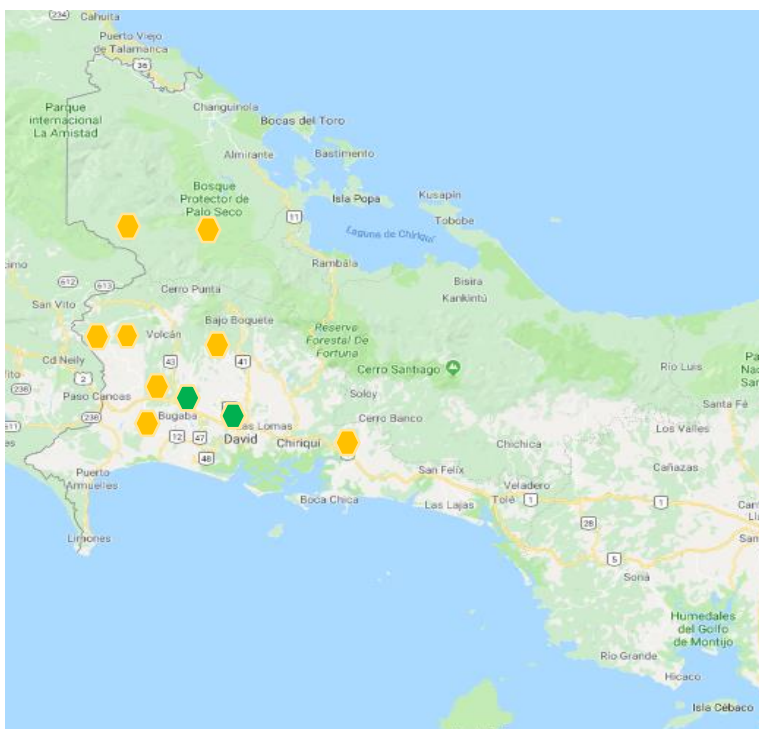


Figura N° 1. Origen geográfico de las muestras de miel de *Apis mellifera* analizadas en la provincia de Chiriquí, Panamá

Metodología

La determinación fisicoquímica de las muestras de miel de *Apis mellifera*, se realizó según el protocolo descrito en los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel, (Bogdanov, 2009). Mientras que para la determinación del origen floral se utilizó el método de tinción con safranina (Loveaux, et al. 1978).

Análisis de contenido de agua

El valor del contenido de agua, se determinó por el índice de refracción de la miel mediante un refractómetro (Milton Roy Abbe 3L Bogdanov, 2009), en el cual se colocó la muestra de miel en estado líquido y se esperó entre 2 a 5 minutos para hacer la lectura del índice de refracción. El procedimiento se repitió 2 veces para cada muestra y se tomó el valor promedio entre las dos. Entre la lectura de cada muestra se realizó la limpieza del lente para evitar la alteración de los resultados.

Determinación del contenido de hidroximetilfulfural (HMF)

Para determinar HMF, se utilizó un espectrofotómetro de longitudes de ondas que incluían 284nm y 336nm. El contenido de HMF se basa en la lectura de la absorbancia ultravioleta del HMF. Para evitar la interferencia de otros componentes a esta longitud de onda, se determina la diferencia entre las absorbancias de la muestra acuosa y de la muestra con bisulfito. El contenido de HMF se calcula después de restar la absorbancia a 336 nm (Bogdanov, 2009).

Análisis de acidez libre

Para la determinación de la acidez, se utilizó un Phímetro. El proceso se basa en la neutralización del ácido con un hidróxido, en presencia de un indicador interno llamado fenolftaleína (Bogdanov, 2009). Las muestras de miel se disolvieron en agua, seguido se midió el pH y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 Molar hasta alcanzar un pH de 8.30.

Análisis de la actividad enzimática diastasa

La presencia de la enzima diastasa se determinó por medio de un espectrofotómetro, utilizando una solución de almidón y yodo-yoduro. Para la misma se hace necesario utilizar una ecuación de regresión y así determinar el tiempo (tx) requerido para alcanzar la absorbancia a 0.235nm (Bogdanov, 2009).

Determinación de azúcares por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

El contenido de azúcar se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión con detección del Índice de Refracción (RI). Los picos se identificaron en función de sus tiempos de retención, en cuanto la cuantificación se realizó de acuerdo con el método estándar externo en las áreas de los picos o las alturas de los picos (Bogdanov, 2009).

Para la determinación de jarabes altos en fructosa se utilizó el método HPLC de jarabe, para verificar las muestras positivas y negativas (Wang, 2014).

Este método se basa en la detección de oligosacáridos típicos del jarabe de maíz que no se hidrolizan completamente durante el proceso de conversión del almidón de maíz en sirope de maíz (proceso enzimático), ya que estos oligosacáridos no se encuentran en la miel, cuando se pueden detectar en una miel de abeja es sinónimo de que esta ha sido adulterada con jarabe alto en fructosa como por ejemplo jarabe de maíz. Esta detección se hace a través de la aparición de un pico a un tiempo específico en el cromatograma (Umaña-Rojas, comunicación personal, 2019).

Análisis Melisopalinológico de las muestras de miel mediante el método de tinción con safranina.

Para el análisis melisopalinológico se utilizó 25g de miel por muestra, para identificar el origen botánico de las principales plantas utilizadas por *Apis mellifera* y conocer las plantas predominan en esa área (Sánchez, 2001).

Para la identificación del polen, se utilizó el método de tinción con safranina el cual consistió en colocar la muestra de miel en un beaker, agregándole 40 ml de agua destilada para luego mezclarlo hasta obtener una solución diluida.

Después se dividió la muestra a dos tubos de ensayo debidamente identificados preparando así la muestra por duplicado con volúmenes iguales. Una vez preparada la solución, posteriormente se centrifugo durante 4 minutos a 3000 r.p.m, y se decantaron los tubos de un golpe. Luego se colocó 1 cc de safranina en los decantados, esta solución sirve como medio de tinción de contraste de la exina del grano polen y posteriormente se llenaron con una solución de glicerol (50% glicerol + 50% agua). Esta solución se dejó 15 minutos

reaccionando para luego centrifugar durante 4 minutos y decantar para dejar los tubos completamente en posición vertical.

En la parte superior del tubo quedaron embebidos los granos de polen, se secaron en la estufa por 15-30 minutos a 60 grados y luego se guardaron en un gabinete protegido de la luz por 24 horas.

Posteriormente se procedió a preparar las láminas, de la siguiente manera:

-Las láminas se realizaron en jalea de glicerina como medio, rotulando un porta objetos con el número de la muestra.

-Con una aguja esterilizada se cortó una porción de la jalea de glicerina y posteriormente se pasó por el tubo que contiene el glicerol con los granos de polen.

- La porción de glicerina se colocó en el portaobjetos, luego se colocó en la estufa con cuidado de no sobrecalentar la muestra y por último se le coloca en cubre objeto.

- Finalmente se procede a la revisión de las láminas en el microscopio. Para eso se realizaron dibujos y esquemas de los diferentes tipos de polen Además de elaborar un listado ilustrativo que contengan las imágenes de los granos de polen por familia y especie.

Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo, para determinar si existen características significativas entre los grupos de miel del comercio y las muestras de miel obtenidas en el campo.

Para el análisis palinológico se utilizó estadística descriptiva para comparar el origen botánico de las diferentes muestras de miel y un análisis cualitativo con el método de *Hodges (1984)*, clasificando los granos de polen en las siguientes categorías según su abundancia relativa en cada una de las muestras:

- Categoría 1: Polen Dominante, presente en más de 45%
- Categoría 2: Polen secundario, presente entre 16-45%
- Categoría 3: Polen menor intermedio 3-15%
- Categoría 4: Polen menor de 3%.

Y con la ayuda de Minitab 18 se hizo un análisis de correlación para conocer el grado de dominancia y la clasificación de los mismos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la normativa vigente para la regulación de la miel de abejas de *Apis mellifera* Codex Alimentario, (2001) y el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT (66-2002) la miel debe cumplir con parámetros de calidad, los parámetros evaluados en el presente trabajo deben cumplir con los siguientes valores:

- ✓ Humedad: Máximo 20%
- ✓ Acidez libre: no podrá superar los 50 miliequivalentes de ácido por 1000g
- ✓ Contenido de Hidroximetilfurfural: Máximo 80 mg/kg para miel de origen tropical.
- ✓ Valor de Referencia para la actividad de la diastasa: mínimo 8 en la escala de Schade y mínimo 3 en mieles con bajo contenido enzimático.
- ✓ Valor de Referencia para contenido de azúcares: fructosa y glucosa mínimo 60 g/100g.
- ✓ Contenido de sacarosa: máximo 5 g/1 00g

Análisis de contenido de agua:

Los resultados obtenidos del contenido de humedad para las 16 muestras analizadas de miel de *Apis mellifera*, se muestran en la Tabla N°1.

