


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, holding a staff and a shield, with a cross above his head. The figure is flanked by two pillars, each topped with a banner that reads "PLUS" and "ULTRA". The entire scene is set against a background of a landscape with mountains and a river. The Latin motto "CONSPICUA + CAROLINA + ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERAS ORBE" is inscribed around the perimeter of the seal.

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA DIASTASA Y ANÁLISIS  
MICROBIOLÓGICO EN MIEL PRODUCIDA EN LA FINCA EL GUARDABARRANCO,  
MUNICIPIO DE PASTORES, DEPARTAMENTO DE SACATEPEQUEZ”**

**ANA LUCIA MAZARIEGOS MOLINA**

GUATEMALA, OCTUBRE 2006

## ÍNDICE

I. RESUMEN	2
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	4
A. Clasificación de la miel	5
B. Características de la miel	6
C. Proceso de elaboración de miel	9
D. Evaluación de la calidad de miel	9
E. Calidad de miel	10
F. Toma y preparación de muestra	13
III. JUSTIFICACIÓN	15
IV. OBJETIVOS	16
V. HIPÓTESIS	17
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	18
VII. RESULTADOS	23
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
IX. CONCLUSIONES	37
X. RECOMENDACIONES	38
XI. REFERENCIAS	39
XII. ANEXOS	42

## I. RESUMEN

En el presente estudio se analizaron 28 muestras de miel provenientes de 4 apiarios ubicados en la finca "El Guardabarranco" situada en el municipio de Pastores, Sacatepequez.

Se les realizó el análisis de la enzima diastasa, que es un indicador de frescura y sobrecalentamiento en el proceso de embasado de la miel. Paralelamente se les realizó el análisis microbiológico que incluía: recuento aeróbico total, identificación de bacterias anaerobias, recuento de mohos y levaduras y recuento de coliformes totales y fecales.

La finalidad de este estudio fue establecer y determinar la calidad de la miel producida en la finca utilizando como referencia las normas CODEX STAN 12-1981 y la norma microbiológica europea para el control de miel de Abeja.

De acuerdo a los resultados obtenidos y el análisis estadístico descriptivo propuesto para este estudio, se concluyó que todas las muestras de miel analizadas se encuentran entre los límites establecidos por las normas referidas.

## II. INTRODUCCIÓN

La miel de abeja es un alimento que se ha consumido desde tiempos inmemoriales. Es una mezcla compleja constituida principalmente por agua, azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y azúcares superiores), ácido glucónico, lactona, compuestos nitrogenados, minerales y algunas vitaminas.

Los principales factores de calidad que se utilizan en el comercio internacional de la miel son, además de sus características sensoriales (olor, color y sabor), la humedad, el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y el índice de diastasa, siendo estos dos últimos fuertemente influenciados por el calentamiento y el tiempo de almacenamiento de este producto.

Guatemala produce alrededor de 1,435 Toneladas Métricas anuales de miel. Los departamentos de San Marcos, Retalhuleu, Suchitepéquez y Huehuetenango, presentan la mayor producción y representan el 55% del total, el resto de la producción se distribuye en los demás departamentos del país. En lo que respecta a las exportaciones de miel, se considera que Guatemala exporta alrededor de las 1,283 Toneladas Métricas por año, por lo que el 80% de su producción está destinada a los mercados internacionales (14).

Es importante considerar que en los países tropicales las temperaturas medias ambientales son significativamente mayores que en los países de clima templado. Durante la recolección, manejo y almacenamiento de la miel en los países tropicales, en algunas ocasiones los recipientes en los que se recoge la miel se dejan mucho tiempo expuestos al sol, pudiendo sufrir un calentamiento excesivo (10).

Se analizó la calidad microbiológica de la miel polifloral, proveniente de 4 apiarios ubicados en la finca "El Guardabarranco" en Pastores, Sacatepequez, identificando y cuantificando bacterias coliformes, mesófilas, anaerobias, mohos y levaduras; microorganismos indicadores de Malas Prácticas Apícolas. El índice de Diastasa es el indicador de sobrecalentamiento y de frescura en la miel, este parámetro se analizó por el método analítico descrito por Bianchi E (19).

## II. ANTECEDENTES

La Miel es una sustancia dulce y madura, producida por las abejas mediante la recolección de néctar, miel de palo u otro fluido dulce de plantas vivas. Estos pasan por cambios dentro sus cuerpos, depositan en celdas de la colmena, y lo dejan que maduren (1).

La abeja de miel *Apis mellifera* precede a los humanos en la tierra por 10 a 20 millones de años; es una de las más viejas formas de vida animal, la cual existe desde la época Neolítica Su nombre científico, *Apis mellifera*; literalmente significa: "la abeja que lleva la miel"(1,2).

Es originaria del sureste de Asia, probablemente de la región de Afganistán, y existen registros de que humanos primitivos recogían miel de colonias silvestres 7000 años a.C., probablemente el primer hombre en criar abejas (apicultor) lo hizo entre 3000 a 5000 años a.C. (3).

La miel es un alimento nutritivo que provee energía inmediata al organismo por la presencia de azúcares simples que se asimilan fácilmente. Al mismo tiempo posee la propiedad de inhibir el crecimiento de bacterias y favorece la recuperación en algunas afecciones y desequilibrios nutricionales (1).

Es producido por abejas melíferas a partir del néctar de las flores, de las secreciones procedentes de partes vivas de las plantas y/o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas. Las abejas recolectan estas materias azucaradas, las enriquecen con sustancias propias y las almacenan en los panales hasta su maduración (1,2).

Está compuesta mayoritariamente por azúcares, con predominancia de fructosa y glucosa, aunque contiene además en menor proporción una mezcla compleja de otros compuestos que resultan beneficiosos para el organismo, como aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, granos de polen y sustancias que confieren aroma y color (2,3).

## A. Clasificación de la miel

### 1. Miel en panal o en secciones:

Cuando se presenta en los panales naturales no desoperculados o en secciones de tales panales, de reciente construcción y sin larvas (4).

### 2. Miel virgen o miel de gota:

El producto que fluye espontáneamente de los panales al romperlos (4).

### 3. Miel Cruda:

El producto obtenido exclusivamente por centrifugación, o medios mecánicos (4).

### 4. Miel Cruda o prensada:

Es la miel de abeja que se obtiene mediante la compresión de los panales sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado (4).

### 5. Miel Gomosa:

Producto obtenido por presión en caliente (4).

### 6. Miel sobrecalentada o desenzimada:

Miel sometida a la acción de temperaturas superiores a los 70° C (4).

### 7. Miel Batida:

Obtenida por golpeo de los panales, tienen estructura cristalina que la hace fácil de untar (4).

### 8. Miel meloja:

Producto siruposo obtenido por concentración de los líquidos acuosos procedentes del lavado de los panales (4).

### 9. Miel de flores:

Miel que procede de los néctares de las flores (4).

## 10. Miel de mielada:

Miel que procede de exudaciones de las partes vivas de las plantas o presente en ellas (4).

