

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

**Diagnóstico de la calidad de la miel de abejas de *Apis mellifera*,  
comercializadas en ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana (GAM)  
de Costa Rica.**

Ing. Diana Marcela Osorno Fallas

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 Pbro. Benjamín Núñez

Heredia, Costa Rica

Noviembre, 2023

**Profesores:**

M. Sc. Eduardo Herrera Rojas

PhD. Gabriel Zamora

PhD. Johan van Veen

**Tutor:**

M.Sc. Eduardo Umaña

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

## AGRADECIMIENTOS

En este momento tan significativo, lo primero que me viene a la mente es dar gracias a Dios por la oportunidad de tenerme aquí y ahora.

Agradezco también a los pilares de mi vida; mi papá (qdDg) y mi mamá, cuyo amor incondicional, apoyo, enseñanzas y sabios consejos me han guiado a lo largo de este camino.

Quiero agradecer a mi amado hijo Mateo, cuya paciencia y comprensión me permitieron equilibrar mis responsabilidades familiares con mis estudios, por ayudarme a crecer en todas las áreas de mi vida y por haber creído en mí, incluso cuando yo misma no lo he hecho.

A mis hermanos Ricardo, Isaac y David, por apoyarme desde el primer día, y motivarme a sacar siempre lo mejor de mí. David, gracias por sostenerme este tiempo, por ser luz en mis momentos de oscuridad y traerme a tierra con amor. A Mauricio, Cindy, Patrick y Liam, por abrirme las puertas de su casa y hacerme sentir como en la mía.

A la familia que elegí, Hugo por creer, por apoyarme y estar para mí siempre. Y a Kenya por tu apoyo incondicional y motivarme a crecer.

A la Dra. Salas-Eichenbrenner (Fabi), gracias por ofrecerme un hogar aun estando tan lejos del tuyo, por las conversaciones y por tu apoyo incondicional.

A mi tutor Eduardo Umaña por la paciencia, la confianza y el apoyo brindado para culminar este trabajo.

Un especial agradecimiento a Rocío, Susana y Natalia Fallas quienes me apoyaron durante el desarrollo de esta investigación con su conocimiento, tiempo, trabajo y compañía.

Al Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), y a los profesores por el valioso aporte en mi formación, el cual me permitió poder desarrollar este trabajo.

A la Universidad Nacional de Costa Rica que a través de la Vicerrectoría de Investigación resulté beneficiada con el "Fondo de apoyo para estudiantes de postgrado durante la ejecución de trabajo final de graduación" (FOCAES) en la modalidad de manutención.

## DEDICATORIA

Papá, mamá y Mateo, esto es para ustedes:

Papá (qdDg), fuiste mi inspiración y mi guía en este apasionante mundo de las abejas. Tu legado perdurará siempre en mi corazón, y cada logro que alcance en esta área será un homenaje a tu pasión, amor y dedicación.

Mamá, has sido un pilar fundamental en mi vida siempre, cuidando a Mateo desde el primer día y brindándome tu apoyo inquebrantable. Tu fe en mí y tus palabras de aliento me han impulsado a superarme cada día. Gracias por amarme y creer en mí.

Mate, eres la luz que ilumina mi camino, mi mayor motivación para ser mejor cada día en cada aspecto de mi vida. Tu sonrisa, tus besos, tus abrazos y tu fe en mí son mi fuerza.

Con amor,

Diana Marcela Osorno-Fallas.

## RESUMEN

Este estudio consistió en adquirir miel de abejas de *Apis mellifera* en ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica. Se analizaron un total de 15 muestras de las provincias de San José (siete), Alajuela (tres), Cartago (dos) y Heredia (tres).

Los análisis fisicoquímicos para determinar la calidad de la miel se realizaron siguiendo 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 el método empleado fue el conocido como Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a un índice de refracción (IR) con la finalidad de verificar la presencia o ausencia de este agente adulterante (Wang, 2014), la detección se hace a través de la aparición de un pico a un tiempo específico en el cromatograma.

Este estudio lo que pretende es conocer la calidad de la miel de abejas de *A. mellifera* que se comercializan en las ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica. Los resultados obtenidos en los análisis arrojaron que sólo cuatro muestras que representan el 27% de del total cumplen con los parámetros de calidad establecidos por la normativa nacional e internacional, ocho fueron adulteradas (siete resultaron positivas para adulteración por jarabes ricos en fructosa, y una por posible adulteración con jarabe invertido) y las otras tres muestras presentaron señales de calentamiento y malas prácticas de almacenamiento.

## ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
Antecedentes.....	2
Justificación.....	3
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo general.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
Pregunta de Investigación.....	5
3. HIPÓTESIS.....	5
4. MARCO TEÓRICO.....	6
Calidad de la miel.....	6
Parámetros fisicoquímicos de la miel.....	6
Azúcares.....	6
Humedad.....	7
Acidez libre y pH.....	8
Hidroximetilfurfural (HMF).....	9
Actividad de la Diastasa.....	9
Parámetros de identidad y calidad de la miel.....	10
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
5.1. Sitio experimental.....	12
5.2. Unidad experimental.....	12
5.3. Metodología.....	13
5.3.1. Análisis de contenido de agua o humedad.....	13

5.3.2.	Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF) .....	14
5.3.3.	Análisis de acidez libre .....	14
5.3.4.	Análisis de actividad enzimática de la diastasa .....	14
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	16
	Análisis de contenido de agua y acidez libre .....	16
	Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) .....	18
	Contenido de azúcares.....	21
	Sacarosa.....	22
	Jarabes altos en fructosa.....	22
7.	CONCLUSIONES.....	29
8.	RECOMENDACIONES.....	30
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

## LISTA DE CUADROS

Tabla 1. <i>Parámetros fisicoquímicos que se establecen para la comercialización de la miel de abeja de Apis mellifera, según el Codex Alimentario y el Reglamento Técnico para miel de abeja en Costa Rica.</i> .....	11
Tabla 2. <i>Procedencia de las muestras de miel de abejas de Apis mellifera analizadas procedentes de las ferias del agricultor de la GAM de Costa Rica.</i> .....	16
Tabla 3. <i>Porcentaje de humedad y acidez libre obtenido en las muestras de miel de A. mellifera procedentes de las Ferias del Agricultor de la GAM en Costa Rica.</i> .....	17
Tabla 4. <i>Contenido de Hidroximetilfurfural y actividad de diastasa presente en las muestras de miel de abejas de Apis mellifera analizadas de las Ferias del Agricultor de la GAM de Costa Rica.</i> .....	19
Tabla 5. <i>Contenido de azúcares simples, sacarosa y presencia de jarabes altos en fructosa de la miel de abeja comercializada en las Ferias del Agricultor de la GAM.</i> .....	23
Tabla 6. <i>Muestras de miel de abejas de Apis mellifera analizadas que cumplen con los parámetros de calidad establecidos por el Reglamento Técnico de la miel de Costa Rica y el Codex Alimentario.</i> .....	24
Tabla 7. <i>Análisis individual del índice de fructosa/glucosa, adulteración por jarabes altos en fructosa y la condición de cada muestra de miel de abeja de A. mellifera procedente de las ferias del agricultor de la GAM de Costa Rica, a partir de los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos.</i> .....	28

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ubicación geográfica de las muestras analizadas procedentes de las Ferias del Agricultor.</i> .....	13
Figura 2 <i>Gráfica de dispersión del contenido de humedad (%) vs la acidez libre (mg/kg) de las muestras analizadas de miel de abeja de A. mellifera de las Ferias del Agricultor de la GAM de Costa Rica.</i> .....	18
Figura 3. <i>Comportamiento del contenido de HMF y la actividad de diastasa en las muestras de miel de abejas de A. mellifera de las Ferias del Agricultor de la GAM, Costa Rica.</i> .....	21
Figura 4. <i>Distribución de la sumatoria (<math>\Sigma</math>) de los azúcares simples (fructosa + glucosa) de las muestras de miel de abejas analizadas procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, Costa Rica.</i> .....	24
Figura 5. <i>Porcentaje del tipo de adulteración encontrado en las muestras de miel de abejas de A. mellifera procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, de Costa Rica. (HFS: Jarabes altos en fructosa).</i> .....	26
Figura 6. <i>Condición en porcentaje de las muestras de miel de abejas de A. mellifera procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, de Costa Rica.</i> .....	27

## 1. INTRODUCCIÓN

La miel se define según el *Codex Alimentarius* (Codex Stan 12-1821) como una sustancia dulce y natural que es producida por la abeja *Apis mellifera* obtenida a partir del néctar de plantas, de secreciones de partes vivas de estas o excreciones de insectos chupadores que se quedan sobre las partes vivas de las plantas, los cuales las abejas recolectan, y transforman a través de la combinación con sustancias propias, la depositan, deshidratan, almacenan y dejan madurar (Codex Alimentario, 2022).

El proceso de transformación del néctar a miel ocurre a partir de cambios físicos y químicos. Dentro de los cambios físicos el principal es el proceso de evaporación, en donde se da la pérdida de hasta una tercera parte del contenido de humedad durante su almacenamiento en la colmena. Mientras que los cambios químicos se deben a la acción de enzimas adicionadas por las abejas al néctar, como por ejemplo la invertasa (sacarasa), enzima que hidroliza la sacarosa del néctar en fructosa y glucosa (Moguel et al., 2005).

La miel está compuesta por una alta concentración de azúcares monosacáridos y disacáridos, alrededor del 38% de fructuosa y 31% de glucosa, así como de otros compuestos en menor proporción como agua, proteínas, minerales, vitaminas, ácidos orgánicos, flavonoides, productos de la reacción de Maillard, enzimas y ácidos fenólicos (Balcázar-Cruz et al., 2019). Por su parte, la miel es considerada como un edulcorante nutricional complejo, que en su mayoría se consume de manera natural y/o como ingrediente alimentario, y sus propiedades biológicas, nutricionales y de calidad son puntos determinantes para la elección del consumidor y del manejo comercial de la misma (Machado De-Melo et al., 2018).