Tabla N°1. Porcentaje de humedad obtenido en las muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de comercio Vs la de productores.

Muestras de Comercio	Porcentaje de humedad ± 0.2	Muestras de productores	Porcentaje de humedad ± 0.2
C1	18.2	P1	17.2
C2	18.2	P2	17.3
C3	15.8	P3	17.0
C4	18.0	P4	15.6
C5	17.1	P5	16.6
C6	18.1	P6	18.5
C7	16.5	P7	17.3
C8	17.2	P8	17.1

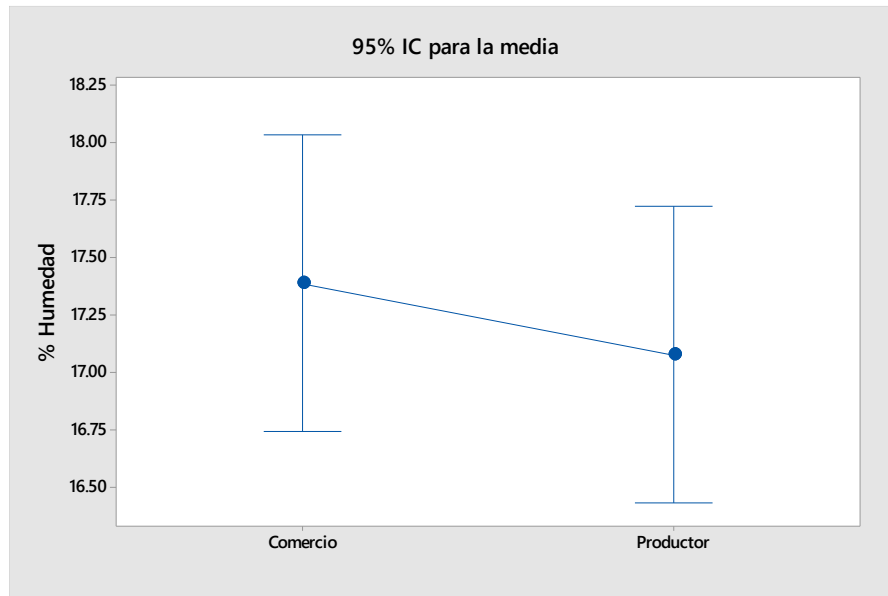
El 100% de las muestras analizadas cumplen con los requisitos de porcentaje de humedad requerido por el Codex Alimentario (2001) para miel de abeja *Apis mellifera*, ya que todas

las muestras presentan valores inferiores a 20 % de porcentaje de humedad establecido en el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT de Panamá.

El que todas las muestras de miel analizadas cumplieran con los valores establecidos de humedad en las normas vigentes, sugiere que la miel fue cosechada con un grado de madurez óptimo, posiblemente fueron marcos con un porcentaje de operculación de entre un 85-95%.

Es importante analizar este parámetro en la miel, debido a que es un factor determinante de su calidad que influye en la viscosidad y peso específico, condicionando la palatabilidad y el sabor de la misma. El hecho de que hayan sido mieles que no superan el 20% de humedad, incide en la disminución de riesgo de que las mieles puedan llegar a fermentarse. Esto debido a que algunos autores como *Tosi et al., (2008)*, señalan que en mieles que presentan valores de 18% de agua, la cristalización hace que aumente el contenido de agua de la fase líquida y por tanto la actividad de agua (a_w), puede alcanzar fácilmente un nivel en el que puede ocurrir la fermentación.

En la siguiente (Figura N°2) se puede evidenciar que no existen diferencias significativas con un valor de p mayor a 0.05 para el porcentaje de humedad entre mieles de comercio/productores. Ninguna de las muestras de miel analizadas, superó el máximo permitido (20%) establecido por el *Codex Alimentario (2001)*. Sin embargo, el 63% de las muestras presentaron valores superiores al 17,1% de humedad considerado por varios autores como límite para una miel de buena calidad (*Beliz y Grosch, 1997*) lo cual es muy satisfactorio.



Figuras N° 2 Intervalos de porcentaje de humedad de las muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá.

Como parámetro de calidad, el porcentaje de humedad está relacionado con la fermentación, pues la granulación aumenta el contenido de agua libre, haciendo a la miel susceptible de ataque microbiano (*Huidobro, 1984*). Por lo que las condiciones de almacenamiento y envasado deben ser adecuadas para que no haya pérdida de la calidad del producto, pues si la temperatura es alta, la miel corre riesgo de fermentación si la humedad es superior al 18,5%, o de cristalizar mal (*Pajuelo, 2004*).

Los resultados obtenidos en el contenido de agua de este trabajo (Tabla N ° 1) son similares a los encontrados por *Montenegro A. (2002)* en mieles de Chiriquí-Panamá de diferentes orígenes geográficos y botánicos, las cuales presentaron porcentajes de humedad entre 15,4% y 18,6%.

En general, los valores obtenidos en cada una de las muestras de miel analizadas, indican una madurez y momento de extracción de la miel adecuada, lo que significa que estas mieles se cosecharon con un grado madurez entre 85 a 95% lo ideal para mieles maduras, en especial por tratarse de mieles de regiones tropicales como la provincia de Chiriquí-Panamá.

Cabe mencionar que las mieles obtenidas en campo por parte del productor no presentaron alteraciones ni se detectaron signos de fermentación, lo que sugiere que son mieles frescas y cosechadas en el momento oportuno.

Acidez libre:

Al evaluar el parámetro de acidez libre en las muestras de miel, nos permitió conocer el grado de frescura que presentaban las muestras de miel, tanto de los productores como las obtenidas en el comercio, de la Provincia de Chiriquí-Panamá. Los resultados de la acidez libre de las muestras de miel analizadas se presentan en la siguiente Tabla (N° 2).

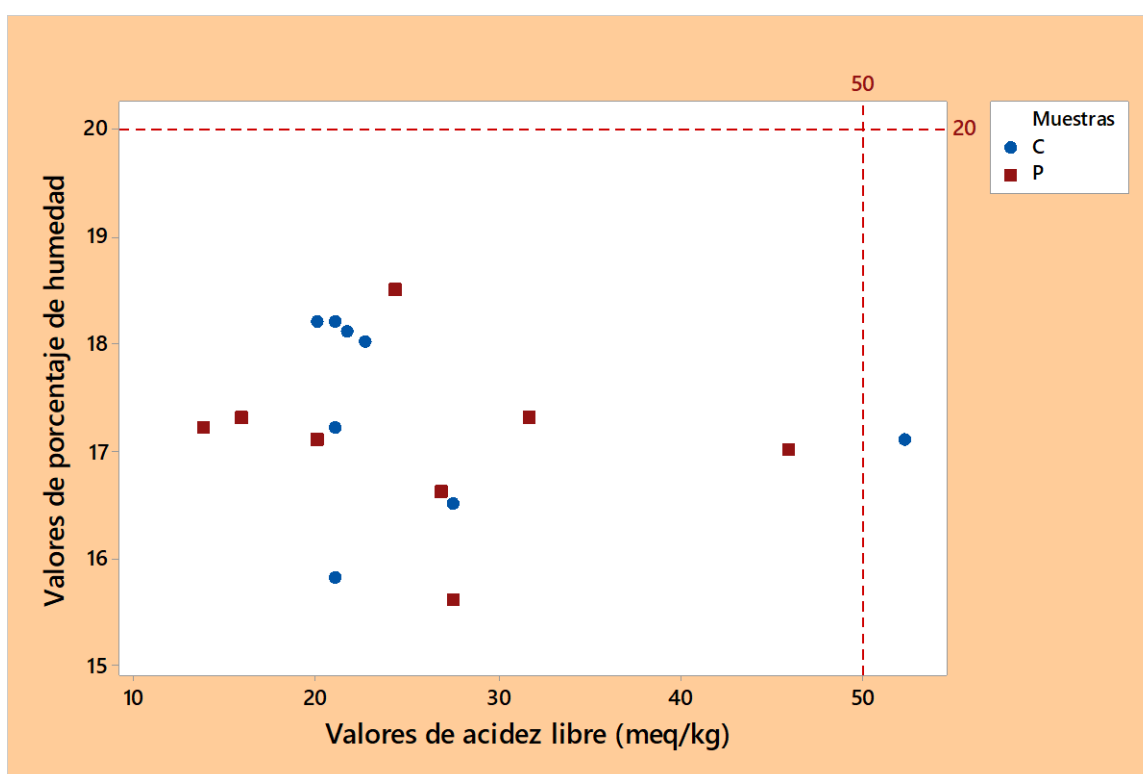
Tabla N° 2. Valores de acidez libre (meq/kg) de miel de abeja (*Apis mellifera*) obtenidas de productores y comercios de la provincia de Chiriquí, Panamá.