### B. Características de la miel

#### 1. Características Sensoriales

Las características sensoriales de la miel, como el color, aroma, sabor y consistencia, se asocian con su origen geográfico y botánico (5).

El color es una característica de importancia comercial, ya que, en general, son muy apreciadas las mieles claras. Sin embargo el tiempo y la exposición a altas temperaturas la oscurecen (1).

Su olor y sabor deben ser los característicos siendo afectados, ambos, por calentamiento a altas temperaturas (1).

La consistencia de la miel puede ser líquida o cristalina; la mayoría de las mieles cristalizan con el tiempo, y la velocidad de cristalización se ve favorecida ante una mayor proporción de glucosa en su composición (5).

#### 2. Características Microbiológicas

A diferencia de la Limpieza, la Higiene se logra a través del cumplimiento de las medidas necesarias para garantizar la inocuidad y salubridad de la miel (5).

La presencia de bacterias coliformes (origen fecal) y/o abundancia de hongos y levaduras en la miel sugieren una falta general de higiene y saneamiento en la manipulación del alimento, en el proceso de extracción, envasado y/o almacenamiento (5,6).

Como producto de origen natural las mieles de *Apis mellifera*, presentan una microbiota propia, al igual que el resto de los productos alimentarios, pero con un comportamiento microbiológico característico. La microbiota se puede dividir en dos grupos, que en principio

reúnen a los microorganismos propios de las mieles y en segunda instancia a los microorganismos secundarios ocasionales o accidentales. En este orden, en la miel se encuentran bacterias del género *Bacillus*, que se presentan en estado esporulado, aunque en mieles recientes se pueden encontrar formas vegetativas. Se trata de microorganismos que no tiene acción negativa sobre la miel y no son peligrosos para la salud humana. Bajo algunas circunstancias pueden encontrarse algunos patógenos para las abejas, como *Bacillus larvae*, responsable de la Loque americana, y *Bacillus alvei*, agente relacionado con la Loque europea (6).

Se han detectado en mieles italianas microorganismos patógenos para el hombre como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e incluso *Clostridium botulinum* tipo G, identificándose a la miel como posible fuente de contaminación en casos de botulismo infantil. La legislación de este producto exige la ausencia total de microorganismos patógenos o toxinas patógenas al igual que la ausencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli*, *Salmonella-Shigella* (ausencia/25g) (6).

La alteración más frecuente que presentan las mieles durante su almacenamiento es debida al crecimiento de *mohos* y *levaduras*. Los mohos más comunes pertenecen al género *Penicillium* y *Mucor*; las levaduras son fundamentalmente del género *Saccharomyces*. La norma de calidad de la miel señala como limite máximo para la presencia de mohos el  $1.0 \times 10^2$  UFC/g. Respecto a las levaduras, la norma no se pronuncia (6).

Durante la extracción y beneficio, las fuentes de esta contaminación residen en la manipulación incorrecta de la miel, el uso de material con deficientes procedimientos de desinfección, locales no apropiados incidencia del viento, presencia de insectos y permanencia de animales de compañía. Entre estos microorganismos existen diferentes géneros, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y algunos otros patógenos de las abejas (6).

La presencia de enterobacterias en ciertos tipos de miel es indicio de una contaminación fecal originada más en las deficientes condiciones de extracción beneficio y en la propia comercialización. Este parámetro ha adquirido relevancia en el análisis de diferentes tipos de alimentos. Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, son bacterias de forma bacilar, gramnegativo, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados y móviles que fermentan los



azúcares. En este sentido y para un trabajo más amplio resulta conveniente sugerir la cuantificación de *Shigella*, *Edwardsiella*, *Hatnias*, *Proteus*, *Yersinias*, *Morganellas* y *Erwinias* entre otras, de otro lado en el caso de *Escherichia coli*, la prueba es diciente cuando se trata de adelantar pruebas para contaminaciones recientes, no obstante su baja resistencia en algunos casos podría ser un buen indicador abriendo la factibilidad de albergar cepas enterotoxigenicas, heteroinvasivas, enteropatógenas o enterohemorrágicas (1,6).

La miel de por sí no es un medio estéril, es susceptible de contaminación al manipularse sin observar las normas de higiene. Algunos estudios han demostrado que determinados géneros de *Salmonella*, son capaces de resistir 34 días en la miel, cuando ésta se mantiene a 10° C, con lo que existiría un riesgo si el producto contaminado se emplea como ingrediente en la industria alimenticia o en el hogar (1,6).

La presencia de glucosa oxidasa facilita bajo ciertas condiciones de humedad del producto resultante del proceso de envasado y comercialización, la formación de gluconolactona que se encuentra en equilibrio con el ácido glúconico, con formación de peróxido de hidrógeno. Al final la miel pierde calidad y aroma, problemas de fermentación indebida suelen ser las causas de deterioro más frecuentes (7).

Desde el punto de vista técnico se distinguen diversos tipos de apiario: los fijos, que se instalan en un lugar definitivo, generalmente protegidos por cercas y resguardos y los Apiarios migratorios, ambulatorios o trashumantes: que se utilizan para polinización a la vez que efectúan la labor de recolección del néctar. Para establecer un apiario con fines comerciales hay que tener en cuenta la calibración de las zonas, además de la naturaleza de las plantas productoras de néctar y época en que florecen, las plantas productoras de polen y época en que florecen y las condiciones climáticas como también la frecuencia, dirección y velocidad de los vientos, corrientes pueden producir enfriamiento interno de la colmena, dificultad en el vuelo normal de las abejas y reseca las flores, inhibiendo la producción del néctar, temperatura, pues las abejas necesitan una temperatura favorable para su desarrollo, Frecuencia e intensidad de las lluvias y humedad relativa que permite el desarrollo normal de las etapas dentro de la colonia (1).

Los microorganismos con capacidad de evolucionar en un ambiente tan concentrados como los azúcares presentes en una miel, se conocen como osmófilos o sacarófilos, éstos

proviene de las flores del medio ambiente de donde provienen o manipulan las mieles, del equipo utilizado en las operaciones de extracción y sobre todo de las condiciones de envasado. Las flores se enriquecen de levaduras durante la polinización y cuando están en zonas donde existen frutos en descomposición (5,7).

#### **D. Proceso de elaboración de miel**

En Guatemala, los apicultores recolectan y envasan su miel; siendo la zona de mayor producción el Departamento de El Peten, siguiéndole la franja transversal del norte, occidente, meseta central y la costa sur (8,9).

La miel es extraída de los panales por el apicultor, utilizando para ello, la fuerza centrífuga de un extractor mecánico ( 8, 9,10,).

Previamente al filtrado, la miel se calienta para los siguientes propósitos: disminuir la viscosidad, y así agilizar su paso a través del filtro; prevenir la granulación después de envasada ; y por último destruir microorganismos que pudieran provocar un ulterior proceso de fermentación con formación de dióxido de carbono, alcohol , y un fuerte aumento de la acidez (10,11).