La composición fisicoquímica, el color, el aroma y el sabor de la miel dependen de aspectos como el origen floral, la especie de abeja involucrada en su producción, la región geográfica y el clima, además puede verse afectada por las condiciones climáticas, el procesamiento, la manipulación, el envasado y el tiempo de almacenamiento (Escuredo et al., 2014; Missio da Silva, et al., 2016). Diversos estudios mencionan que durante el almacenamiento la miel puede sufrir cambios en su composición, algunos de estos pueden deberse a diferentes reacciones químicas, incluyendo la fermentación, oxidación y procesos térmicos que modifican la calidad de la miel (Ryback-Chmielews, 2007; Moreira et al., 2010; Escuredo et al., 2014)

## Antecedentes

En Costa Rica se han realizado diferentes estudios y análisis de muestras de miel de abejas de *A. mellifera* que han permitido evaluar la calidad, pureza y etiquetado de la miel de abeja que se encuentran en el mercado, tanto en muestras nacionales como importadas. En Costa Rica, las entidades encargadas de establecer los parámetros de la calidad de miel de abejas de *Apis mellifera* a partir de las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas son el Ministerio de Economía, Industria y Comercio (MEIC) y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Estas normas se encuentran en el Reglamento Técnico para Miel de Abejas de Costa Rica (RTCR 500: 2020) (Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2021).

En el año 2007, se evaluaron un total de 60 muestras de mieles de *Apis mellifera* (tanto artesanales como comerciales) con el objetivo de conocer la calidad de estas. Dicho estudio analizó 35 muestras artesanales obtenidas directamente del apicultor catalogado con buenas prácticas, y 25 muestras de mieles adquiridas en locales comerciales, determinaron que solo el 89% de las mieles control cumplieron con los estándares establecidos por el *Codex Alimentarius* para el contenido de HMF, actividad de diastasa, sacarosa y glucosa, mientras que para las mieles comerciales solo el 20% cumplía con las normativas nacionales e internacionales. Además, reportaron que el 24% de las muestras comerciales presentaron adición de sacarosa y glucosa, el 32% de las muestras resultaron adulteradas con sirope de azúcar invertido o sobrecalentamiento y en un 24% de las muestras se encontró adición con jarabe de azúcar invertido (Ureña et al., 2007).

En 2021 Deras-López, encontró en su estudio de calidad en muestras de miel de diferentes marcas comercializadas en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica, que el 20% de sus muestras que corresponden a cuatro muestras del total de 15, resultaron positivas para adulteración, otro 20% correspondieron a mieles viejas o sometidas a calor. Además, encontró una muestra que fue mezclada con otras mieles y que poseía un alto valor de HMF. Y concluyó que solamente tres del total de las muestras (15) cumplieron con todos los parámetros.

## Justificación

En los últimos años la demanda de miel ha incrementado debido a los atributos nutricionales y el valor medicinal que se le ha encontrado, esto relacionado con las actividades tanto antioxidantes como antimicrobianas de este alimento (Bogdanov, 2015). Además de las propiedades potencialmente funcionales como su actividad antiinflamatoria, y sus efectos prebióticos y probióticos (Machado De-Melo, 2018).

Las propiedades y la composición de la miel de abejas de *A. mellifera* dependen directamente de su origen botánico debido a que las abejas recolectan el néctar de las plantas, con la diferencia de si corresponden a mieles monoflorales o poliflorales. Dentro de sus propiedades antioxidantes actúan los polifenoles, flavonoides, y ácidos fenólicos, mientras que la actividad antimicrobiana está relacionada con su alto contenido de azúcar, pH, producción de peróxido de hidrógeno y la presencia de compuestos fitoquímicos (Montenegro et al., 2013).

La miel de abeja se ha convertido en una sustancia que permanentemente está sujeta a procesos de adulteración, debido a los múltiples beneficios que se le han asignado y a la alta demanda por productos derivados de la colmena para el desarrollo de productos en la industria médica, cosmética y alimenticia (Anzuetto, 2019). La adulteración de la miel modifica no sólo la calidad si no la seguridad de esta, reduciendo el valor medicinal y poniendo en riesgo la salud de los consumidores (Anthony y Balasuriya, 2016). La miel puede ser adulterada de manera directa agregando ingredientes directamente a la miel o de manera indirecta a través de la alimentación de las abejas con productos químicos y azúcares industriales (Zabrodská, y Vorlová 2015).

Dentro de los principales ingredientes utilizados como adulterantes de la miel se encuentran el jarabe de almidón, jarabe de azúcar invertida utilizada para alimentar abejas, la mezcla de mieles de baja calidad con otras de alto precio y/o buena calidad, el azúcar, jarabes de maíz con alto contenido de fructuosa (HFCS por sus siglas en inglés, high-fructose corn syrup), jarabes de inulina con alto contenido de fructosa (HFIS por sus siglas en inglés, high-fructose inulina syrup) (Naila et al., 2018).

En Costa Rica se reporta una producción promedio anual de 1180 toneladas de miel, repartidas en más de 1300 apiarios alrededor del país registrados en el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) (Mora et al., 2022). La apicultura es una actividad agropecuaria importante en el país tanto económica como ecológica, que beneficia a medianos y a pequeños productores

ya que en la mayoría de los casos es una actividad complementaria. En el país se cuenta con diferentes organismos que están relacionados con las tendencias de producción, comercialización y precios de la miel (Garry et al., 2017).

Uno de los principales centros de distribución y comercialización en el país son las ferias del agricultor, las cuales son mercados minoristas que se encargan de realizar un programa de mercadeo de forma individualizada y/u organizada para pequeños y medianos productores agrícolas nacionales, con el objetivo de generar una relación directa entre el productor y el consumidor, garantizando así que los productores aumenten la rentabilidad de los productos, y los consumidores adquieran productos a un mejor precio y de calidad (Sánchez-Brenes y Arboleda-Julio, 2019).

En los últimos años la miel al ser objeto de beneficio para la salud del ser humano se ha visto expuesta a múltiples procesos de adulteración para su comercialización tanto por parte de productores como de intermediarios, sin embargo, de manera complementaria se ha generado la visibilidad y un grado de exigencia en la calidad de este producto por parte del mercado, que busca conocer la calidad de las mieles comercializadas para evitar problemas de adulteraciones y fraudes (Periago et al., 2017). Debido a esto es que es necesario conocer el estado fisicoquímico de las mieles ofrecidas en ferias del agricultor, para así medir la calidad y su relación con las normas de calidad establecidas en Costa Rica.

## **2. OBJETIVOS**

### 2.1. Objetivo general

Evaluar muestras de miel de *Apis mellifera* comercializadas en ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica para conocer su calidad a través de análisis fisicoquímicos.

### 2.2. Objetivos específicos

- Revisar la normativa nacional e internacional de la miel de *Apis mellifera* para definir los parámetros de calidad ofrecidos por la literatura.
- Analizar las muestras de miel de *Apis mellifera* comercializadas en ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica, mediante análisis fisicoquímicos, para determinar su calidad.
- Comparar los resultados de las muestras de miel de *Apis mellifera* comercializadas en ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica para conocer su situación en relación con los parámetros de calidad dados por las normas nacionales e internacionales.

### Pregunta de Investigación

¿Cuáles es la calidad de las mieles comercializadas en las Ferias del Agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica de acuerdo con sus características fisicoquímicos?

## **3. HIPÓTESIS**

Un 50% de las mieles comercializadas en las Ferias del Agricultor del Gran Área Metropolitana no cumple con los parámetros de calidad establecidos en la normativa nacional costarricense e internacional.

#### 4. MARCO TEÓRICO

##### Calidad de la miel

Según el *Codex Alimentarius* la miel que está destinada para el consumo humano no debe contener ningún ingrediente diferente a la miel, de manera que se debe garantizar que esté libre de aditivos alimentarios, materias orgánicas e inorgánicas ajenas a sus compuestos naturales. Tampoco debe ser sometida a altas temperaturas ni modificar de ninguna manera su composición esencial y/o su calidad. Además, el *Codex Alimentarius* establece los parámetros de calidad de la miel de abeja a partir de características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas, los cuales se relacionan con los requisitos de calidad del Reglamento Técnico para Miel de Abejas de Costa Rica (RTCR 500: 2020) (Codex Alimentario, 2022; Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2009).

La calidad de la miel está determinada por diferentes factores, dentro de los cuales se encuentran: las características organolépticas como el olor, la textura, el sabor y el tipo de cristalización, que van a depender del origen botánico de la miel (Periago et al., 2017). La composición química depende del grado de madurez que se relaciona directamente con la presencia y/o ausencia de ciertas enzimas como la glucosa oxidasa, invertasa, diastasa, catalasa y la concentración de azúcares. Mientras que el contenido en hidroximetilfurfural, está influenciado también por el origen geográfico, las condiciones climáticas (temperatura y humedad), la manipulación, las técnicas de procesamiento y almacenamiento de la miel (Cruz et al., 2014).

##### Parámetros fisicoquímicos de la miel

Los parámetros fisicoquímicos de la miel de abejas como la humedad, sacarosa, el contenido de hidroximetilfurfural (HMF), la actividad de la diastasa, el contenido de proteínas, la materia insoluble, la acidez y la conductividad, están estrechamente relacionados como constituyentes e indicadores de la calidad que caracteriza la miel de abeja. La medición de estos parámetros es sencilla y brindan información comparativa para poder establecer la calidad de la miel (Yücel y Sultanoğlu, 2013).

##### Azúcares

La miel de abeja está compuesta alrededor del 75% de azúcares monosacáridos (fructuosa y glucosa), entre un 10-15% de disacáridos como la sacarosa, maltosa, turanosa y pequeñas

cantidades de otros azúcares como maltotriosa y melecitosa. El contenido de azúcar presente en la miel es indicador del valor energético, la viscosidad, higroscopicidad y la cristalización (Kamal y Klein, 2011; Escuredo et al., 2014). Además, influye en el sabor de la miel, por lo general la fructosa es ligeramente más dulce que la sacarosa y la glucosa es menos dulce (Missio da Silva et al. 2016).