<i>Muestras de comercio</i>	<i>Valores de acidez (meq/kg) ± 1</i>	<i>Muestras de productores</i>	<i>Valores de acidez (meq/kg) ± 1</i>
C1	20	P1	14
C2	21	P2	16
C3	21	P3	46
C4	23	P4	27
C5	*52	P5	27
C6	22	P6	24
C7	27	P7	32
C8	21	P8	20

*Valor superior

Los resultados obtenidos para la acidez libre indican que no existen diferencias significativas, debido a que el valor p es mayor a 0.05 en las muestras de miel de comercios y productores. El 81.25% de las muestras presentaron valores inferiores a 30 meq/kg y el 12.5% presentaron valores entre 31 y 40 meq/kg, lo cual indica que las muestras cumplen con el límite establecido por el *Codex Alimentario (2001)*. Mientras que solo una muestra presentó un valor superior a 50 meq/kg, el cual ha sido establecido como el límite máximo permitido en miel de *Apis mellifera*, según el *Codex Alimentario (2001)*.

Al comparar los parámetros de porcentaje de humedad y acidez libre de las muestras analizadas (la Figura N°3) se observa que todas las muestras de miel de *Apis mellifera* de productores y comercios cumplen con el valor establecido en las Normas vigentes para el porcentaje de contenido de agua. En lo que respecta al valor de acidez libre permitido, todas las muestras de productores cumplen con el valor establecido en el Codex Alimentario (2001), mientras que únicamente una muestra de comercio sobrepasa el valor permitido para este parámetro.



Figuras N° 3. Distribución de las 16 muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de comercios y productores, según el contenido el porcentaje de humedad y el valor de acidez libre.

El valor de acidez libre de la muestra del comercio (C5), que está ligeramente superior a lo permitido por la norma, pueda deberse a condiciones de almacenamiento, manejo en la cosecha y/o a la capacidad de la miel de absorber agua sino está herméticamente cerrada. Además, autores como *Londoño y Quicazan (2007)*, mencionan que este parámetro puede verse afectado por el uso de ácido láctico o fórmico para combatir la Varroa, por lo que la

acidez de la miel aumenta, además, el sobrecalentamiento es otro factor que se puede ver reflejado en un alto valor de acidez.

Determinación del contenido de hidroximetilfulfural (HMF):

La determinación de la cantidad de HMF en la miel, se utiliza como un indicador de envejecimiento o calentamiento, ya que esta enzima no existe de forma natural en la miel (*White J. 1992*).

En el presente trabajo, tal como se muestra en la tabla (N°3), 15 muestras (entre ellas, 7 corresponden a comercio y todas las muestras de productores) cumplieron con el máximo permitido de 80 mg/kg para mieles tropicales, establecido por el *Codex Alimentario (2001)* y el *Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002)*. Indicando que son mieles frescas y que han sido manipulada con buenas prácticas de procesamiento.

Tabla N° 3 Contenido de HMF (mg/kg), de las muestras de miel de *Apis mellifera* analizadas (productores y comercios) de la provincia de Chiriquí, Panamá

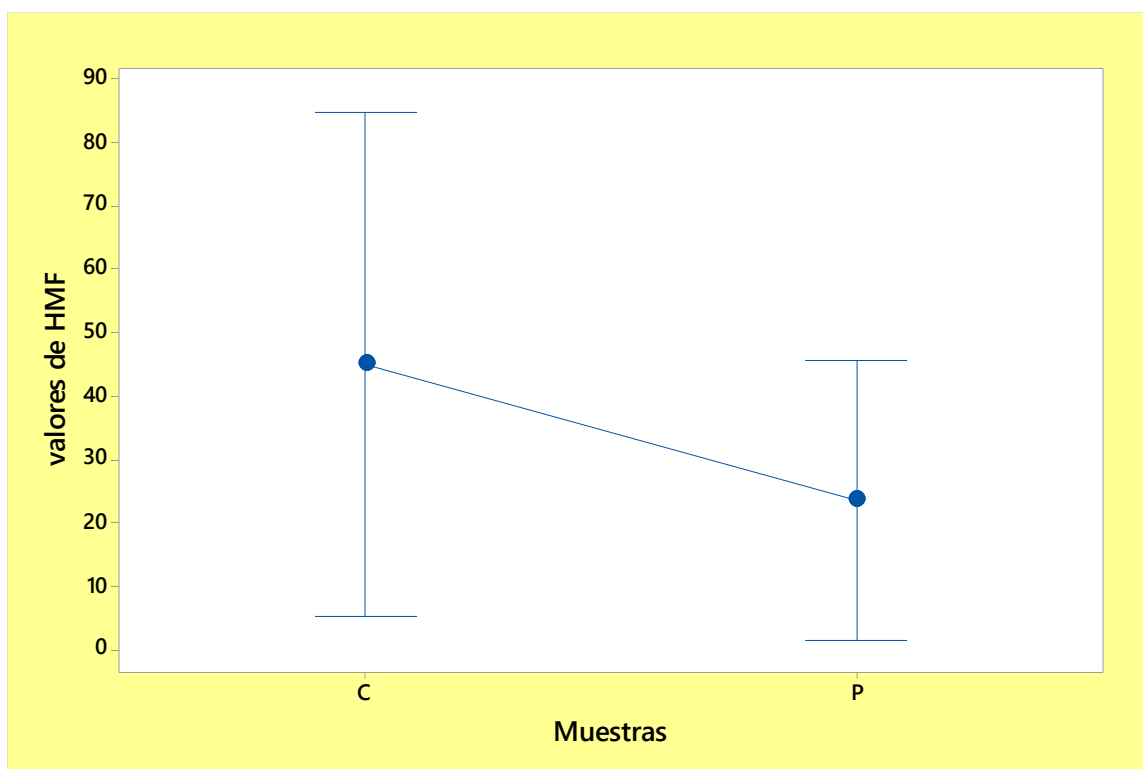
Muestras de comercios	Valores de HMF (mg/kg)	Muestras de productores	Valores de HMF (mg/kg)
	± 2		± 2
C1	73	P1	46
C2	75	P2	25
C 3	18	P3	<1
C4	<1	P4	<1
C5	134	P5	64
C6	6	P6	<1
C7	53	P7	<1
C8	<1	P8	50

La muestra (C5) correspondiente a las analizadas del comercio, que presento un valor superior al establecido por la norma indica que esta miel ha pasado por un proceso de almacenamiento y procesamiento inadecuado; sugiriendo que esta muestra, posiblemente fue expuesta a altas temperaturas durante su procesamiento y/o almacenamiento (Huidobro y Simal 1985). Autores como Bosh y Serra (1986), mencionan que el contenido de HMF va

aumentando espontáneamente con el transcurso del tiempo a temperatura ambiente, observándose una notable diferencia del incremento según procedan de zonas frías cálidas, siendo estas últimas, según estudios en mieles españolas, las que presentan valores superiores. Lo anterior, pudo haber incidido en el incremento de HMF de la muestra C5 procedente del comercio.

Las seis muestras (37.5%) que presentan valores de contenido de HMF <1 , indican que son mieles recién cosechadas, frescas al momento del análisis, que presentan buenas practicas de procesamiento y certeza que la miel no ha sido adulterada con azúcar inveretido, ya que el HMF es un producto de la descomposición de la frucosa por la acción de la temperatura; entre mayor sea esta mayor será la degradación (Umaña, 2006).