La miel es muy sensible a altas temperaturas, pierde rápidamente sus propiedades organolépticas y desarrolla un color más oscuro. Un control de la temperatura de filtración es un parámetro clave para obtener una miel de buena calidad (11).

Se recomienda realizar la filtración a una temperatura entre 50 ° C y 60 °C, durante el menor tiempo posible para evitar que la miel pierda su color y sabor característicos ( 10, 11).

#### **E. Evaluación de la calidad de la miel de abeja**

Teniendo en cuenta que la determinación de la actividad de las enzimas de la miel está adquiriendo cada vez mayor importancia como una forma de valorar su calidad y que la diastasa es una de las enzimas cuya determinación analítica sólo se realiza en ciertos laboratorios que no siempre están al alcance de los productores, es imprescindible disponer de un método simple para aquellos que no cuentan con la implementación cómoda de un laboratorio y quieren

determinar la cantidad aproximada de diastasa, a fin de poder valorar la calidad de la miel (12,13).

En este procedimiento, el sustrato de almidón se incuba con la muestra de miel y se produce la hidrólisis enzimática la cual se determina por el agregado del reactivo yodo que produce coloración con el remanente de almidón no hidrolizado. La disminución del color que ocurre en los tubos del desconocido después de incubarlo, respecto del tubo control, es una medida de la actividad diastasa de la muestra, que se expresa en unidades de diastasa.(13)

El sustrato de almidón tamponado se incuba con la muestra y se produce la hidrólisis enzimática; esta última se determina por el agregado del reactivo yodo el cual produce coloración con el remanente del almidón no hidrolizado(13).

En el análisis microbiológico, se deben de investigar bacterias mesófilas, esporoformadoras, coliformes totales y fecales como indicadores de malas prácticas apícolas, y mohos y levaduras como microorganismos deteriorantes del producto (1).

En Guatemala se han realizado estudios acerca de la cantidad de Hidroximetilfurfural presente en mieles emvasadas listas para comercializar pero no hay registrados estudios sobre la actividad de la enzima diastasa (9).

## **F. Calidad de la miel de abeja**

Los criterios de calidad de la miel están especificados en una Directiva Europea y en los estándares del Codex Alimentarius, los cuales están actualmente en revisión. Los autores de la presente revisión son miembros de la Comisión Internacional de la Miel (IHC, International Honey Commission), la cual se formó en 1990 para revisar los métodos y los estándares de la miel de abejas. Inicialmente, esta comisión recopiló y discutió los métodos de análisis aceptados en rutinas de control de calidad de miel de abejas. Luego, condujo análisis interlaboratorio en colaboración con la comisión del Manual Suizo de Alimentos (SFM, Swiss Food Manual) (1).

Los métodos analíticos modernos permiten obtener resultados mejores y más rápidos, por ello se considera la posibilidad de integrarlos en la norma actualizada. En publicaciones recientes, se revisó extensivamente el contenido de azúcares específicos y la conductividad

eléctrica de la miel de abejas, junto con los demás métodos reconocidos para determinar la calidad de la miel (1, 4).

### **1. Contenido de humedad**

El contenido de humedad es el único criterio de composición de la miel, que debe ser cumplido como parte de los estándares de la miel de abejas para su comercialización mundial. Miel con mayores contenidos de humedad podrían fermentar. En el borrador de los nuevos estándares se sugiere un valor máximo de humedad de 21 g/100 g miel (expresado en porcentaje en masa). En los análisis de rutina para control de calidad de la miel de abejas efectuados por la IHC durante los años 1989-97 en aproximadamente 30.000 muestras de miel, 91-95% de las muestras presentaron contenidos de humedad inferiores a 20g/100 g miel (8). Los estándares suizos utilizaron un máximo de humedad de 20g/100 g miel en los pasados 20 años, hasta que debieron adoptar el máximo de 21 g/100 g miel sugerido por la UE, tal como indica la última revisión de la Ordenanza Suiza de Alimentos (1,7)

La cuantificación de los sólidos insolubles en agua permite detectar las impurezas de la miel de abejas superiores al máximo permitido. Este método se validó cuando una considerable proporción de la miel producida en todo el mundo era cosechada por prensado de los panales. Es cierto que en los tiempos actuales toda la miel de abejas comercial se extrae de los panales por centrifugación; sin embargo, este análisis mantiene su vigencia como un importante medio de control higiénico. Nos parece que el máximo de 0.1 g/ 100 g miel permitido en los estándares europeos y del Codex, es muy elevado. Valores considerablemente menores de 0.005 a 0.05 g/ 100 g miel son los reportados en la actualidad. La cera de abejas no se determina con los métodos del Codex, pero es una fuente mayoritaria de contaminación de insolubles en agua. A tal fin se podría utilizar otra técnica de filtración (e.g. con papel de filtro), lo cual aún no ha sido propuesto oficialmente (1,7).

### **2. Contenido de minerales (cenizas)**

El contenido de cenizas es un criterio de calidad para evaluar el origen botánico de la miel de abejas. Actualmente, esta determinación suele reemplazarse por la medición de conductividad eléctrica. El contenido de cenizas puede mantenerse como un factor de calidad

durante un período de transición, hasta que la conductividad sea aceptada como un estándar a nivel mundial (1,7).

### **3. Acidez**

La acidez es un importante criterio de calidad. La fermentación de la miel causa un incremento de acidez; por ello, si bien existe una considerable variación natural, resulta útil fijar un máximo de acidez como requisito. El límite máximo de acidez de 40 miliequivalentes/kg miel ha sido incrementado a 50 miliequivalentes/kg en el borrador del Codex porque existen mieles con una acidez natural más elevada (1,7)

### **4. Actividad de diastasa**

La actividad de la diastasa en miel de abejas es un factor de calidad que puede ser alterado durante el procesamiento y el almacenamiento de la miel; por ello se utiliza como indicador de sobrecalentamiento y de frescura. Si bien la actividad diastásica varía según el origen botánico de la miel, el mínimo de 8 unidades de diastasa (DN, diastase units) ha resultado útil como estándar de calidad. En análisis de rutina a largo plazo realizados por la IHC para control de calidad de miel de abejas, más de 92% de las muestras de mieles frescas (n = 20,000) y más de 88% de mieles empacadas (n = 1,000) presentaron valores DN superiores a 8 (1).