La proporción de fructosa y glucosa en la miel resulta del procesamiento por parte de las abejas del néctar de las flores que colectaron, es por esta razón que en las mieles monoflorales (miel elaborada a partir de una sola flora) el sabor dulce va a estar dado por la proporción de estos dos compuestos, además de ser indicadores útiles en la clasificación de este tipo de mieles, permiten evaluar la cristalización de la miel, debido a la menor solubilidad de la glucosa en agua con respecto a la fructosa (Escuredo et al., 2014; Missio da Silva et al., 2016).

La cantidad de sacarosa es un parámetro importante para evaluar la madurez de la miel, a través del análisis de este componente se puede identificar cualquier manipulación inadecuada de la miel, ya que altos niveles pueden indicar adulteraciones, como la adición de edulcorantes baratos como azúcar de caña o refinado, una cosecha temprana, o la alimentación prolongada de las abejas con jarabes de sacarosa (Escuredo et al. 2013; Pucas et al. 2013).

## Humedad

Missio da Silva et al. (2016) destacan que la humedad es el segundo componente más importante de la miel. Esto se debe a que este parámetro es un factor determinante en la calidad ya que incide directamente en las propiedades físicas de la miel como viscosidad, cristalización, el peso específico, el sabor, el color, la solubilidad y la tendencia a fermentar (Escuredo et al., 2013).

El contenido de agua depende de diferentes parámetros como el origen botánico, las condiciones ambientales, el tiempo de madurez alcanzado en la colmena y las condiciones de almacenamiento (Yücel y Sultanoğlu, 2013). En la miel el porcentaje de humedad puede aumentar en regiones con alta humedad relativa, en condiciones inadecuadas de operaciones de procesamiento y almacenamiento, esto puede deberse a que la miel tiene características higroscópicas y absorbe la humedad de la atmósfera, además depende también de la temporada de cosecha, ya que existe una mayor tendencia a que la miel sufra procesos de fermentación durante la estación lluviosa que en la estación seca (Karabagias et al. 2014).

La cristalización de la miel depende del almacenamiento, del origen botánico y de la temperatura, la miel cristaliza a menos de 30°C (Venir et al. 2010). Sin embargo, puede estar asociada también a la concentración de glucosa ya que este componente tiene menor solubilidad que la fructosa, así que para permanecer estable la relación fructosa/glucosa (F/G) debe mantenerse por encima de 1.33, relación que no ocurre de manera natural en las mieles que presentan una relación F/G 1 a 1.2, por lo que la adición de glucosa o fructosa adulterada modificará esa proporción (Naila et al. 2018).

Mieles con relaciones F/G menores a 1.33 cristalizan y cuando este proceso ocurre se da una reducción de los sólidos solubles que resultan en la dilución de la solución amorfa, aumentando así la disponibilidad de agua ( $A_w$ ) (Naila et al. 2018). En condiciones normales la miel presenta un  $A_w$  entre 0.50 y 0.65, valores con  $A_w$  superiores a 0.60 son un riesgo crítico para la estabilidad microbiana. Pese a que este parámetro no tiene un límite impuesto por los estándares, es un parámetro importante para considerar, porque la miel contiene levaduras osmófilas que pueden provocar fermentación, formando alcohol etílico y dióxido de carbono, alterando así la calidad de la miel (Escuredo et al., 2013; Yücel y Sultanoğlu, 2013).

#### Acidez libre y pH

La acidez natural de la miel inhibe el crecimiento de microorganismos, debido a que la mayoría de ellos necesitan un pH óptimo entre los 7.2 y 7.4 (Karabagias et al., 2014). El pH de la miel pura se encuentra entre 3.2 y 4.5, mieles con pH por debajo de 3.5 son susceptibles al deterioro (Bogdanov et al. (2015). Ribeiro et al. (2014), encontraron también que la determinación del pH podría correlacionarse con otros parámetros de autenticidad para verificar adulteraciones, ya que la adición con jarabe de maíz con alto contenido de fructosa en mieles brasileñas resultó en un aumento significativo de los valores de pH.

En la miel de abeja, la acidez libre es un parámetro importante relacionado con el deterioro de la miel. Está caracterizado por la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con lactona, ésteres internos y algunos iones inorgánicos como fosfatos, sulfatos y cloruros (Moreira et al. 2007). La norma nacional e internacional permite un valor máximo de 50, 00 meq kg<sup>-1</sup> para la acidez, mieles con valores superiores pueden ser indicativo de fermentación de azúcares en ácidos orgánicos. (Naila et al., 2018). Sin embargo, pueden existir algunas excepciones que

pueden afectar la acidez de la miel, tales como la presencia de diferentes ácidos orgánicos, el origen geográfico y la época de cosecha (Missio da Silva et al., 2016, Naila et al., 2018).

#### Hidroximetilfurfural (HMF)

El hidroximetilfurfural (HMF o 5-HMF) es un compuesto intermediario que se forma durante la reacción de Maillard (caramelización) producto de la descomposición o deshidratación de monosacáridos en condiciones ácidas (valor medio de pH 3.9), que ocurre cuando la miel es sometida a tratamientos térmicos (incluida la pasteurización) o a lapsos largos de almacenamiento (S. Sanz y M. Sanz, 1994, Missio da Silva et al., 2016; Parias et al., 2017). De manera que conforme aumenta la temperatura del tratamiento térmico y tiempo de almacenamiento, la concentración de HMF aumenta significativamente. (Missio da Silva et al., 2016).

El contenido de HMF es un indicador de sobrecalentamiento o condiciones de almacenamiento inadecuadas, sin embargo, por sí solo no se puede utilizar este componente como evaluador de la calidad de la miel, ya que existen otros factores que pueden influir en los niveles altos de HMF, tales como el perfil de azúcares, la concentración de ácidos orgánicos, el pH, el contenido de humedad, el Aw y el recurso floral de donde fue colectado el néctar. El HMF puede formarse también en mieles sometidas a bajas temperaturas (Barra et al., 2010; Missio da Silva et al., 2016).

Este parámetro ha sido analizado también como indicador de adulteración de la miel, ya que altas concentraciones de HMF puede ser provocados por adulteración con jarabe invertido, debido a que el 5-HMF es un producto del sobrecalentamiento de azúcares en presencia de un ácido para invertir la sacarosa (S. Sanz y M. Sanz, 1994; Yücel y Sultanoğlu, 2013).

#### Actividad de la Diastasa

En la miel de abejas, las diastasas (amilasas a y b) son enzimas que se encuentran en forma natural, el contenido de diastasa depende del origen floral y geográfico de la miel (Missio da Silva et al., 2016). En la composición de la miel destacan tres enzimas amilasa, invertasa y glucosa oxidasa. La invertasa conocida también como sacarasa, cumple una función importante en la conversión del néctar en miel, ya que es la enzima encargada de hidrolizar la sacarosa en glucosa y fructosa, y generar erlosa (Zandamela, 2008).

La función de la diastasa es digerir la molécula de almidón de maltosa (disacárido) y maltotriosa (trisacárido). Esta enzima es termolábil (sensible al calor) y puede ser un indicador del sobrecalentamiento de la miel y el grado de conservación (Ahmed et al., 2013). Es por esa razón que la actividad de esta enzima se considera como indicador del envejecimiento y aumento de la temperatura, porque la acción de la diastasa puede reducirse durante el almacenamiento o cuando un producto es calentado por encima de los 60°C (Yücel y Sultanoğlu, 2013). Otra razón que puede disminuir la actividad de la diastasa en la miel es la alimentación artificial en las abejas, ya que alimentarlas con concentraciones excesivas de glucosa puede promover una deficiencia de enzimas (especialmente la diastasa) que las abejas utilizan para convertir la glucosa y la fructosa (Guler et al., 2014).

Ahmed et al. (2013) definen la actividad de la diastasa como la actividad de la enzima presente en 1 g de miel, capaz de hidrolizar 0.01 g de almidón en 1h a 40°C, y se expresa como número de diastasa (Dn) en unidades Göthe. La normativa actual nacional e internacional establece un valor mínimo de 8,00 unidades Göthe (Codex Alimentario, 2022; Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2021)

El contenido de la actividad de diastasa se ve afectado por el contenido de enzimas presentes en la miel que pueden variar según la edad de las abejas, el período de recolección de néctar y la cantidad del flujo de este, el período fisiológico de la colonia y contenido de azúcares, eso se debe a que las abejas de manera biológica cuando se encuentran frente a un alto flujo de néctar concentrado generan una disminución en el contenido de enzimas y consumo de polen (Oddo et al., 1999).

#### Parámetros de identidad y calidad de la miel

La normativa vigente que regula la comercialización de la miel de abejas de *Apis mellifera* está definida internacionalmente por el *Codex Alimentarius* (Codex Stan 12-1821) (Codex Alimentario, 2022), mientras que en Costa Rica la normativa se establece en el Reglamento Técnico para Miel de Abejas (RTCR 500: 2020) (Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2021). Estas normas se aplican a la miel producida por las abejas *A. mellifera* y están relacionadas con todas las formas de presentación de la misma, estableciendo los parámetros y requisitos esenciales que debe cumplir la miel destinada para el consumo humano sin ver afectada su calidad.

En la Tabla N°1 se detallan los parámetros fisicoquímicos que se establecen en la normativa nacional e internacional, que se tomaron en consideración para la evaluación de las muestras de miel de abeja que se comercializan en las Ferias del Agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica.