Al analizar los resultados de las muestras de ambos grupos (comercio y productores) para este parámetro, muestran que no existen diferencias significativas entre las medias de los valores de HMF del total de las muestras analizadas, tal como se presenta en la Figura N° 4.



Figuras N° 4 Intervalos de los valores de las medias de HMF, de las muestras de miel de *Apis mellifera*, de productores vs comercio.

De manera general, de acuerdo a los resultados obtenidos para este parámetro, se puede decir que la mayoría de las muestras analizadas (excepto una) de la zona de Chiriquí-Panamá, son mieles frescas y que no han sido expuestas a temperaturas excesivas durante su almacenamiento.

Por otro lado, se ha evidenciado, durante el almacenamiento, un menor incremento de HMF en mieles de productores recién cosechadas que en las obtenidas del comercio, circunstancias que se atribuyen a un pH más alto (*Huidobro y Simal 1985*). La presencia de altos contenidos de hidroximetilfurfural también pueden ser indicadores de la adición a la miel, de azúcar invertido obtenido por hidrólisis química (*Serra y Gomez, 1986*).

Análisis de la actividad enzimática de la diastasa:

El evaluar la presencia de diastasa en la miel, nos permite conocer si la miel no ha sido calentada y si es una miel relativamente fresca, es decir que no ha sido almacenada por largos períodos de tiempo (*Sancho et al., (1992)* y *White J. (1994)*).

En la siguiente tabla (N °4), se muestran los resultados obtenidos para los valores de la actividad de diastasa para cada una de las muestras analizadas.

Tabla N° 4. Valores de diastasa de las muestras de miel de abeja (productores y comercios), de la provincia de Chiriquí, Panamá

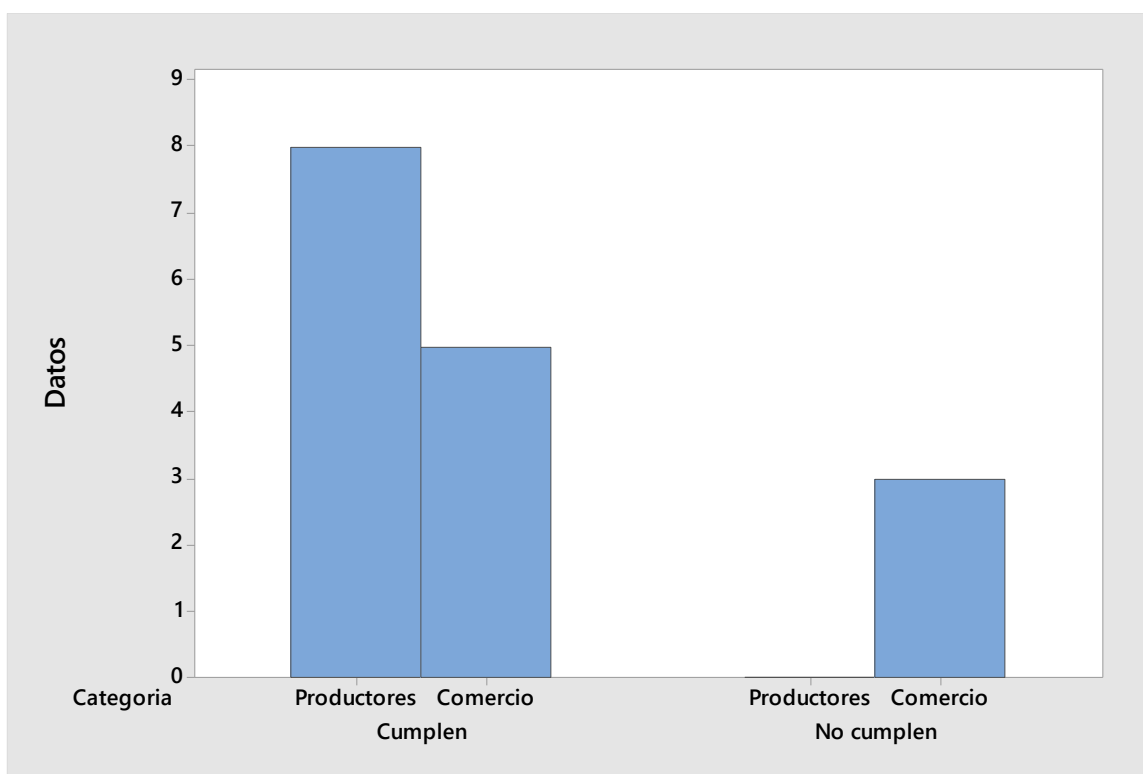
Muestras de productores	Valor de diastasa	Muestras de comercios	Valor de diastasa
P1	28 ± 2	C1	7 ± 1
P2	14 ± 1	C2	8 ± 1
P3	20 ± 2	C3	15 ± 2
P4	37 ± 3	C4	18 ± 2
P5	19 ± 2	C5	* <1
P6	16 ± 2	C6	*5 ± 1
P7	19 ± 2	C7	* <1
P8	33 ± 3	C8	11.7

*Valor fuera de rango

Un total de 13 muestras (81.25%) de los dos grupos evaluados (comercios y productores), presentaron valores de diastasa superiores a 8° unidades Gothe, lo cual indica que cumplen con lo estipulado en la norma de calidad, ya que el mínimo requerido es 8 unidades Gothe. Sin embargo, 3 de las muestras analizadas (18.75%) presentan valores inferiores a lo

establecido por el *Codex Alimentario (2001)*, por ende, se puede decir que estas no cumplen con los requisitos de calidad establecidos para la actividad de diastasa en miel de abejas (*Apis mellifera*), lo que puede inferir que fueron muestras que presentaron un almacenamiento prolongado y/o un leve incremento de la temperatura durante su cosecha.

Al comparar los valores obtenidos de diastasa en las muestras de miel de los grupos evaluados, vemos que no existen diferencias significativas ya que el valor de p es mayor a 0.05. El 100% de las muestras de los productores, cumplen con lo establecido por el Codex 8 unidades Gothe (como mínimo), mientras que el 62.50% de las muestras obtenidas del comercio cumplen con dicho parámetro, tal como se muestra en la Figura (N°5).



Figuras N° 5. Muestras de miel de abeja (productores y comercio) de la provincia de Chiriquí, Panamá que cumplen con el valor de Diastasa según el Codex Alimentario (2001).

Es importante mencionar, que tanto el hidroximetilfurfural como la diastasa son indicadores de frescura, y pueden cambiar al transcurrir el tiempo, aumentando así el hidroximetilfurfural y disminuyendo la actividad diastásica. Autores como *Huidobro y Simal (1984)*, menciona que la concentración de HMF, está relacionada con la actividad

enzimática existente, de modo que aquellas mieles con un índice de diastasa bajo, posiblemente poseerán cifras altas de hidroximetilfurfural lo que sería indicativo de una conservación inadecuada. Tal es el caso de la muestra de comercio C5, la cual presenta un contenido de HMF de 134,33 mg/Kg, y un valor de diastasa menor a <1 unidades Gothe, indicando que es una miel que posiblemente presentó un manejo inadecuado al momento de la cosecha, por parte del apicultor, y/o fue calentada de manera excesiva.