### **5. Contenido de hidroximetilfurfural**

Este factor de calidad es un indicador de la frescura del sobrecalentamiento de la miel. Es considerado un factor muy determinante porque prácticamente no hay hidroximetilfurfural (HMF) en las mieles frescas; su formación ocurre durante el almacenamiento de la miel y aumenta según las condiciones de pH y temperatura de almacenamiento. Algunas federaciones europeas (Alemania, Bélgica, Italia, Austria, España) comercializan una porción de sus mieles como miel de calidad, la cual contiene un máximo de 15 mg HMF/kg miel. El mercado internacional ha constatado que un máximo de 40 mg/kg es satisfactorio. Durante el control de rutina de la IHC durante los últimos diez años, más del 90% de las muestras de miel fresca (n = ca. 30000) y más de 85% de las muestras envasadas (n = ca. 2000) presentaron menos de 30

mg HMF/kg miel. La propuesta del Codex es fijar un máximo de 60 mg HMF/kg miel. La propuesta de un máximo más elevado responde al hecho de que el HMF aumenta más rápido durante el almacenamiento de la miel de abejas en los países tropicales cuyos climas son más calientes. La más reciente propuesta de la EU exige un máximo de 40 mg HMF/kg miel porque la validez de este estándar ha sido demostrada en condiciones europeas (1,5,7).

## 6. Calidad Microbiológica

En la Norma de Calidad para la miel destinada al mercado en Guatemala aún no ha considerado en detalle las características finales de las mieles para consumo y manejo, en España y la Unión Europea, sin embargo, se hace referencia a la Norma microbiológica aplicable a mieles, especificándose la condición máxima de  $1.10^4$  UFC/ gr para el recuento de colonias aerobias mesófilas ( $31 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y ausencia para Enterobacteriaceae total, específicamente ausencia en 25 g de miel para el caso de *Salmonella* – *Shigella*, mientras que en el caso de los mohos un máximo de  $1.10^2$  UFC/g.

Grupos de Microorganismos	Microorganismos por gramo de Miel (UFC/g) <i>Resultados analíticos</i> <i>Límite legal</i>
<i>Aerobios mesófilos</i>	$1.10^4$
<i>Enterobacteriaceae total</i>	<i>Ausencia</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Ausencia</i>
<i>Salmonella</i> – <i>Shigella</i>	<i>Ausencia/25 g</i>
<i>Mohos Levaduras totales</i>	$1.10^2$

Fuente: Norma Microbiológica Europea para el control de miel de Abeja.

## G. Toma y preparación de la muestra para el análisis microbiológico

La toma de muestra de miel envasada con presentación comercial, se llevará a cabo en forma aleatoria y no aséptica, tomándose del mismo lote y en cantidad suficiente para su análisis. Para las mieles envasadas en recipientes grandes, es preciso abrir éstos y extraer la muestra en condiciones asépticas (3).

En el caso de mieles líquidas o cristalinas, se deberá agitar o mezclar hasta conseguir Homogeneizar y después efectuar la toma de muestra en diferentes niveles con utensilios estériles. En el caso de miel de panales, extraer la miel del panal con utensilios estériles (3).

En productos a granel, tomar la muestra de varios puntos del contenedor para obtener una muestra representativa (3).

### III. JUSTIFICACIÓN

La apicultura es una actividad que produce importantes beneficios a la agricultura y el medio ambiente, por medio de la acción polinizadora de las abejas. Al mismo tiempo constituye una importante actividad económica con un atractivo potencial de exportación, convirtiéndose en alternativa de diversificación agropecuaria.

Los estándares internacionales de calidad, proponen evaluar la calidad de la miel, por medio de la medición de la actividad de la enzima diastasa. Es importante evaluar paralelamente su calidad microbiológica, detectando la presencia de microorganismos indicadores de Malas Prácticas Apícolas tales como bacterias del grupo coliformes, y microorganismos deteriorantes como mohos y levaduras, que pueden afectar la vida de anaquel de la miel.

En Guatemala existen los pequeños productores de miel, que a largo o mediano plazo buscan poder cumplir con los estándares de calidad establecidos internacionalmente para comercialización de la miel. En la Finca " El Guardabarranco" ubicada en el municipio de Pastores , Sacatepequez, se inicia la comercialización de miel polifloral de abeja, por lo tanto es de importancia poder evaluar estos parámetros para poder cumplir con los estándares de calidad para comercialización. Asimismo ; con esta investigación se pretendió aportar a la industria apícola un método rápido y accesible que permita cumplir con estos estándares.



## IV. OBJETIVOS

### A. GENERAL

Determinar la actividad de la enzima Diastasa y evaluar la calidad microbiológica de la miel procesada de la finca "El Guardabarranco", perteneciente al municipio de Pastores, Departamento de Sacatepéquez.

### B. ESPECÍFICOS

1. Cuantificar la cantidad de mohos y levaduras presentes en las muestras de miel para determinar si está entre los límites permisibles de la norma microbiológica europea para el control de miel de abeja.
2. Identificar y cuantificar coliformes totales y coliformes fecales como microorganismos indicadores de Malas Practicas Apícolas, para determinar si está entre los límites permisibles de la norma microbiológica europea para el control de miel de Abeja.
3. Determinar y cuantificar el Índice de diastasa en la miel para determinar calidad de frescura y si existe algún procedimiento de sobrecalentamiento.
4. Implementar de la prueba de índice de diastasa en miel en Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos -LAFYM- del Programa Experiencias Docentes con la Comunidad -EDC- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

## V. HIPÓTESIS

El presente estudio no presenta hipótesis por ser un estudio descriptivo no probabilístico.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo de trabajo

Estudio constituido por 28 muestras de miel, procedentes de 4 apiarios localizados en la finca " El Guardabarranco" en el municipio de Pastores , Departamento de Sacatepéquez.

1) Unidad Muestral: 50 mL de miel

### B. Materiales

#### 1. Recursos Humanos

- Br. Ana Lucia Mazariegos Molina, Investigadora
- Licda. Ana E. Rodas de García, Asesora
- Personal del Programa Experiencias Docentes con la Comunidad –EDC- de la Carrera de Química Biológica, Facultad de CC. QQ y Farmacia.

#### 2. Recursos Materiales

##### a) Económicos e Institucionales

- Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos –LAFYM- Programa Experiencias Docentes con la Comunidad. Facultad de CC. QQ y Farmacia
- Escuela de Química, Facultad de CC. QQ y Farmacia

#### 3. Equipo

- Autoclave
- Incubadora bacteriológica ( Temperatura rango  $35 \pm 0.5$  °C)
- Refrigeradora Bacteriológica(  $4^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  °C)
- Estufa
- Balanza semianalitica
- Homogenizador ( Stomacher)
- Campana Bacteriológica

- Asas bacteriológicas
- Baño de María a 37 °C
- Gradillas de metal

#### 4. Cristalería

- Tubos de ensayo
- Pipetas volumétricas
- Cajas de petri estériles de 15x 100 milímetros, plásticas o de vidrio.
- Erlenmeyers de 500 mililitros
- Erlenmeyers de 1000 mililitros
- Pipetas estériles de 1 ml con graduaciones de 0.01ml
- Pipetas estériles de 5 ml con graduaciones de 0.1ml
- Pipetas estériles de 10ml con graduaciones de 0.1ml
- Beakers de 500 ml

#### 5. Medios de Cultivo

- Agar Rojo Bilis Cristal Violeta ( VRB-MUG)
- Agua peptonada buferada
- Caldo bilis verde brillante
- Agar MacConkey
- Agar Cromocult
- Plate Count Agar
- Agar Patata Dextrosa
- Agar TSI, LIA, Citrato, Urea