**Tabla 1**

*Parámetros fisicoquímicos que se establecen para la comercialización de la miel de abeja de Apis mellifera, según el Codex Alimentario y el Reglamento Técnico para miel de abeja en Costa Rica.*

<b>Característica</b>	<b>Valor</b>
Humedad en porcentaje de masa	No más de 20 (Codex Stan 12-1821) No más de 21 (RTCR 500: 2020)
Sacarosa en porcentaje en masa	No más de 5
Sacarosa en porcentaje en masa de mieles monoflorales Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ), Citrus spp, Falsa Acacia ( <i>Robinia pseudoacacia</i> ), Madreselva francesa ( <i>Hedysarum</i> ), Menzies Banksia ( <i>Banksia menziesii</i> ), “Red Gum” ( <i>Eucalyptus camaldulensis</i> ), “Leatherwood” ( <i>Eucryphia lucida</i> ), Eucryphia miligani.	No más de 10
Sacarosa en porcentaje en masa de mieles monoflorales Lavanda ( <i>Lavandula</i> spp), Borroja ( <i>Borago officinalis</i> )	No más de 15
Azúcares reductores la suma de fructosa y glucosa en porcentaje en masa	No menos de 60
Acidez libre en meq por kg	No más de 50
Cenizas en porcentaje en masa	No más de 0.6
Hidroximetilfurfural (HMF) en mg/kg (mieles procedentes de países o regiones de temperatura ambiente tropical, tal es el caso de Costa Rica).	No más de 80
Actividad de Diastasa (Unidades de Schade)	No menos de 8
Contenido de sólidos insolubles en agua en porcentaje de masa	No más de 0.1

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

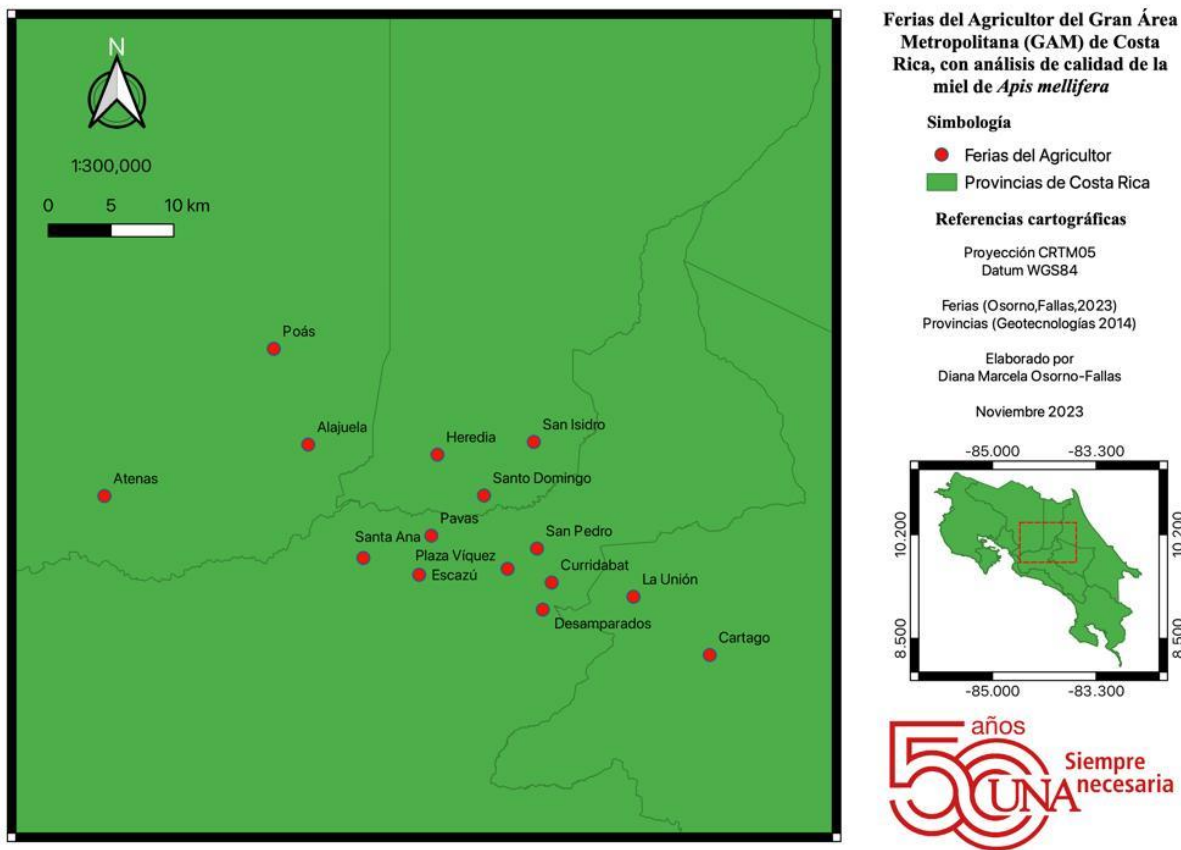
### **5.1. Sitio experimental**

Los análisis fisicoquímicos de la investigación se realizaron en el Laboratorio de Química Apícola del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de la Universidad Nacional del Campus Benjamín Núñez, en Heredia, Costa Rica, durante los meses de abril a octubre del 2023.

### **5.2. Unidad experimental**

Se agruparon las 44 Ferias del Agricultor que se realizan dentro del Gran Área Metropolitana, (contemplando las provincias de San José, Alajuela, Cartago y Heredia), y se eligieron 15 ferias de manera aleatoria a partir de la lista emitida por el Consejo Nacional de Producción (CNP), con la última actualización realizada en el 2023 (Consejo Nacional de Producción [CNP], 2023). El número de muestras por provincias se calculó manteniendo la proporción de ferias en cada una de las provincias respecto al total de la GAM. De esta manera se enumeraron todas las ferias de cada provincia independientemente y se utilizó la Tabla de Números Aleatorios del libro Bioestadística para la selección al azar de los puntos de muestreo (Wayne, 1991).

Según esa elección, se procedió a realizar la compra de las muestras de miel de abeja en cada feria seleccionada. De las cuales siete muestras correspondieron a la provincia de San José, tres muestras de la provincia de Heredia, tres muestras de la provincia de Alajuela y las dos restantes de la provincia de Cartago. Las muestras se almacenaron en un lugar fresco y seguro. Las 15 muestras representan el 34% del total de ferias que se realizan dentro de la GAM, lo que corresponde a un porcentaje representativo de la población (Figura 1).



**Figura 1**

*Ubicación geográfica de las muestras analizadas procedentes de las Ferias del Agricultor.*

### 5.3. Metodología

Los análisis fisicoquímicos de las muestras de miel de abeja *A. mellifera*, se realizaron según el protocolo descrito en los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel (Bogdanov, 2009).

#### 5.3.1. Análisis de contenido de agua o humedad

El contenido de agua se determinó por el índice de refracción de la miel a través de un refractómetro Milton Roy Abbe 3L (Bogdanov, 2009). Se colocó una gota de miel en estado líquido, se esperó entre 2 a 5 min para poder realizar la lectura del índice de refracción. Este procedimiento se realizó por duplicado para cada muestra (Bogdanov, 2009; Gutiérrez, 2019).

### 5.3.2. Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)

La determinación de la concentración de HMF, se realizó con un espectrofotómetro de longitudes de ondas ultravioleta (UV) a 248 y 336 nm, utilizando los reactivos Carrez I y II para eliminar la interferencia causada por las proteínas de la miel (Bogdanov, 2009).

### 5.3.3. Análisis de acidez libre

Para la determinación de acidez libre de la miel se utilizó un medidor de pH. Este procedimiento consistió en realizar una titulación potenciométrica de neutralización del ácido de la miel con una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1M hasta un pH de 8.30 (Bogdanov, 2009).

### 5.3.4. Análisis de actividad enzimática de la diastasa

Para la determinación de la actividad enzimática de la diastasa en la miel se aplicó el método “after Schade”, en el cual se utilizó un espectrofotómetro de longitudes de ondas ultravioleta (UV) a 660 nm, sobre una solución de almidón con yodo-yoduro para hacer visible la hidrólisis (S. Sanz y M. Sanz, 1994). Y se calculó el índice de diastasa mediante una ecuación de regresión para determinar el tiempo (tx) requerido para alcanzar la absorbancia a 0.235 de la muestra (Bogdanov, 2009).

### 5.3.5. Determinación de azúcares por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El contenido de azúcar se realizó mediante cromatografía líquida de alta presión con detección del Índice de Refracción (IR), en donde se identificaron los picos en función de sus tiempos de retención y la cuantificación se realizó según el método de estándar externo en las áreas de los picos o las alturas de los picos de un patrón preparado con azúcares (fructosa glucosa y sacarosa) de alta pureza (>99%) (Bogdanov, 2009).

Además, se realizó un análisis complementario de HPLC para la determinación de jarabes altos en fructuosa, que permitió verificar la presencia o ausencia de este agente adulterante (Wang, 2014).

#### 5.4. Análisis de los datos

El análisis de los datos se realizó a través del Software Minitab®17 a través de estadística básica y análisis descriptivos, para determinar si existían diferencias significativas entre las características especificadas en la normativa nacional e internacional.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente se realizan 44 Ferias del Agricultor alrededor del Gran Área Metropolitana, la selección aleatoria de los puntos a visitar permitió obtener 15 muestras de miel de abejas de *A. mellifera* adquiridas de manera directa con los comerciantes respectivos en estos puntos (ver Tabla 2).