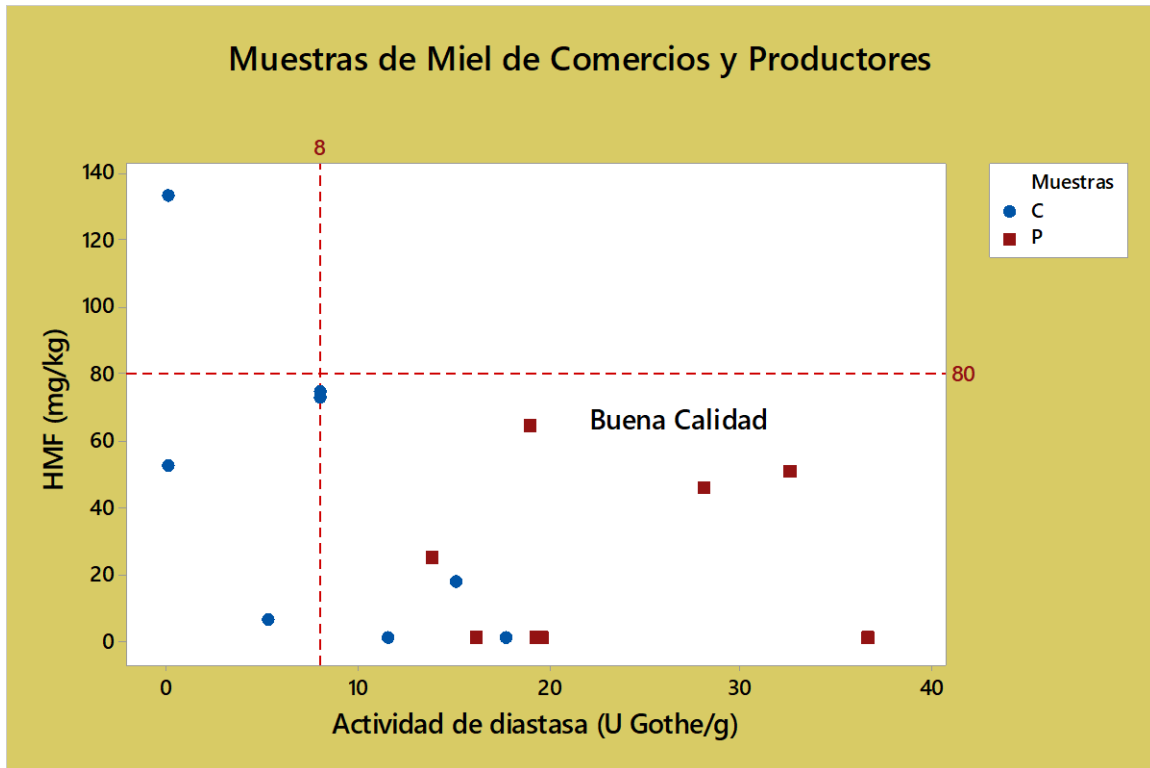
Los resultados para HMF y la actividad de diastasa de las muestras analizadas de ambos grupos (productores y comercio) se presentan en la figura (N° 6). En donde la línea horizontal parte del máximo permisible de HMF y la línea vertical parte del mínimo requerido para la actividad de la enzima diastasa. De esta manera se forman cuatro cuadrantes de la calidad para la frescura y buenas prácticas de procesamiento de la miel.

El primer cuadrante, derecho inferior: corresponden a mieles frescas y bien procesadas que cumplen con ambas especificaciones para HMF y diastasa y que se consideran de buena calidad respecto a estos parámetros (todas las muestras de productores y de comercio únicamente tres muestras correspondientes a las muestras C1, C2, C3, C4 y C6).

El segundo cuadrante, derecho superior: corresponden a mieles que cumplen con la actividad de diastasa, pero no con el contenido de HMF, ninguna de las muestras analizadas presenta esta característica.

El tercer cuadrante, izquierdo inferior comprende a mieles que cumplen las especificaciones para HMF pero no para la actividad de diastasa, las cuales corresponden a dos muestras de comercio: C6 y C7. El cuarto cuadrante, izquierdo superior: se refiere a mieles que no cumplen con ambas especificaciones, la cual corresponde a la muestra de comercio C5.

De manera general podemos decir que en los tres últimos cuadrantes de la gráfica se ubican las mieles de mala calidad en cuanto a frescura y buenas prácticas de procesamiento.



Figuras N° 6 Distribución de la calidad de las 16 muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de comercios y productores, según el contenido de HMF y la actividad de diastasa.

Azúcares:

La determinación de azúcares por HPLC corresponde aproximadamente a la suma de los principales azúcares de la miel; fructosa y glucosa. Los resultados obtenidos del contenido de azúcares en mieles, de *Apis mellifera*, de la provincia de Chiriquí- Panamá, se detallan en la Tabla (N° 5) donde el 100% de las muestras analizadas presentaron valores dentro de los parámetros normales establecidos para las mieles de flores, cumpliendo con lo establecido por las normativas vigentes para miel de abeja de *Apis mellifera*.

Tabla N° 5. Contenido de azúcares de muestras de miel de *Apis mellifera* de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá.

Muestras de comercio	Valor de azúcares (Glucosa y Fructosa) en g/100 g ± 1	Muestras de productores	Valor de azúcares (Glucosa y Fructosa) en g/100 g ± 1
C1	72	P1	71
C2	85	P2	76
C3	66	P3	69
C4	70	P4	74
C5	63	P5	70
C6	70	P6	73
C7	64	P7	71
C8	69	P8	72

Los resultados obtenidos para el análisis de azúcares muestran que no existen diferencias significativas entre las muestras de productores y comercios según la prueba de Kruskal-Wallis donde el valor de p es mayor a 0.05.

Crane (1975) menciona que los diferentes tipos de azúcares en la miel suelen tener los mismos azúcares, pero en cantidades variables, lo cual está relacionado con la flora y en menor influencia con el clima y origen geográfico.

Sacarosa:

Los resultados obtenidos para sacarosa se pueden observar en la Tabla N° 6. En 6 muestras de comercio no se detectó sacarosa (< 0.2), representando el 62.5% del total de las muestras del comercio, lo que indica que estas mieles cumplen con la normativa *Codex Alimentario (2001)* y el *Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002)*.

Tabla N° 6. Contenido de sacarosa de las muestras de miel de *Apis mellifera*, de comercios y productores: de la provincia de Chiriquí-Panamá.

Muestras de comercio	Valores de Sacarosa en g/100g	Muestra de productores	Valores de Sacarosa en g/100g
C1	< 0.2	P1	< 0.6
C2	< 0.2	P2	< 0.2
C3	< 0.2	P3	1.4 ± 0.2
C4	< 0.2	P4	< 0.6
C5	*11.8 ± 0.2	P5	< 0.2
C6	< 0.2	P6	< 0.2
C7	*14.0 ± 0.2	P7	< 0.2
C8	< 0.2	P8	< 0.2

*Valor superior a lo establecido

Dos de las muestras de miel de abeja obtenidas del comercio, presentaron valores superiores a lo establecido por la norma (*Codex Alimentario, 2001*) lo cual indica que estas muestras no estarían cumpliendo con los parámetros de calidad, ya que lo máximo establecido es máximo 5 g/100g de miel. Esto puede deberse a que se cosecho una miel inmadura (menos del 85-95% de operculación) o ha sido una miel que ha sido adulterada con sacarosa.

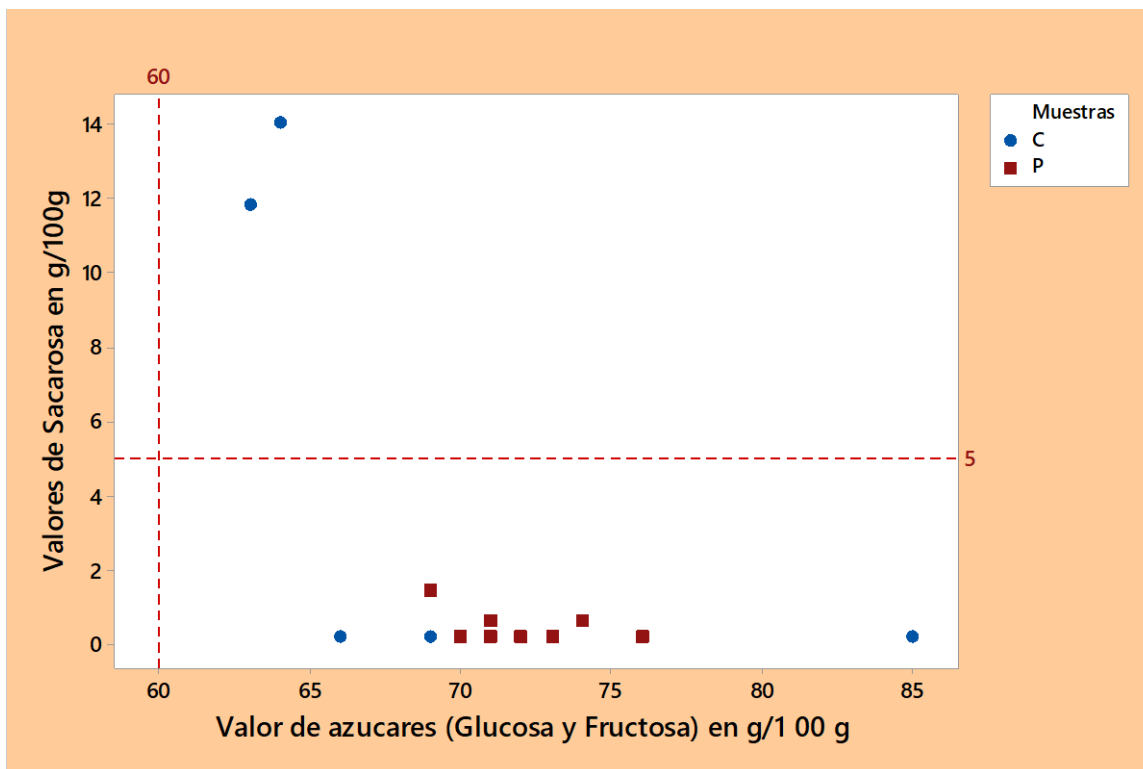
Mientras que el 100% de las muestras de miel de los productores cumplen con la normativa *Codex Alimentario (2001)* y *el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT (66-2002)*.