#### 6. Reactivos

- Buffer de Acetato (pH 5.3)
- Acetato de sodio · 3H<sub>2</sub>O
- Acido Acético glacial
- Cloruro de sodio

- Almidón soluble
- Yoduro de Potasio
- Yodo resublimado
- Fluoruro de Sodio
- Agua desmineralizada.
- Alcohol al 70%
- Fenol al 5%
- Acido Tartárico 0.05%

## 7. Otros

- Asas de Nicromo ( en argolla y en punta)
- Marcador permanente
- Papel Parafilm
- Papel Kraft para envolver y esterilizar
- Pipetores

## C. Métodos

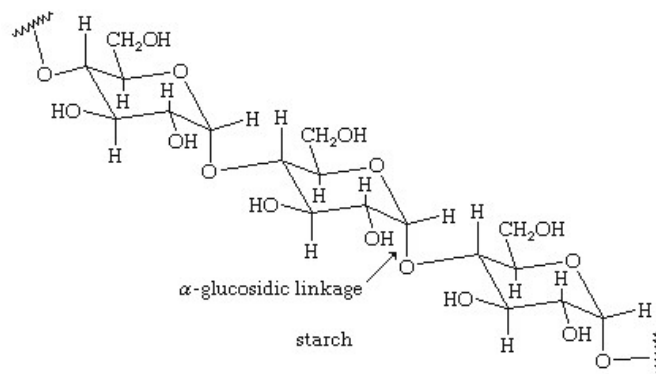
### 1. Determinación del Índice de Diastasa

#### a) Principio del método propuesto

La reacción de hidrólisis de almidón es llevada a cabo por la enzima amilasa ( Diastasa) el almidón no hidrolizado absorbe en la superficie el reactivo de yodo, produciendo una coloración morada.

El sustrato de almidón se incuba con la muestra de miel , se produce la hidrólisis enzimática del almidón , la cual se determina al añadir el reactivo de yodo, que produce coloración, con el remanente de almidón no hidrolizado. La disminución del color que ocurre en los tubos después de incubarlos, respecto del tubo control, es una medida de la actividad diastasa de la muestra, que se expresa en Unidades de diastasa (13).

Se diluirá la muestra en cloruro de sodio al 1% realizando diluciones de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512.



## 2. Análisis Microbiológico de la miel

### a) Recuento aeróbico total:

En 225 mL de agua peptonada Bufferada, se pesan 25 gr de miel, se realizan diluciones de la muestra con tubos de agua peptonada bufferada (9 mL) 1:10, 1:100, 1:1000 las cuales se inoculan en agar PCA por el método de vertido en placa, cada dilución se siembra por duplicado.

### b) Recuento de Coliformes Totales y fecales

En Agar Bilis rojo cristal violeta (VRB), se siembran por duplicado diluciones de 1:10, 1:100, 1:1000 de los tubos de 9 mL de agua peptonada buferada por el método de vertido en placa.

### c) Recuento de Mohos y Levaduras

En Agar Papa Dextrosa, se siembran por duplicado diluciones de 1:10, 1:100, 1:1000 de los tubos de 9 mL de agua peptonada buferada, por el método de vertido en placa.

### d) Cálculo y expresión de los resultados

#### i) Cajas con 25-250 UFC.

$$\text{Formula: } N = \Sigma C / [(1 * n_1) + (0.1 * n_2)] * (d)$$

N = Número de colonias por mL inoculadas

$\Sigma C$  = Suma de todas las colonias en todas las cajas contadas

$n_1$  = Número de cajas de la primera dilución contada

$n_2$  = Número de cajas de la segunda dilución contada

d = dilución de donde los primeros conteos fueron obtenidos

**ii) Cajas con menos de 25 UFC**

Se cuentan las colonias y se multiplica por la dilución menor que se sembró

$$\text{No. Colonias} \times \text{Dilución menor Sembrada (1:10)}$$

**iii) Cajas con más de 250 UFC.**

Cuando las cajas de todas las diluciones tienen más de 250 UFC, pero menor de 100/cm<sup>2</sup> reportar como un Recuento aeróbico Total estimado y multiplicar por la dilución.

**D. Diseño de la Investigación**

Muestra: por conveniencia, no probabilística.

Muestreo de 4 apiarios por un periodo 3 meses ½, realizándose cada 20 días, un total de 28 muestras.

**1. Análisis Descriptivo de :**

- a. Índice de diastasa
- b. Análisis Microbiológico (UFC/mL)
- c. Determinar si cumple o no con las especificaciones de la Norma internacional CODEX STAN 12-1981, y la Norma Microbiológica Europea para el control de miel de Abeja.

## VII. RESULTADOS

### A. Determinación de la calidad microbiológica

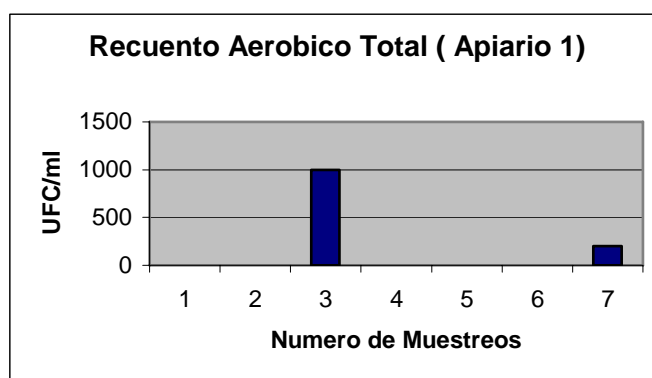
Tabla No. 1. Recuento Aeróbico Total ( UFC/mL)

( Norma: no mas de  $1.0 \times 10^4$  UFC/mL)

Muestras	Apiario 1	Apiario 2	Apiario 3	Apiario 4	Promedio
1er Muestreo	< 10	$1.0 \times 10^4$	$3.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^3$
2º Muestreo	< 10	$7.0 \times 10^2$	< 10	< 10	$7.0 \times 10^2$
3er Muestreo	$1.0 \times 10^3$	< 10	$5.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$
4º Muestreo	< 10	< 10	$1.0 \times 10^4$	$5.0 \times 10^4$	$2.0 \times 10^4$
5º Muestreo	< 10	$3.0 \times 10^2$	< 10	< 10	$3.0 \times 10^2$
6º Muestreo	<10	< 10	< 10	$3.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$
7º muestreo	$2.0 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^2$
<b>Promedio</b>	$6.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^4$	

Fuente: Datos experimentales

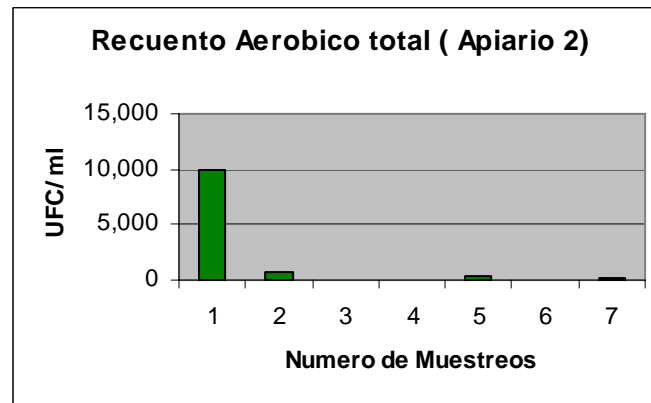
Grafica 1



En la Grafica 1, se observa el comportamiento del apiario 1 durante los 7 muestreos realizados, mostrando incrementos de Bacterias mesófilas en los muestreos 3 y 7 en comparación a los demás.