**Tabla 2**

*Procedencia de las muestras de miel de abejas de Apis mellifera analizadas procedentes de las ferias del agricultor de la GAM de Costa Rica.*

<b>Código de la muestra</b>	<b>Feria del Agricultor</b>	<b>Provincia</b>
OF 1	Heredia	Heredia
OF 2	Santo Domingo	Heredia
OF 3	La Unión	Cartago
OF 4	Poás	Alajuela
OF 5	Escazú	San José
OF 6	San Isidro	Heredia
OF 7	San Pedro	San José
OF 8	Alajuela	Alajuela
OF 9	Plaza Víquez, San José	San José
OF 10	Curridabat	San José
OF 11	Cartago	Cartago
OF 12	Atenas	Alajuela
OF 13	Pavas	San José
OF 14	Santa Ana	San José
OF 15	Desamparados	San José

Análisis de contenido de agua y acidez libre

Los resultados obtenidos del contenido de humedad para las muestras analizadas de miel de abejas de *A. mellifera* se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Porcentaje de humedad y acidez libre obtenido en las muestras de miel de A. mellifera procedentes de las Ferias del Agricultor de la GAM en Costa Rica.*

<b>Muestra</b>	<b>Porcentaje de humedad (% de H<sub>2</sub>O) ± 0.2</b>	<b>Valores de acidez (meq/kg) ± 1</b>
OF 1	16.2	22
OF 2	14.4	26
OF 3	17.2	21
OF 4	17.2	4*
OF 5	16.8	36
OF 6	18.0	22
OF 7	17.2	26
OF 8	17.0	3*
OF 9	19.0	26
OF 10	18.4	21
OF 11	16.8	34
OF 12	18.4	31
OF 13	17.6	30
OF 14	18.0	21
OF 15	17.0	28

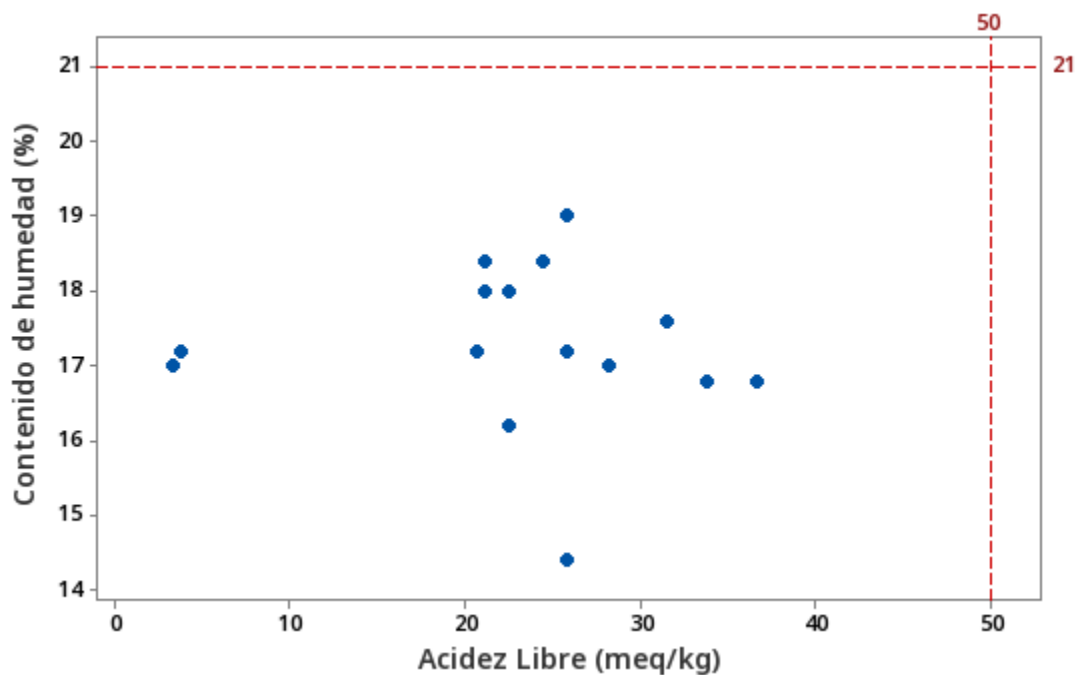
El 100% de las muestras analizadas cumplen con el porcentaje de humedad permitido tanto por la Norma costarricense para la miel de abeja de *A. mellifera* (Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2021) como por el *Codex Alimentarius* (2022), debido a que todas las muestras se encontraron dentro del rango del 14% y el 19% de contenido de humedad.

El contenido de humedad de la miel depende de diferentes condiciones ambientales, temporada de cosecha, condiciones y tiempo de almacenamiento (Missio da Silva et al. 2016). Valores altos en el contenido de humedad pueden generar fermentación y modificar la calidad de la miel de abejas (Karabagias et al. 2014).

Los valores de acidez libres se encontraron en un rango de 3 a 36 meq/kg de miel, lo que indica que estuvieron dentro de los límites permitidos (menor a 50 meq/kg). Estos datos sugieren

ausencia de procesos de fermentación, sin embargo, dos muestras presentaron una concentración muy baja de acidez (OF 4: 4 meq/kg y OF 8: 3 meq/kg) que podrían estar asociados a bajos contenidos de ácidos orgánicos (Živkov et al., 2018) o mieles adulteradas con jarabes de azúcar (Yadata, 2014).

El comportamiento individual de las muestras se detalla en la Figura 2, en la cual se observa la distribución de los valores de acidez libre de las muestras analizadas contra el porcentaje de humedad.



**Figura 2**

*Gráfica de dispersión del contenido de humedad (%) vs la acidez libre (mg/kg) de las muestras analizadas de miel de abeja de *A. mellifera* de las Ferias del Agricultor de la GAM de Costa Rica.*

#### Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)

El contenido de HMF de las muestras de miel evaluadas estuvieron entre 18 y 426 mg/kg de miel (Tabla 4), lo que indica que el 60% de las muestras sobrepasaron el límite superior establecido por la norma del Codex Alimentarius (Codex Stan 12-1821) y el Reglamento Técnico para la miel en Costa Rica (RTCR 500: 2020) de 80 mg/kg para mieles procedentes de

países o regiones de temperatura ambiente tropical. De manera que el 60% de las muestras de miel pudieron haber sido sometidas a tratamientos térmicos durante su procesamiento y/o almacenadas durante largo tiempo, mientras que el 40% restante de las muestras si se encontraron dentro del límite de la norma lo que indica que son mieles frescas y que han sido almacenadas y manipuladas de manera correcta (Naila et al., 2018).

La determinación del contenido de HMF en las muestras de miel puede ser utilizado como un indicador de sobrecalentamiento o almacenamiento en condiciones inadecuadas durante mucho tiempo, ya que no es un componente que se encuentre de manera natural en la miel, sino más bien producto de la reacción de Maillard lo que promueve que se degraden sus propiedades fisicoquímicas alterando la calidad de la miel (Yücel et al., 2013; Missio da Silva et al., 2016).

#### Tabla 4

*Contenido de Hidroximetilfurfural y actividad de diastasa presente en las muestras de miel de abejas de Apis mellifera analizadas de las Ferias del Agricultor de la GAM de Costa Rica.*

Muestra	HMF (mg/kg) $\pm$ 1	Número de Diastasa (unidades Schade)
OF 1	108*	<1▪
OF 2	152*	<1▪
OF 3	77.85	<1▪
OF 4	102*	<1▪
OF 5	248*	<1▪
OF 6	410*	4.5 $\pm$ 0.7▪
OF 7	33	14 $\pm$ 2
OF 8	80	<1▪
OF 9	426*	10 $\pm$ 1
OF 10	386*	3.0 $\pm$ 0.3▪
OF 11	22	13 $\pm$ 2
OF 12	19	11 $\pm$ 2
OF 13	135*	11 $\pm$ 1
OF 14	394*	14 $\pm$ 1
OF 15	18	17.1 $\pm$ 2

\*Valores de HMF superiores a 80 mg/kg (nivel permitido de HMF por el Codex Stan 12-1821 y RTCR 500: 2020). ▪ Valores de la actividad de diastasa menores al límite permitido por el Codex Stan 12-1821 y RTCR 500: 2020, 8 unidades en escala de Schades.

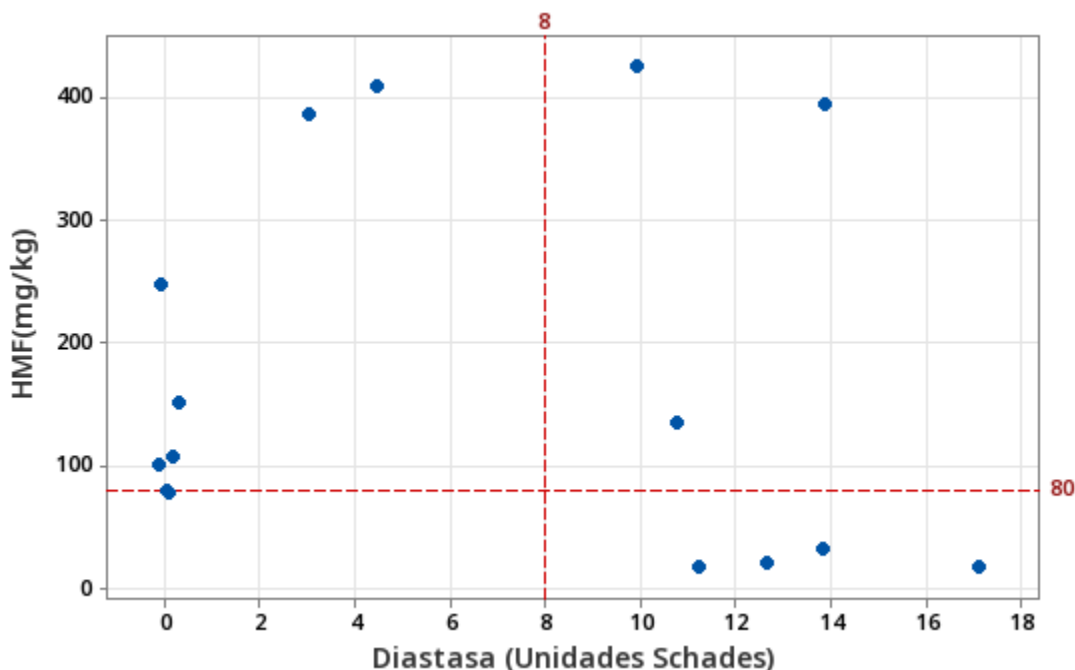
En la miel de abeja un alto contenido de HMF puede ser provocado por adulteración al agregar jarabe invertido, ya que este componente se puede producir calentando azúcares en presencia de un ácido hasta la inversión de sacarosa (Capuano y Fogliano, 2011; Yücel y Sultanoğlu, 2013).