Cuando el contenido de sacarosa se encuentra en concentraciones elevadas, indica que la miel no ha sido madurada adecuadamente (*Bogdanov S, 1997*). Siempre y cuando el contenido de agua se manifieste normal (que no supere el 20 %) establecido por la norma lo cual de acuerdo a los resultados obtenidos efectivamente ocurrió.

Como se pudo observar en la (tabla N° 1) las muestras C5 y C7 cumplen con la normativa para el contenido de agua. Sin embargo, para el contenido de sacarosa no cumplen, lo que puede indicar que no son mieles que se cosecharon inmaduras, si no que han sido adulteradas con sacarosa en su máxima expresión.

En la Figura N° 7 se observan los valores de sacarosa, glucosa y fructosa de las 16 muestras de miel analizadas de la zona de Chiriquí-Panamá. En la parte superior del grafico se ubican las dos muestras de comercio (C5 Y C7) que resultaron adulteradas con sacarosa,

mientras que en la parte inferior se ubican las muestras con los valores permitidos para sacarosa, glucosa y fructosa; las cuales corresponden a seis muestras de comercio (C1, C2, C3, C4, C6 y C8) y todas las muestras analizadas de productores.



Figuras N° 7 Distribución de las 16 muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de comercios y productores, según el contenido de sacarosa, fructosa y glucosa

Adulteración de jarabes altos en fructosa

Los resultados obtenidos en este estudio para jarabes altos en fructosa se muestran en la (tabla N° 7), donde el 100% de las muestras de miel de *Apis mellifera* de la provincia de Chiriquí-Panamá son negativas para este tipo de adulteración. Sin embargo, esto no quiere decir que no estén adulteradas con otros azúcares.

Tabla N°7. Detección de jarabes altos en fructosa en las muestras de miel de *Apis mellifera* de la provincia de Chiriquí, Panamá.

Muestras de comercio	Adulteración de Jarabes altos en Fructosa	Muestras de productores	Adulteración de Jarabes altos en Fructosa
C1	Negativo	P1	Negativo
C2	Negativo	P2	Negativo
C3	Negativo	P3	Negativo
C4	Negativo	P4	Negativo
C5	Negativo	P5	Negativo
C6	Negativo	P6	Negativo
C7	Negativo	P7	Negativo
C8	Negativo	P8	Negativo

Las pruebas físicas y químicas se pueden agrupar en categorías según los parámetros de calidad que determinan, ya que un solo tipo de análisis puede ser indicador de más de un parámetro de calidad. En la siguiente Tabla (N°8), se observan las muestras de miel analizadas de ambos grupos (miel y comercios) que cumplen con los parámetros de calidad según la norma del *Codex Alimentario (2001)* y el *Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002)*.

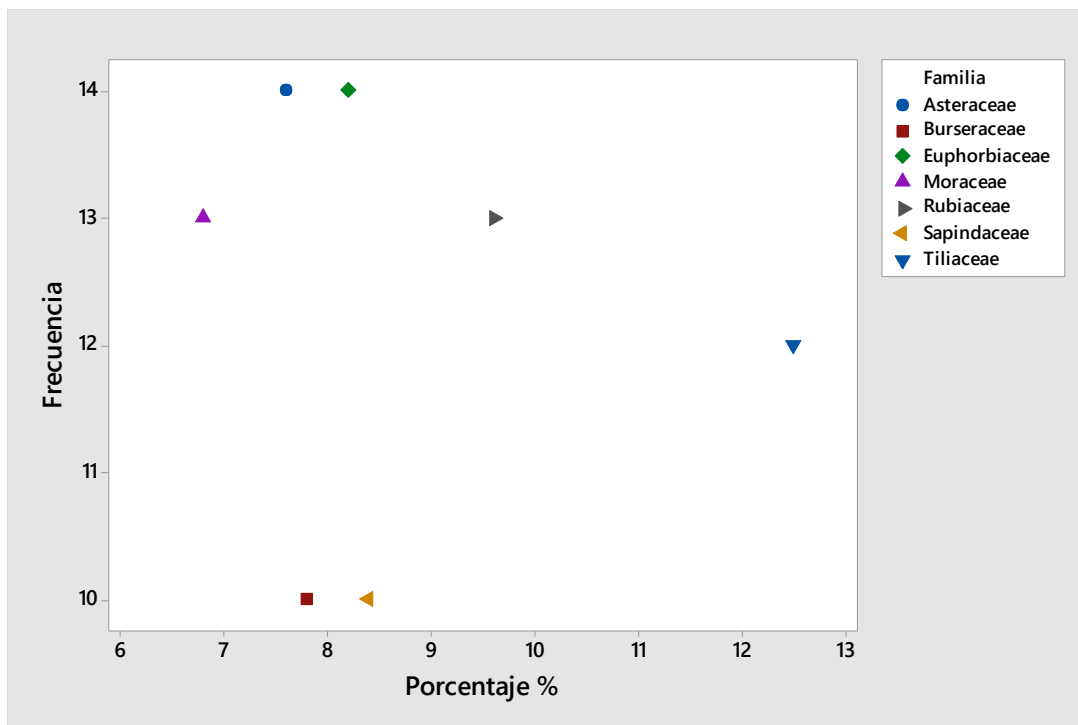
Tabla N° 8. Muestras de miel (*Apis mellifera*) de comercio y productores de la provincia de Chiriquí-Panamá que cumplen con los parámetros de calidad según el Codex Alimentario (2001).

<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	Indicador	N° de muestras de Comercio (n=8)	N° de muestras de Productor (n8)
<i>% de agua</i>	Madurez	8	8
<i>Acidez libre</i>	Madurez	7	8
<i>HMF</i>	Frescura y envejecimiento	7	8
<i>Diastasa</i>	Frescura y envejecimiento	5	8
<i>Fructosa y glucosa</i>	Adulteración	8	8
<i>Sacarosa</i>	Adulteración	6	8
<i>Jarabes altos en Fructosa</i>	Adulteración	8	8

Análisis palinológico:

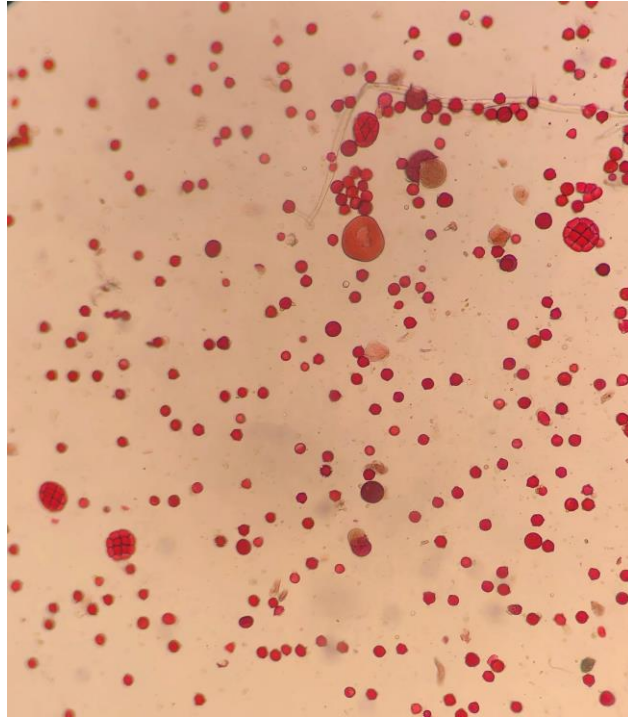
Los resultados para el análisis palinológico de las muestras de miel de *Apis mellifera*, muestran que el 100% de las muestras de productores y el 75% de comercios salió con gran diversidad de polen. En ninguna de las muestras se dió una dominancia de un tipo de polen superior al 45 %, según los conteos de frecuencia realizados en las láminas. Lo cual indica que la procedencia de las mieles es de tipo multifloral, lo que sustenta la hipótesis de que el origen botánico de las muestras corresponde a este tipo de miel. Solamente 2 (12.5%) muestras (C5 y C7) de las muestras obtenidas de comercio salieron sin polen, esto se debe a que estas mieles están adulteradas en su máxima expresión con sacarosa y casi no contienen miel, por tanto, no hay trazas de polen presentes. Por tal motivo no se consideran para demostrar el origen botánico de las mismas. Estos resultados para estas muestras concuerdan con el análisis de sacarosa mediante HPLC (Tabla N° 6).