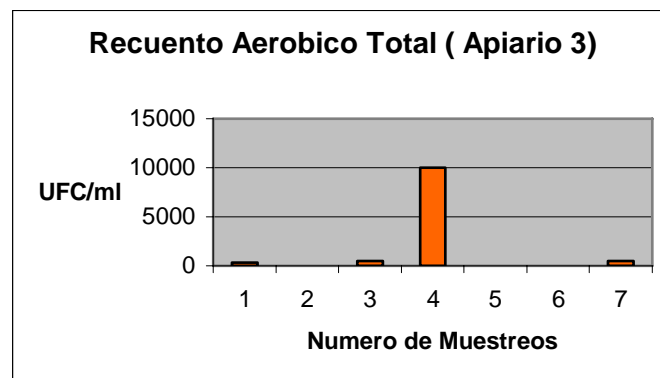


Grafica 2



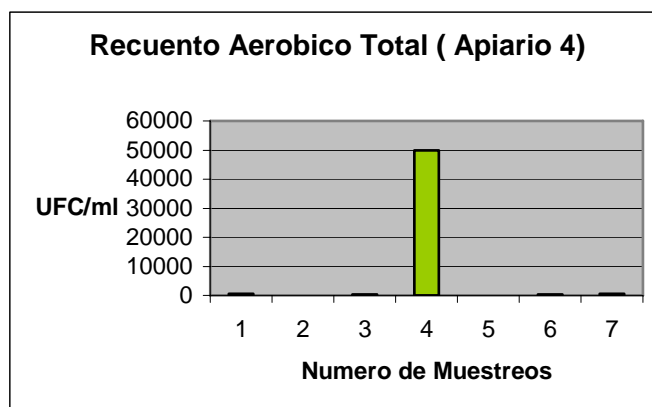
En la grafica 2 se puede observar que en el apiario 2 solamente en los muestreos No. 1 , 2, 5 y 7 presentaron bacterias mesófilas.

Grafica 3



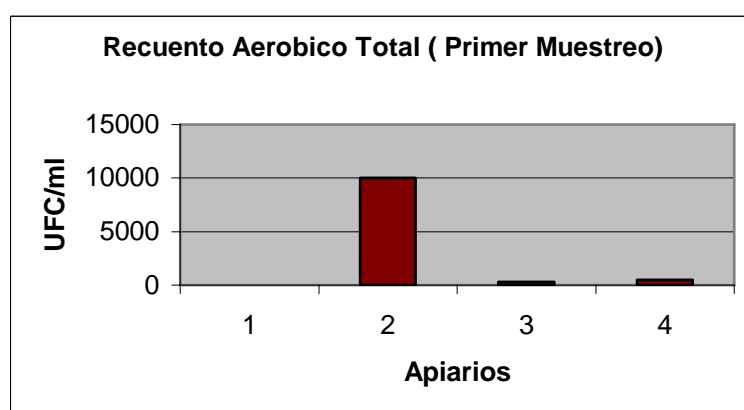
En la grafica 3 se puede observar que en el apiario 3 solamente en los muestreos No. 1 , 3, 4 y 7 se presentaron colonias bacterianas mesófilas.

Grafica 4



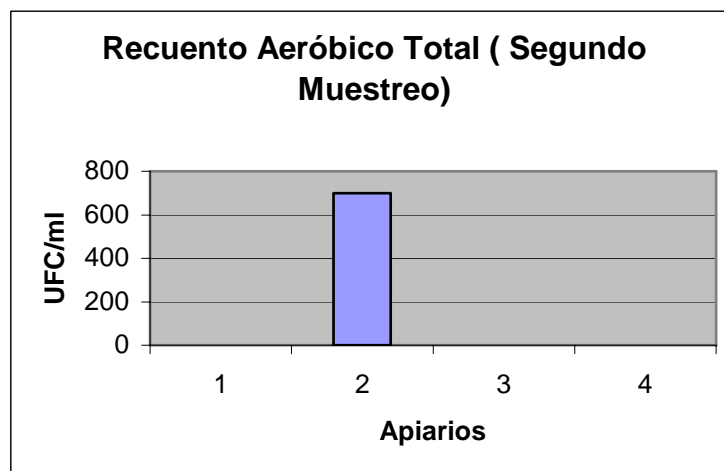
En la grafica No.4 se puede observar que en el apiario 3 solamente en los muestreos No. 1 , 3, 4 y 7 se presentaron colonias bacterianas mesofilas

Grafica 5



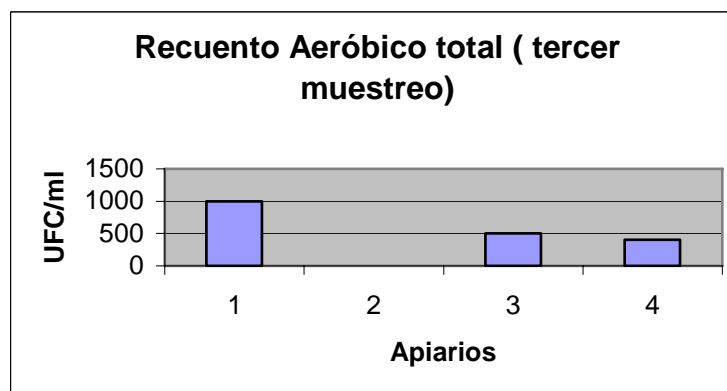
En la grafica 5 se puede observar que en el primer muestreo (Nov.2005) el apiario 2 reporto la mayor cantidad de Bacterias mesofilas.

Grafica 6



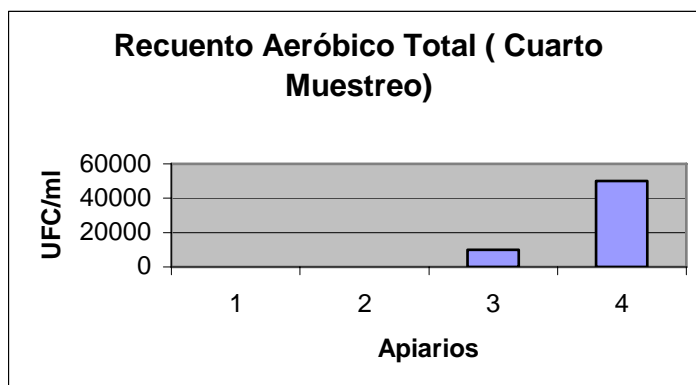
En la grafica 6 se puede observar que en el Segundo muestreo (Nov.2005) el apiario 2 reporto la mayor cantidad de Bacterias mesofilas.