La actividad de la diastasa de las muestras analizadas se muestra en la Tabla 4, los resultados indican que el 53% de las muestras (8 mieles), se encuentran fuera del rango permitido para actividad de diastasa, el cual debe ser igual o mayor a 8 unidades en escala de Schades. Oddo et al. (1999) confirmaron que la actividad de diastasa en la miel puede variar dependiendo de la edad de las abejas, estado fisiológico de la colonia, el período de recolección de néctar y la cantidad de flujo del néctar. Depende también del origen botánico, por ejemplo, en mieles de cítricos y romero se presenta baja actividad (Serrano et al., 2007), por lo que, la normativa del *Codex Alimentarius* (Codex Stan 12-1821) y el Reglamento Técnico para la miel en Costa Rica (RTCR 500: 2020) pide mínimo 3 unidades Schade para mieles con estos orígenes (Codex Alimentario, 2022; Sistema Costarricense de Información Jurídica, 2021).

De forma similar al HMF, la actividad de diastasa se puede considerar como indicador de envejecimiento y aumento de temperatura durante el procesamiento de la miel, ya que la actividad de diastasa disminuye cuando la miel es sometida a temperaturas por encima de 60°C y se almacena durante un largo tiempo (Yücel y Sultanoğlu, 2013).

Sin embargo, Guler et al. (2014) encontraron que cuando las abejas son alimentadas con glucosa en cantidades excesivas se puede dar deficiencia en la producción de enzimas entre ellas la diastasa, por lo que la actividad de esta va a ser baja, en estos casos los autores destacan que en mieles con baja actividad de diastasa es imprescindible que el valor de HMF en mg/kg de miel sea de mínimo 15 mg/kg, con el fin de garantizar que la miel no fue sometida a tratamientos térmicos ni almacenamientos prolongados. Como se observa en la Figura 3, esta situación no ocurre ya que los valores de las ocho muestras con baja actividad de diastasa están por encima de 15 mg/kg en el valor de HMF.

De las siete muestras con actividad de diastasa superior al límite de 8 unidades Schade, sólo cuatro cumplieron con el parámetro en el contenido de HMF (<80 mg/kg de miel) como se observa en la Figura 3 en el cuadrante derecho.



**Figura 3**

*Comportamiento del contenido de HMF y la actividad de diastasa en las muestras de miel de abejas de A. mellifera de las Ferias del Agricultor de la GAM, Costa Rica.*

#### Contenido de azúcares

La miel es un alimento rico en azúcares, los cuales son producidos por las abejas a partir del néctar. Los principales constituyentes de la miel son los monosacáridos glucosa y fructosa. La fructosa es el azúcar más importante cuantitativamente seguido de la glucosa. La determinación de azúcares por HPLC es una técnica rápida de cuantificación que permite comparar los azúcares de la miel contra azúcares estándares de un patrón (Yücel y Sultanoğlu, 2013).

En este estudio, la sumatoria en el contenido de fructosa y glucosa de las muestras de miel (Tabla 5) oscilaron entre 36 g/100g y 69 g/100g, con un promedio de 59 g/100g. De las muestras de miel el 47% se encontraron por debajo de los niveles permitido para la norma nacional e internacional (60 g/100g) y el 53% de las muestras restantes estuvieron por encima del parámetro.

## Sacarosa

La sacarosa es un disacárido hidrolizado por la enzima invertasa compuesto por una molécula de fructosa y glucosa mediante un enlace alfa 1-4 (Kamal y Klein, 2011). El valor de sacarosa máximo permitido según la norma nacional e internacional es de 5 g/100g. Para las muestras de miel analizadas el 27% sobrepasaron este valor, Escuredo et al. (2013) y Pucas et al. (2013) indican que altos niveles de sacarosa en la miel como en las muestras O-F 3 (40 g/100g) y O-F 5 (20 g/100g) pueden indicar adulteraciones provocadas por edulcorantes como azúcar de caña o refinado, una alimentación prolongada de las abejas con jarabes de sacarosa o una cosecha temprana.

## Jarabes altos en fructosa

La adulteración de las muestras de miel colectadas permitió detectar cuales muestras fueron adulteradas con jarabes altos en fructosa (HFS). En la miel no se han encontrado oligosacáridos de más de 5 grados de polimerización, pero si están presentes en los jarabes de almidón como producto del proceso de producción de jarabe en la reacción de enzimólisis del almidón, de manera que la presencia de estos oligosacáridos puede utilizarse como indicador en la detección de adulteración de la miel (Morales et al. 2008).

Los resultados obtenidos para este análisis como se muestran en la Tabla 5 indicaron que el 47% (7 de 15) de las muestras de miel dieron positivo para adulteración por jarabes de maíz ricos en fructosa. El 53% de las muestras restantes resultaron negativas.

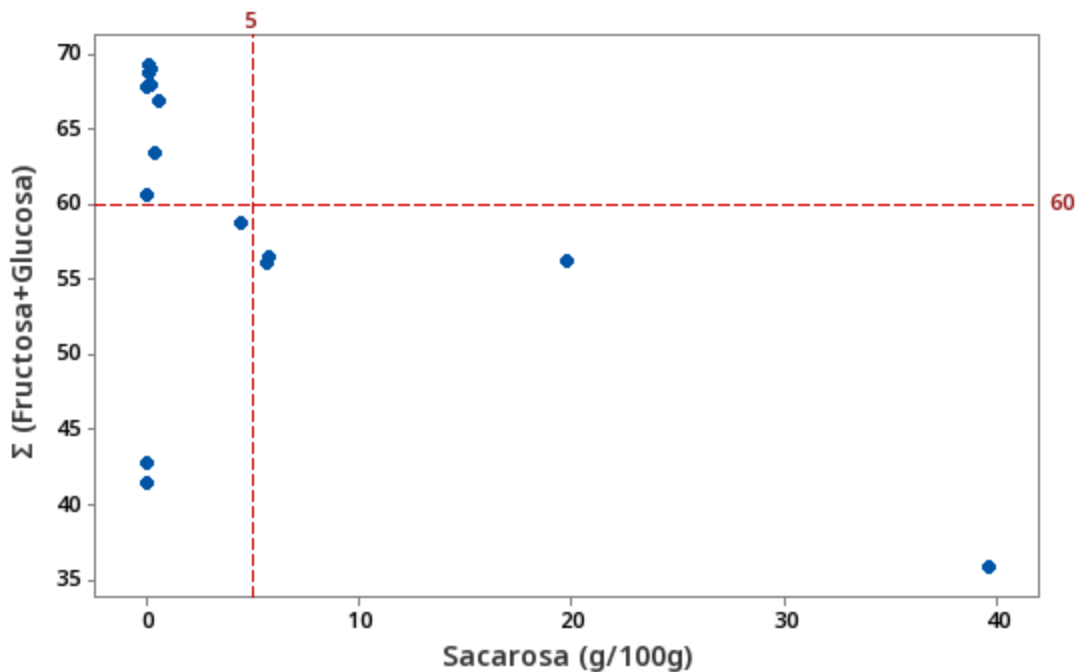
**Tabla 5**

*Contenido de azúcares simples, sacarosa y presencia de jarabes altos en fructosa de la miel de abeja comercializada en las Ferias del Agricultor de la GAM.*

<b>Muestras</b>	<b>Azúcares simples (F+G) en % ± 1</b>	<b>Valor de sacarosa en g/100g</b>	<b>Adulteración con Jarabes altos en fructosa (+/-)</b>
OF 1	69	< LD	-
OF 2	69	< LD	-
OF 3	35	40 ± 1*	+
OF 4	43	< LD	+
OF 5	56	20.0 ± 0.4*	-
OF 6	59	4.4 ± 0.1	+
OF 7	63	< LD	-
OF 8	41	< LD	+
OF 9	61	< LD	+
OF 10	57	6.0 ± 0.1*	+
OF 11	67	< LC	-
OF 12	69	< LC	-
OF 13	68	< LD	-
OF 14	56	6*	+
OF 15	68	< LD	-

(LD: límite de detección= 0.2 - 0.6 g/100g de miel, LC: límite de cuantificación= <0.2/100g de miel)

La distribución y el comportamiento de la sumatoria ( $\Sigma$ ) de los azúcares simples de las muestras y el contenido de sacarosa, se logra observar en la Figura 4, en el cuadrante superior izquierdo en donde sólo el 46% de las muestras cumplen con las normativas en ambos contenidos.



**Figura 4**

*Distribución de la sumatoria ( $\Sigma$ ) de los azúcares simples (fructosa + glucosa) de las muestras de miel de abejas analizadas procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, Costa Rica.*

En la Tabla 6 se presenta el porcentaje de muestras de miel de abejas de *A. mellifera* analizadas que cumplieron con las normativas nacional e internacional en relación con los parámetros fisicoquímicos analizados.

**Tabla 6**

*Evaluación de la cantidad de muestras de miel en porcentaje que cumplen con los parámetros de calidad según el Codex Alimentario y el Reglamento Técnico de la miel de Costa Rica.*

<b>Parámetros fisicoquímicos</b>	<b>Indicador</b>	<b>Porcentaje de muestras que cumplen con las normas (%)</b>
Humedad	Madurez	100
Acidez libre	Madurez/Deterioro por fermentación	100
Hidroximetilfurfural (HMF)	Sobrecalentamiento/Frescura/Adulteración/Buenas prácticas agrícolas	40
Actividad de diastasa	Frescura/Sobrecalentamiento/Buenas prácticas agrícolas	47
Σ Azúcares simples	Madurez/Adulteración	53
Sacarosa	Madurez/Adulteración	73
Jarabes altos en fructosa (HFS)	Adulteración	53