En el presente estudio las familias botánicas con mayor frecuencia (Figura N° 8) presentes en las muestras analizadas son la Asteraceae, Euphorbiaceae (14), seguido de la Rubiaceae y Moraceae (13), Tiliaceae (12), Burseraceae (10) y por último Sapindaceae (10).

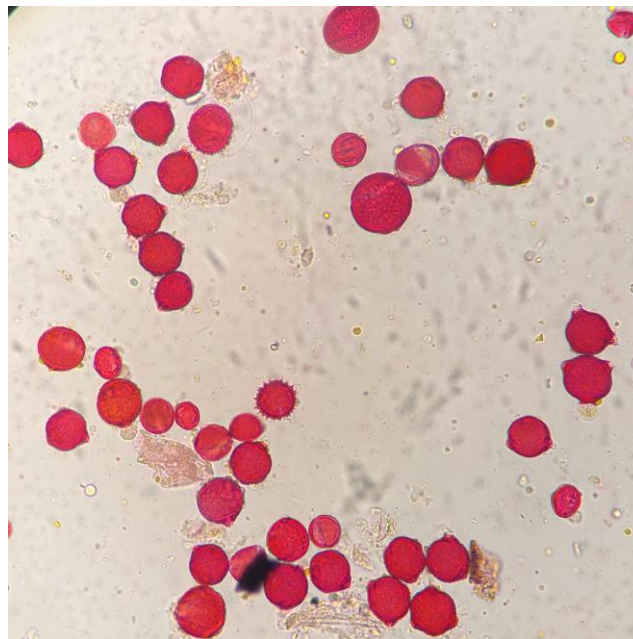


Figuras N° 8 Familias botánicas con mayor frecuencia presentes en las muestras de miel (*Apis mellifera*) de la provincia de Chiriquí, Panamá.

En las figura N° 9 y 10 se puede observar la diversidad de polen encontrada en muestras de miel de productores y comercios analizadas de la provincia de Chiriquí, Panamá. Indicando que las muestras analizadas son mieles de origen polifloral, aceptando la hipótesis planteada en dicho estudio.



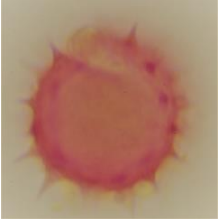
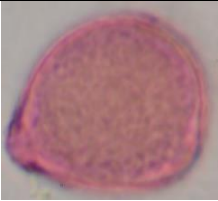
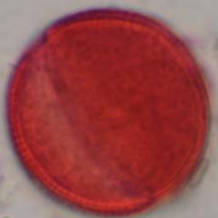

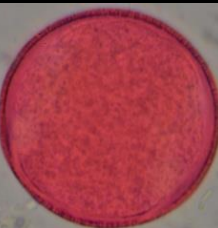
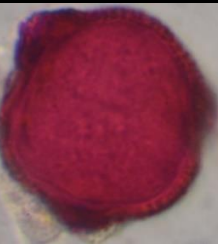
Figuras N° 9 Diversidad de granos de polen presente en una muestra de miel (*Apis mellifera*) de origen polifloral, tomada a 4X.

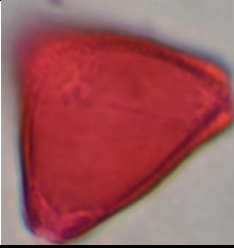
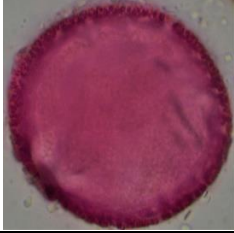


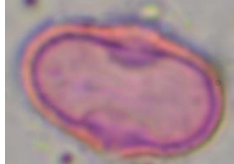



Figuras N° 10 Diversidad de granos de polen presentes en una muestra de miel (*Apis mellifera*) de origen polifloral, tomada a 10 X.

En la tabla N°9 se presentan las especies con mayor frecuencia, encontradas en las muestras de miel analizadas. Estas familias son importante fuente de néctar y polen para las abejas.

Tabla N°9. Granos de polen identificados en las muestras de miel de abeja de comercios y productores de la provincia de Chiriquí, Panamá.

Familia	Especie	Ilustració	% Frecuencia
Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i>		14
Euphorbiaceae	<i>Acalypha sp.</i>		14
Rubiaceae	<i>Psychotria sp</i>		13
Moraceae	<i>Brosimum alicastrum</i>		13
Tiliaceae	<i>Apeiba tibourbou</i>		12
Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>		10

Sapindaceae	<i>Cupania sp.</i>		10
Euphorbiaceae	<i>Croton draco</i>		8
Sapindaceae	<i>Pullinia sp.</i>		9
Moraceae	<i>Cecropia insignis</i>		9
Moraceae	<i>Cecropia peltata</i>		8
Euphorbiaceae	<i>Croton panamensis</i>		8

V. CONCLUSIONES

Se determinó la calidad de las muestras de miel de *Apis mellifera*, de productores y comercio de la provincia de Chiriquí-Panamá, donde los valores obtenidos en las 8 muestras de productores y las 8 de comercio cumplen con el contenido de humedad y acidez libre. Todas las muestras de mieles estudiadas cumplen con los parámetros de calidad establecido por el Codex Alimentario (2001) y el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002) lo cual corresponde a un producto estable, e indica que el momento de su extracción y de madurez fueron los adecuados.

Los valores obtenidos en HMF y diastasa, nos permiten conocer de manera general la calidad de la miel de comercio y la obtenida por los productores de la provincia Chiriquí-Panamá, donde las 8 muestras correspondientes a productores y 7 muestras de comercio cumplieron con el máximo permitido de 80 mg/kg para mieles tropicales, y para la actividad diastasa las 8 muestras de productores y 5 de comercio cumplen con los parámetros de calidad. Las muestras reflejan una diferencia entre ambos parámetros, existiendo una posible relación inversa entre estos dos parámetros.

Los resultados del contenido de azúcares, (glucosa y fructosa) indican que el 100% de las muestras cumplieron con lo establecido por las normativas vigentes para miel de *Apis mellifera*. Mientras que para sacarosa únicamente el 25 % de las muestras de comercios no cumplen con lo establecido por el Codex Alimentario (2001) y el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002).

Todas las mieles analizadas, correspondientes a la provincia de Chiriquí-Panamá son de origen botánico multiflorales, donde las familias con mayor frecuencia fueron: Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae, Moraceae, Burseraceae y Sapindaceae.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar más estudios sobre calidad de miel de abeja de diversas zonas geográficas de Panamá con el objetivo de determinar las características físico químicas y el origen botánico de las mieles de otras regiones del país. A su vez es importante realizar estudios sobre la capacidad antioxidantes que poseen dichas mieles.

- ✓ Realizar una base de datos ilustradas sobre los recursos botánicos utilizados por *Apis mellifera*, no solo en la provincia de Chiriquí si no en diferentes zonas de Panamá.

- ✓ Recomendar a los apicultores que al momento de la cosecha se extraigan los panales que cumplan con el porcentaje de maduración adecuado, para así evitar que la miel pueda fermentarse con el pasar del tiempo, al igual que el manejo que se le dé en la sala de envasado, por ejemplo, sellar las mieles herméticamente para así evitar que esta absorba agua del medio y almacenarla en un lugar fresco.