Grafica 7



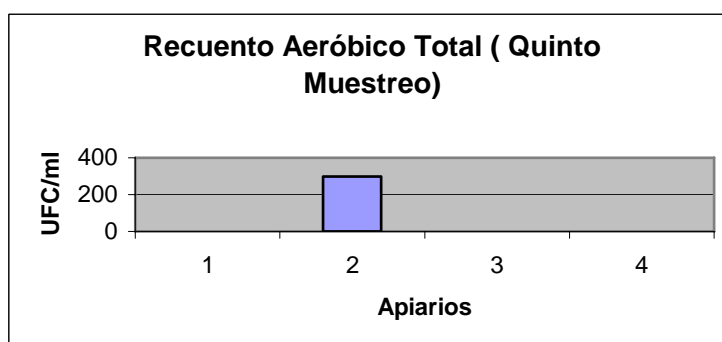
En la grafica 7 se puede observar que en el Tercer muestreo (Dic.2005) el apiario 1 reportó la mayor cantidad de Bacterias mesofilas , siguiéndole el apiario 3.

Grafica 8



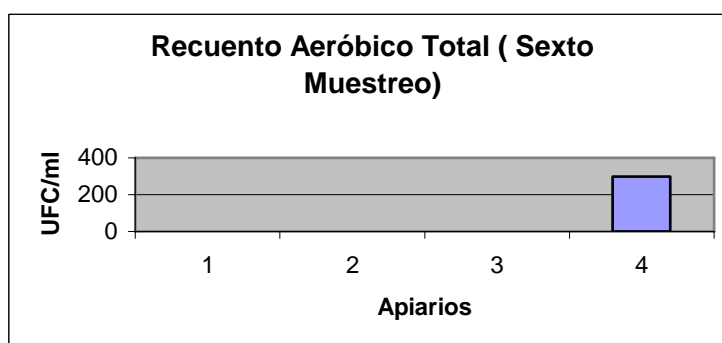
En la grafica 8 se puede observar que en el Cuarto muestreo (Dic.2005) el apiario 4 reportó la mayor cantidad de Bacterias mesofilas , siguiéndole el apiario 3.

Grafica 9



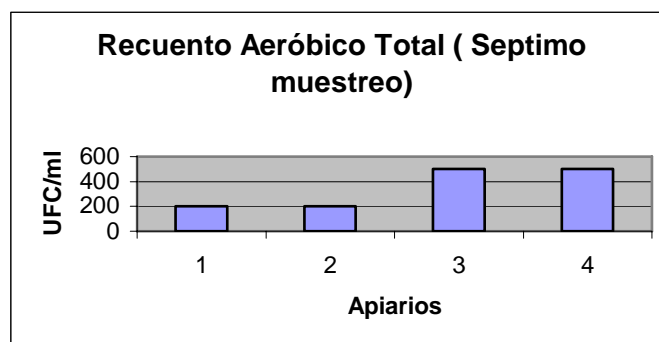
En la grafica 9 se puede observar que en el Quinto muestreo (Enero 2006) el apiario 2 reportó la mayor cantidad de Bacterias mesofilas .

Grafica 10



En la grafica No.10 se puede observar que en el Sexto muestreo (Enero 2006) el apiario 4 reportó la mayor cantidad de Bacterias mesofilas.

Grafica 11



En la grafica 11 se puede observar que en el Sexto muestreo (Febrero 2006) el apiario 4 y 3 reportaron la mayor cantidad de Bacterias mesofilas en relación al apiario 1 y 2.

**Tabla No. 2. Recuento Mohos y levaduras ( UFC/ml)**

( norma: no mas de  $6.0 \times 10^2$  UFC/mL)

Muestrros	Apiario 1	Apiario 2	Apiario 3	Apiario 4	Media X
1er Muestreo	$6.0 \times 10^2$	< 10	< 10	< 10	$6.0 \times 10^2$
2º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
3er Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
4º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
5º Muestreo	< 10	$3.0 \times 10^2$	< 10	< 10	$3.0 \times 10^2$
6º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
7º muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Media X	$6.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$	< 10	< 10	

Fuente: datos experimentales

**Tabla No.3 Recuento de Coliformes totales y fecales ( UFC/mL)**

( Norma: < 10 UFC/mL, Coliformes totales, *Escherichia coli*: Ausente)

Muestreos	Apiario 1	Apiario 2	Apiario 3	Apiario 4	Media X
1er Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
2º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
3er Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
4º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
5º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
6º Muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
7º muestreo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
<b>Media X</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt;10</b>

Fuente: datos experimentales

**Tabla No. 4 Presencia de Bacterias Anaerobias**

( Norma: Ausencia de patógenos anaerobios *Clostridium spp.*)

Muestreos	Apiario 1	Apiario 2	Apiario 3	Apiario 4
1er Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
2º Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
3er Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
4º Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
5º Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
6º Muestreo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	<b>Ausentes</b>
<b>7º muestreo</b>	<b>Ausentes</b>	<b>Ausentes</b>	<b>Ausentes</b>	<b>Ausentes</b>

Fuente: datos experimentales

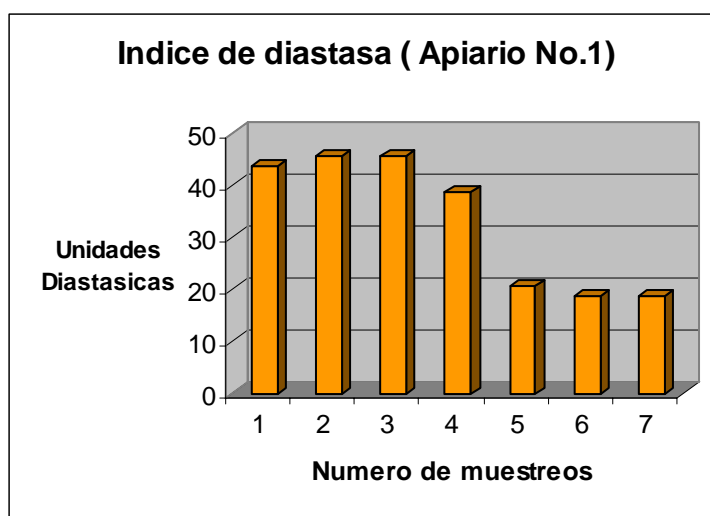
Tabla No. 5 Determinación del Índice de diastasa ( U.D/mL miel)

( Norma: mayor de 8.0 U.D según la escala Gothe)