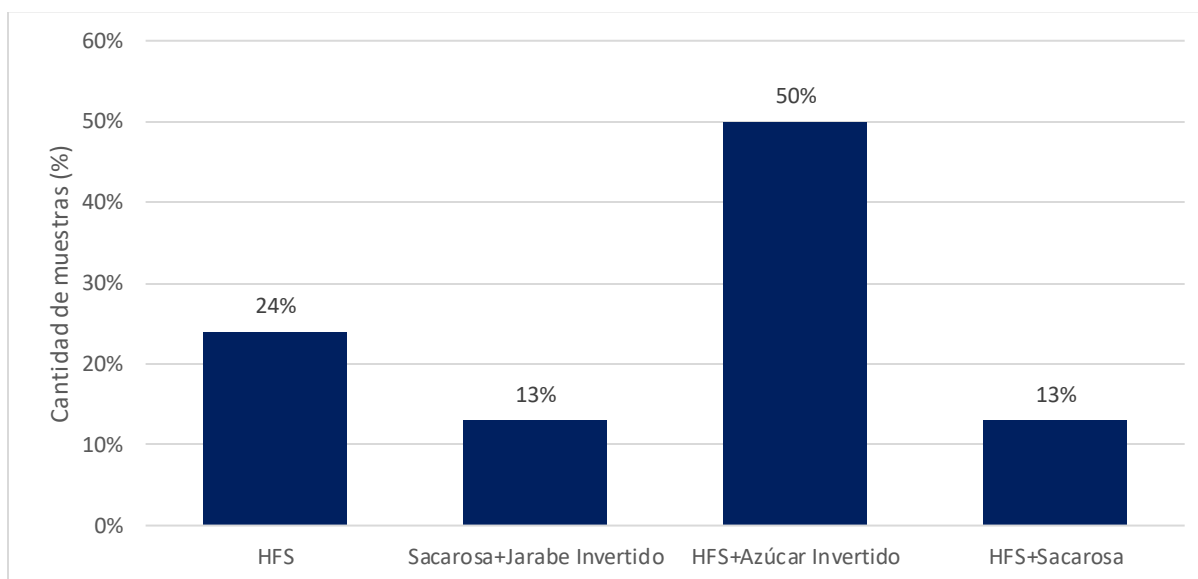
La calidad de la miel puede ser evaluada a partir de diferentes análisis como se ha mencionado anteriormente, sin embargo, todas ellas son un conjunto de características a cumplir para garantizar un producto de calidad. En la Tabla N°7 se analiza de manera individual las muestras de miel de abeja que se comercializan en las Ferias del Agricultor de la GAM con el objetivo de identificar qué muestras si reúnen todas las características de una miel de alta calidad.

La adulteración de la miel ha evolucionado desde la adición básica de azúcar (caña o remolacha) y agua, hasta adicionar jarabes altamente especializados con composiciones que reproducen la composición del azúcar y las proporciones de la miel natural (Cordella et al. 2005).

Con respecto al contenido de HMF en la miel de abeja White (1980) sugiere que cuando el valor de HMF se encuentran entre 40 mg/kg y 200 mg/kg puede indicar sobrecalentamiento, y

que valores superiores a 200 mg/kg se deben de examinar por posible adulteración con azúcar invertido.

Al analizar las muestras de miel de manera individual (Figura 5) se encontró que de las cinco de las muestras que presentaron HMF superior a 200 mg/kg, cuatro dieron positivo para adulteración por jarabes altos en fructosa (OF 6, 9, 10 y 14), lo que significa que sufrieron adulteración con jarabes altos en fructosa y con azúcar invertido, según lo descrito por White (1980). En la muestra faltante (OF 5) cuando se considera el índice de fructosa (Tabla 7) y el contenido de sacarosa (Tabla 5), se determina que la muestra sufrió adulteración con jarabe invertido (White, 1980).

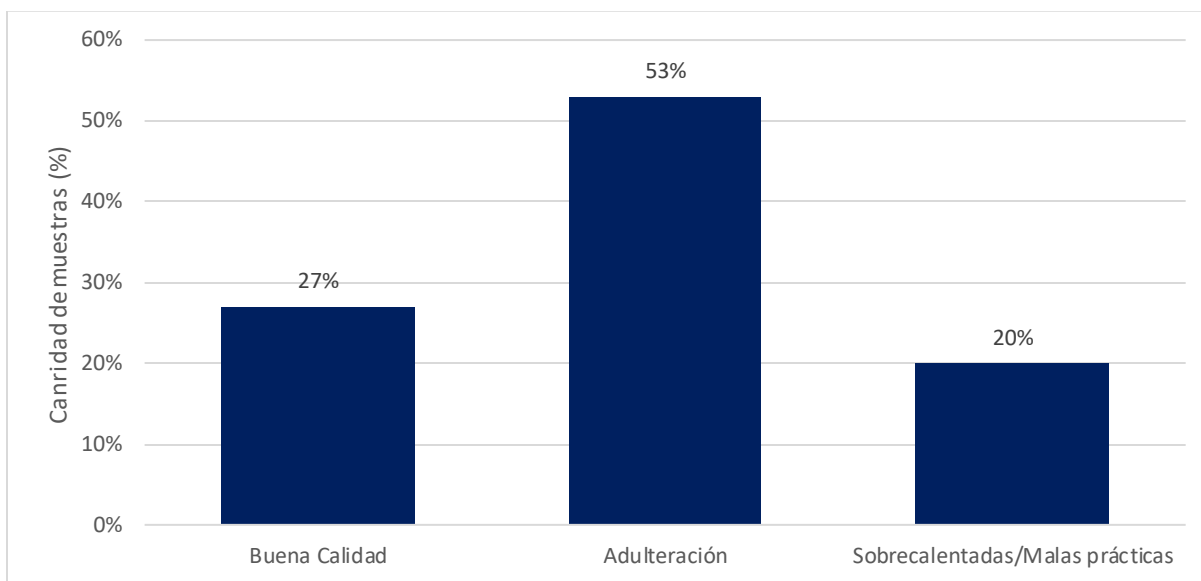


**Figura 5**

*Porcentaje del tipo de adulteración encontrado en las muestras de miel de abejas de *A. mellifera* procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, de Costa Rica. (HFS: Jarabes altos en fructosa) N=8.*

A partir de los resultados obtenidos y el análisis en esta investigación (Figura 6) se acepta la hipótesis nula que se planteó al inicio del documento, ya que sólo el 27% de las muestras procedentes de las Ferias del Agricultor de las provincias de San José, Alajuela, Heredia y Cartago cumplen con los criterios de calidad exigidos por la Norma Nacional de Costa Rica y la Normativa del *Codex Alimentario*. Mientras que el 73% restante de las muestras de miel de abeja resultaron alteradas por la intervención del ser humano por realizar un mal manejo de estas,

almacenarlas en condiciones inadecuadas, someterlas a procesos térmicos y a la adición de componentes ajenos a la miel como adulterantes.



**Figura 6**

*Condición en porcentaje de las muestras de miel de abejas de *A. mellifera* procedentes de las ferias del agricultor de la GAM, de Costa Rica.*

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Deras-López en el 2021 en donde únicamente el 20% (3 de 15) de las muestras de miel de abejas de *A. mellifera* que se comercializan en los Mercados Centrales del Gran Área Metropolitana de Costa Rica cumplieron con los parámetros establecidos en la norma nacional e internacional.

**Tabla 7**

*Análisis individual del índice de fructosa/glucosa, adulteración por jarabes altos en fructosa y la condición de cada muestra de miel de abeja de A. mellifera procedente de las ferias del agricultor de la GAM de Costa Rica, a partir de los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos."*

<b>Muestra</b>	<b>Índice Fructosa/Glucosa</b>	<b>Presencia de jarabes altos en fructosa (HFS)</b>	<b>Condición</b>
OF 1	1.1	-	Sobrecalentada y vieja
OF 2	1.0	-	Sobrecalentada y vieja
OF 3	0.9	+	Adulteración con HFS y sacarosa
OF 4	0.9	+	Adulteración con HFS, sobrecalentada y vieja.
OF 5	0.9	-	Adulteración con jarabe invertido y sacarosa, sobrecalentada.
OF 6	1.0	+	Adulteración con HFS y jarabe invertido
OF 7	1.3	-	Excelente calidad
OF 8	0.9	+	Adulteración con HFS y sobrecalentada
OF 9	1.1	+	Adulteración con HFS y azúcar invertido, sobrecalentada y vieja
OF 10	1.0	+	Adulteración con HFS y azúcar invertido.
OF 11	1.2	-	Excelente calidad
OF 12	1.1	-	Excelente calidad
OF 13	1.1	-	Sobrecalentada y vieja
OF 14	1.0	+	Adulteración con HFS y azúcar invertido, sobrecalentada y vieja
OF 15	1.2	-	Excelente calidad

## 7. CONCLUSIONES

A través de la revisión de la literatura se encontró que la normativa internacional que establece los parámetros fisicoquímicos de la miel de abeja de *A. mellifera* se establece en el Codex norma para la miel (CODEX STAN 12-1981) del *Codex Alimentarius*. Mientras que en Costa Rica la normativa que establece estos parámetros se considera en el Reglamento Técnico para Miel de Abejas (RTCR 500: 2020). La cual fue establecida a partir de la modificación de la “normativa anterior” por la necesidad de regular el gran problema de adulteración de los últimos años.

Se determinó la calidad de las muestras de miel de abejas de *A. mellifera* que se comercializan en las ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica, en donde los valores obtenidos indican que solo el 27% de las muestras cumplen con los parámetros fisicoquímicos establecidos por la Norma Nacional y el *Codex Alimentarius* lo que indica que se acepta la hipótesis nula planteada al inicio de la investigación, ya que el 73% de las muestras procedentes de las ferias del agricultor del Gran Área Metropolitana de Costa Rica resultaron alteradas por la acción del hombre al ser sometidas a procesos de térmicos, almacenamiento inadecuado y adherencia de componentes ajenos a la miel.

De todos los parámetros analizados en las muestras de miel de abeja de *A. mellifera* sólo el porcentaje de humedad y el contenido de acidez libre estuvieron dentro del límite que se establece a nivel nacional e internacional. El resto de los parámetros que permiten identificar la calidad y la autenticidad de la miel estuvieron muy variados, ya que se encontró que sólo el 47% de las muestras cumplieron con el contenido de actividad de diastasa y solo el 40% estuvo dentro del contenido de HMF (80 mg/kg) permitido.

En cuanto a la sumatoria de azúcares simples (fructosa y glucosa) apenas el 53% cumplen con el parámetro establecido por la Norma Nacional y el *Codex Alimentario* (<60 g/100g), para el contenido de sacarosa ( $\leq 5$  g/100g) solo el 73% de las muestras analizadas cumplen con la norma y solo el 47% de las muestras no resultaron positivas para adulteración por jarabes altos en fructosa y/o jarabes invertidos.