- ✓ Que las autoridades que estén a cargo de velar por el cumplimiento de las normativas vigentes para miel de abejas, hagan efectivo los establecido en dichas normativas, ya que, en el presente estudio, dio como resultado mieles que no cumplen con el reglamento que establece la ley, vendiéndose en los mercados mieles adulteradas y que no cumplen con los parámetros físico químicos establecidos por el Codex Alimentario (2001) y el Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 66 (2002).

VII. BIBLIOGRAFIA

Anónimo. (2003). Real Decreto 1049/2003 de 1 de agosto de 2003, por el que se aprueba la norma de calidad realativa a la miel. BOE,186: 30181-30183. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2003-15598>

Arrieta, E. Y Umaña, M. (2006). Diagnóstico de la adulteración y mal procesamiento de mieles comerciales por medio de las pruebas de HMF, diastasa y HPLC para azúcares. Tesis. Universidad Nacional de Costa Rica. Costa Rica. Pág. 10-23.

Belitz, H.D Y Grosh, W. (1988). Química de los alimentos. (3rd ed), Zaragoza: Acribia

B.O.E. (Boletín Oficial del Estado) (2003). Norma de Calidad relativa a la miel, nº 186(pp.30181-30183) Madrid, España.

Bogdanov, S.; K. Ruoff & L. Persano. (2004). Physico-chemical method for the characterisation of unifloral honey: a review. *Apidologie*. 35(1): S4 –S17

Bogdanov, S. (2009). Harmonized methods of the International Honey Commission. Disponible en: <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>

Bogdanov S, (1997). Martin P, Lullman C. Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie* ; Extra issue 1:59.

Bosh, J. Y Serra, J (1986). Evolución del contenido en hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el mercado español. *Alimentaria*, 179, 59. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5251568>

Comisión Del Codex Alimentarius (1981). “Revised Codex Standard for Honey”. Codex Stan 12-1981; 2 pp.

Comisión Del Codex Alimentarius (2001). Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Disponible en línea: <http://www.fao.org/3/a-a0369s.pdf>.

Crane E. (1976). “Honey, a comprehensive survey”. Heinemann; London, UK; 608pp.

Crane, E. (1975). Honey: A comprehensive survey. Internacional Bee Research Association (IBRA). Ed. Heinemann. Londres

DGNTI - COPANIT 66 (2002). Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 66-2002. azúcar y melazas. miel de abejas. Ministerio de Comercios e Industrias. Panamá. Disponible en: <le:///E:/PP1%20Y%20PP2/reglamento%20de%20miel%20de%20Panamá.pdf>

Díaz Camaño, C.A. (2003). Determinación del origen floral y caracterización física y química de mieles de abeja (*Apis mellífera* L), etiquetadas como “miel de ulmo” (*Eucriphya cordifolia* Cav.). Tesis en Ciencias Agrarias. 91pp.

Dustmann J. (1993) Honey, quality and its control. *Ame Bee J*; pág. (9):648-651.

Finola, M.S., Lasagno, M.C., Marioli, J.M. (2007). Microbiological and Chemical Characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry* 100: 1649-1653.

Frias, I. Y Hardison, A. (1990). Estudio comparativo entre mieles comerciales y artesanales de Santa Cruz de Tenerife. *Alimentación Equipos y Tecnología*, noviembre. pág. 129-131.

Frias, I. Y Hardison, A. (1992). Estudio de los parámetros analíticos de interés en la miel: Humedad, acidez e índice de formol, hidroximetilfurfural e índice de diastasa. *Alimentaria*, Mayo. Pág. 71-74.

Graca, M. (1987). Contribucao para o estudo do mel, polen, geleia real e propolis. *Bol.Fac. Farmacia Coimbra*, 11(2), 17-47.

Grosch, M ., (1997). Determinación y calculo de la actividad de agua en diferentes muestras de miel. *Alimentaria*, marzo. Pag 33-36

Hadorn, H., Zucher, K Y Doevelaar, F.H. (1962). Uber warmer und lagershadigungen von bienenhonig. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*. Pag 191-229.

Haydée, L. (1989). Análisis de calidad de miel. *Alimentos* 14(4).55-60.

Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984a). Mieles de Galicia. *El campo*. Pag 93-86.

Huidobro, J.F., Simal, J.; (1984b). Parámetros de calidad de la miel VI: Hidroximetilfurfural. *Offarm*, 3(12). Pag 767.

Huidobro, J.F.;Simal, J.; (1985 b). Parámetros de calidad de la miel VIII: Comentarios resultados encontrados en muestras comerciales. *Offarm*,4 (2), 69.

Huidobro, J.F., Santana, F.J., Sanchez,M.P., Sancho,M.T., Muniategui, S. Y Simal,J (1995). Diastase, invertase and B-glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. Journal of Apicultural Research, 34 (1),. Pag 34-44.

ICMSF (2001). Ecología microbiana de los productos alimentarios. Microorganismos de los alimentos. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.

Iurlina, M.O. Y Fritz, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. International Journal of Food Microbiology 105: 297-304. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16169624>

Louveaux J., Maurizio A., Vorwohl G. (1978) Methods of Melissopalynology, Bee World 59, 139–157.

Loveaux, J. (1985). Le miel. Cah. Nutricional Diét., XX, 1, 57-70

Londoño, C., y. Quicazan, M. (2007). “Valoración de Características Fisicoquímicas de Miel de Abejas Nativas Colombianas Respecto a la Normatividad Vigente,” pp. 1–3.

Mato I, Huidobro F, Sánchez P, Muniategui S, Fernández M, Sánchez T. (1997) Enzymatic determination of total D-gluconic acid in honey. J Agric Food Chem. Pag; 45:3550-3553.

Montenegro A. (2002). Índice de cristalización y parámetros de calidad en miel de abeja. Universidad autónoma de Chiriquí. Panamá.

Moguel, y.; Echazarreta, c. y Mora, r. 2005. Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. Técnica pecuaria en méxico 43(3): 323-334.

Pajuelo, A.G. (2004) Mieles de España y Portugal. Montaguard Editores. Barcelona. Pp:30-38.

Pérez-Arquilué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. Y Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. Food Chemistry, 54 (2), 167-172.

- Piana, G., Ricciardelli, G., Isola, A. 1989. La Miel. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp: 21-45.
- Roubik, D. Y Moreno J. (1991) Pollen and Spores of Barro Colorado. Panamá. Pág 143-259.
- Sancho MT, Muniategui S, Huidobro F, Simal J. (1992) Aging of honey. J Agric Food Chem; 40:134-138.
- Sanchez, L. (2001). Métodos palinológicos de análisis. Consultado el 15 de mayo de 2019. PDF.
- Sawyer, R. (1988). Honey identification. Cardiff Academic Press.
- Serra-Bonvehí, J., Soliva, M. y Muntané, J. (2000). "Invertase activity in fresh and processed honeys". Journal of the Science of Food Agriculture, 80, 507–512.
- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. Food Chemistry 106: 883-887. Disponible en: http://red.unal.edu.co/cursos/ciencias/2018415/und2/pdf/6honey_diastase.pdf
- Umaña, E (2006), Análisis de miel de abeja para su control de calidad: pruebas físicas y químicas. Revista Notas Apícolas.No.11 (01-2006). Pág. 9-16.
- Vit P. (1993). “Miel de Abejas”. Cuaderno de Ciencia de los Alimentos No. 1. Consejo de Publicaciones. Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela; 26-33; 47-56 pp.
- Vit, P (ed.) (2007). “Evaluación Sensorial de mieles Checas”. Editorial Venezolana, C.A. Mérida, Venezuela; 31 pp.
- Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Shi, H., Cao, H., Cao, B. (2014). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. Disponible en línea: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.044>
- White, J.W. JR.(1975). The hive and the honey bee. Dadant & Sons, Inc., Hamilton, Illinois. Pag 491-530.

White, J.W. Jr. (1992). Quality evaluation of honey. Role of HMF and diastase assays. American Bee Journal,132. Pag 737-742; 792-794.

White J. (1994) The role of HMF and diastasa assays in honey quality evaluation. Bee World; 75(3):104-117.

White, J.W. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 63, 11-18.

Zandamela, E. (2008). Caracterización físico-químico y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. 290 p.

XI. ANEXOS

Anexo N°3. Muestras de polen vista microscópica a 40 X