## 8. RECOMENDACIONES

Es necesaria una vigilancia constante y una acción coordinada por parte de las autoridades a nivel nacional para abordar esta problemática y garantizar el cumplimiento de la normativa vigente para un suministro de miel genuina y de calidad. Con el objetivo de proteger la integridad de este producto, ya que como se encontró en este estudio la miel que se comercializa en las Ferias del Agricultor de la GAM presentan incumplimientos serios en cuanto a los parámetros de calidad.

Realizar campañas de educación dirigidas a los productores e intermediarios que comercializan la miel de abejas en las Ferias del Agricultor sobre los estándares de miel, destacando la importancia de la autenticidad y seguridad del producto.

Ofrecer capacitación a los apicultores y productores de miel en prácticas de producción, cosecha y procesamiento que cumplan con los estándares de calidad.

Promover la certificación de la miel de abejas de calidad y brindar un seguimiento a los productores con sello de calidad, que garanticen que toda la miel que se comercializa con este sello esta verificado con frecuencia, para aumentar la confianza de los consumidores.

Realizar por parte de las autoridades correspondientes investigaciones y monitoreos a la calidad de la miel de abejas de *Apis mellifera* que se comercializa en las ferias del agricultor que se realizan en otras provincias como Guanacaste, Puntarenas o Limón.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Khiati, B., Meslem, A. y Bacha, S. (2013). In vitro activity of natural honey alone and in combination with curcuma starch against *Rhodotorula mucilaginosa* in correlation with bioactive compounds and diastase activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(10), 816-821.
- Anthony, C.R. y Balasuriya, D.N. (2016). Analizador electrónico de calidad de miel. *Ingeniero: Revista de la Institución de Ingenieros*, 49(3), 41-47.
- Anzueto, F.M. (2019). *Efecto de la miel de abeja (Apis mellifera) en las características fisicoquímicas y sensoriales de la jalea real*. [Tesis de Licenciatura]. Zamorano.
- Balcázar-Cruz L., Valadez-Villarreal A., López-Naranjo J. I., Ochoa-Flores A. A., Rodríguez-Blanco L. y López-Hernández, E. (2019). Relación del contenido de flavonoides y color en miel de abeja (*Apis mellifera*) originaria del estado de Tabasco, México. *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*, 4: 818-825.
- Barra, M., Ponce-Díaz, M. y Venegas-Gallegos, C. (2010). Volatile compounds in honey produced in the Central Valley of Ñuble Province, Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70, 75-84.
- Bogdanov, S. (2009). Harmonised methods of the international honey commission. [://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf](http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf)
- Bogdanov, S. (2015). *Honey as Nutrient and functional food. The honey book*. S. Bogdanov. <https://www.bee-hexagon.net/english/health/>
- Capuano, E. y Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 793-810
- Codex Alimentarius. (2022). Standar for honey. *Codex stan 12-1981*, 1-7. [https://www.fao.org/https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%252F12-1981%252FCXS\\_012e.pdf](https://www.fao.org/https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%252F12-1981%252FCXS_012e.pdf)

- Consejo Nacional de Producción (CNP). (2023). Lista de Ferias del Agricultor. (pp.1-9).  
<https://www.cnp.go.cr>.  
[https://www.cnp.go.cr/servicios/FeriasdelAgricultor/Datos\\_Entes\\_Administradores\\_Ferias\\_Agricultor\\_2023.pdf](https://www.cnp.go.cr/servicios/FeriasdelAgricultor/Datos_Entes_Administradores_Ferias_Agricultor_2023.pdf)
- Cordella, C., Militão, J., Clément, M.C., Drajnudel. P. y Cabrol-Bass, D. (2005). Detection and quantification of honey adulteration via direct incorporation of sugar syrups or bee-feeding: preliminary study using high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 531, 239-248.
- Cruz, L.C., Batista, J.E., Zemolin, A.P.P., Nunes, M.E., Lippert, D.B., Royes, L.F., Soares, F.A., Pereira, A.B., Posser, T. y Franco, J.L. (2014). A study on the Quality and Identity of Brazilian Pampa Biome Honey: Evidence for Its Beneficial Effects against Oxidative Stress and Hyperglycemia. *International Journal of Food Science*. 2014(1), 1-11.
- Deras-López, V. (2021). Caracterización fisicoquímica de muestras de miel de *Apis mellifera*, comercializada en la zona occidental de la Gran Área Metropolitana (GAM) de Costa Rica. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional.
- Escuredo, O. Míguez, M., Fernández-González, M. y Carmen, S. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138, 851-856.
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M. y Seijo, M. C. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84-90.
- Garry, S., Martín, A. y Salido, J. (2017). Incorporación de mayor valor en la cadena de la miel y productos derivados de la colmena en el Pacífico Central, Costa Rica. Naciones Unidas
- Guler, A., Kocaokutgen, H., Garipoglu, A. V., Onder, H., Ekinci, D. y Biyik, S. (2014). Detection of adulterated honey produced by honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies fed with different levels of commercial industrial sugar (C3 and C4 plants) syrups by the carbon isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, (155), 155–160

- Gutiérrez, C. (2019). Caracterización Físicoquímica y Origen Botánico de Muestras de Mieles de *Apis mellifera* de la provincia de Chiriquí-Panamá. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional.
- Kamal, M. A. y Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18, 17-21.
- Karabiagas, I., Badeka, A., Kontakos S., Karabournioti, S. y Kontominas, M. (2014). Characterization and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry* 146, 548-557.
- Machado De-Melo, A., Bicudo de Almeida-Muradian, L., Sancho, T. y Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5-37.
- Missio da Silva, P., Gauche, C., Valdemiro, L., Oliveira A. y Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
- Moguel, Y., Echazarreta, C. y Mora, R. (2005). Calidad físicoquímica de la miel de abejas *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.
- Montenegro, G., Santander, F., Jara, C., Núñez, G. y Fredes, C. (2013). Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(3), 257-268.
- Mora, S., Quesada, R., Jaén, L. y Monge, D. (2022). *Boletín Estadístico Agropecuario N°32: Serie Cronológica 2018-2021*. Infoagro. <http://www.infoagro.go.cr/BEA/BEA32.pdf>
- Morales, V., Corzo, N., y Sanz, M. L. (2008). HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulteration of honey with sugar syrups. *Food Chemistry*, 107, 922-928.
- Moreira, R. F. A., Maria, C. A. B., Pietroluongo, M., y Trugo, L. C. (2007). Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 104, 1236–1241.

- Moreira, R. F. A., Maria, C. A. B, Pietroluongo, M. y Trugo, L. C. (2010). Chemical changes in the volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 121, 697-704.
- Naila, A., Flint, S., Sulaiman, A.Z., Ajit, A. y Weeds, Z. (2018). Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control*, 90, 152-165.
- Oddo, L., Piazza, M. y Pulcini, P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie*, 30, 57-65.
- Pasias, I., Kiriakou, I. y Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425-431.
- Periago, M.J., Navarro-González, I., Alaminos, A.B., Elvira-Torales, L.I. y García-Alonso, F.J. (2017). Parámetros de calidad en mieles de diferentes orígenes botánicos producidas en la Alpujarra Granadina. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 32, 59-71.
- Pucas, A., Hosu, A. y Cimpoi, C. (2013). Application of a newly developed and validated high-performance thin-layer chromatographic method to control honey adulteration. *Journal of Chromatography A*, 1272, 132-135.
- Ribeiro, R., Mársico, E., Carneiro, C., Monteiro, M., Junior, C., y Jesus, E. (2014). Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF 1H NMR). *Engineering*, 135, 30-43.
- Rybak-Chmielewska, H. (2007). Changes in the carbohydrate composition of honey undergoing during storage. *Journal of Apicultural Science*, 51, 39-48.
- Sánchez- Brenes, R. y Arboleda-Julio, E. (2019). Disponibilidad de productos agropecuarios de la Feria del Agricultor de San Ramón, Alajuela, Costa Rica. *Perspectivas Rurales*, 17(33), 37-57.
- Sanz, S. y Sanz, M. (1994). Índice de diastasa y contenido en hidroximetilfurfural en las mieles de La Rioja. *Revista Zubía*, 12, 181-191.
- Sistema Costarricense de Información Jurídica. (2021). Reglamento técnico RTCR 500: 2020 Productos apícolas. Miel de Abejas. Especificaciones. N°43180-MEIC-MAG.

<http://www.pgrweb.go.cr>

[http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=96120&nValor3=128588&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=96120&nValor3=128588&strTipM=TC)

- Serrano, S., Espejo, R. y Jodral, M. (2007). Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 76-79.
- Ureña, M., Arrieta, E., Umaña, E., Zamora, G. y Arias, M.L. (2007). Evaluación de la posible adulteración de mieles de abejas comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(1), 63-69.
- Venir, E., Spaziani, M. y Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122, 410-415
- Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Lin, L., Mu, T., Cao, H. y Cao, B. (2014). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography, *Food Chemistry*, 171, 669-674.
- Wayne, D. (1991). *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud* (4<sup>a</sup>.ed.). Editorial Limusa S.A. de C.V.
- White, J.W. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 63, 11-18
- Yata, D. (2014). Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. *Food Science and Technology*, 2(5), 59-63.
- Yücel, Y. y Sultanoğlu, P. (2013). Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1, 16-25. 10.1016/j.fbio.2013.02.001
- Zabrodská, B. y Vorlová, L. (2015). Revisión de la adulteración de la miel y métodos disponibles para su detección. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10),85-102.
- Zandamela, E. (2008). *Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique*. [Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona]. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf?sequence=1>

Živkov, M, Popov, N., Vidaković, S., Ljubojević, D., Pelić, M., Mihaljev, Ž. y Jakšić, S. (2018).  
Electrical conductivity and acidity of honey. *Archiv veterinarske medicine*, 11(1), 91-101.