Muestreos	Apiario 1	Apiario 2	Apiario 3	Apiario 4	Control
1er Muestreo	43.53	18.80	40.25	32.50	52.0
2º Muestreo	45.53	18.80	45.53	40.25	
3er Muestreo	45.53	35.42	45.53	45.53	
4º Muestreo	38.53	20.48	38.20	40.25	
5º Muestreo	20.48	18.80	20.48	38.50	
6º Muestreo	18.80	12.11	18.80	30.20	
<b>7º muestreo</b>	<b>18.80</b>	<b>12.11</b>	<b>18.80</b>	<b>18.80</b>	

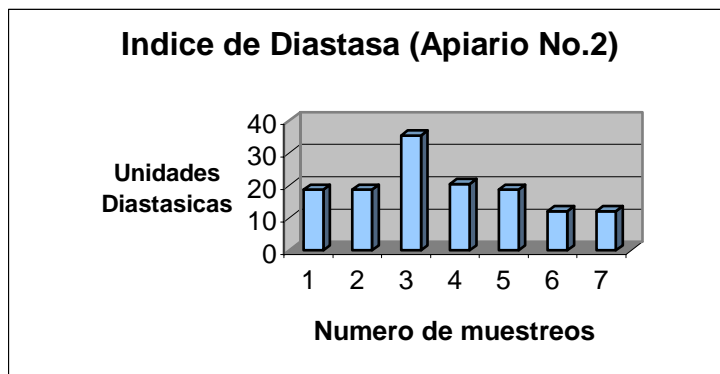
Fuente: datos experimentales

Grafica 12



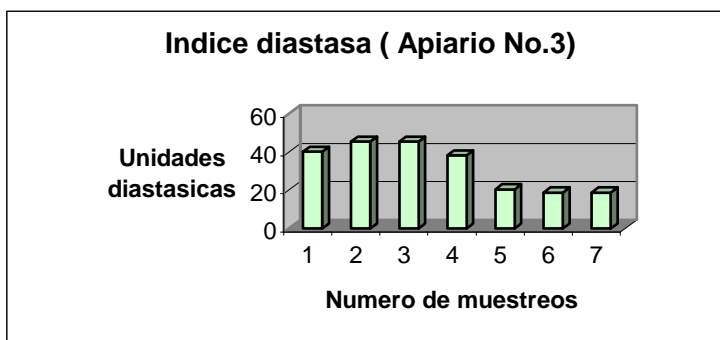
En la grafica 12 se puede observar que el índice de diastasa , expresado en Unidades diastásicas, el apiario 1 , los siete muestreos se mantuvieron arriba del valor de referencia. (> 8 U.D)

Grafica 13



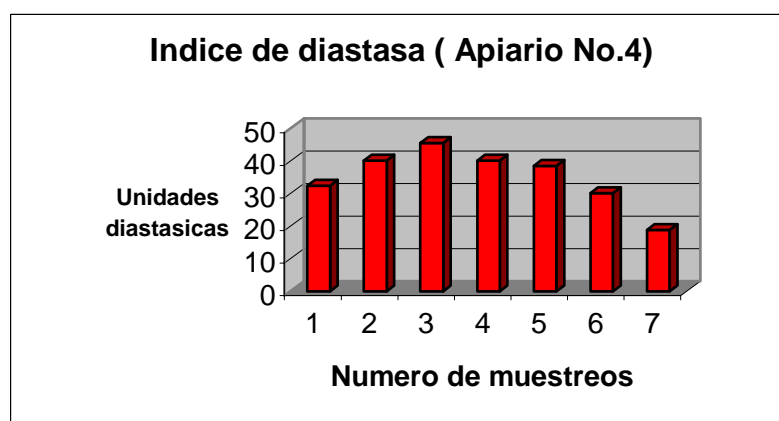
En la grafica 13 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastásicas, el apiario 2 , los siete muestreos se mantuvieron arriba del valor de referencia. ( $> 8$  U.D)

Grafica 14



En la grafica 14 se puede observar el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el apiario 3 , los siete muestreos se mantuvieron arriba del valor de referencia. ( $> 8$  U.D)

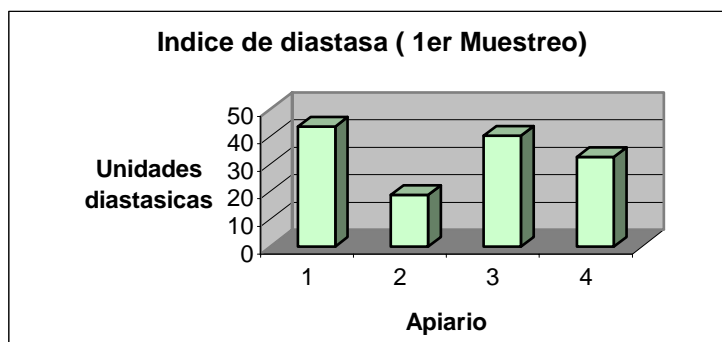
Grafica 15



En la grafica 15 se puede observar el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el apiario 4 , los siete muestreos se mantuvieron arriba del valor de referencia. ( $> 8$  U.D)

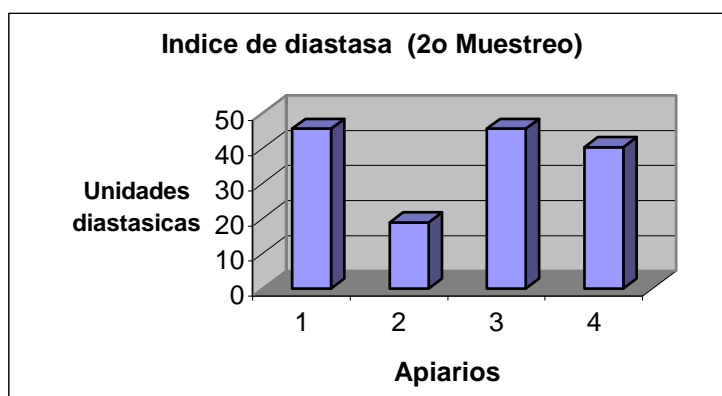
Grafica 16





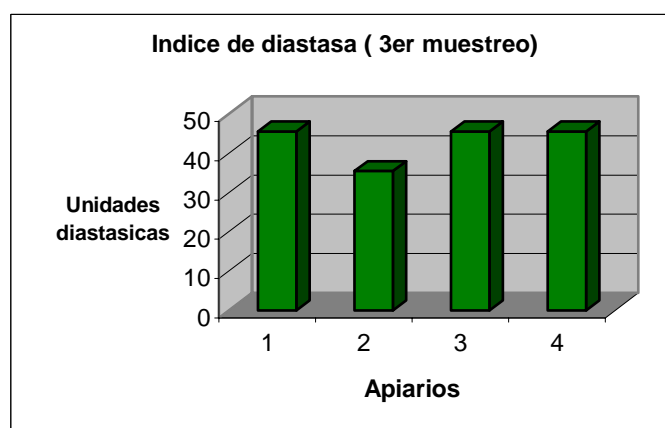
En la grafica 16 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el primer muestreo , los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia ( $> 8$  UD)

Grafica 17



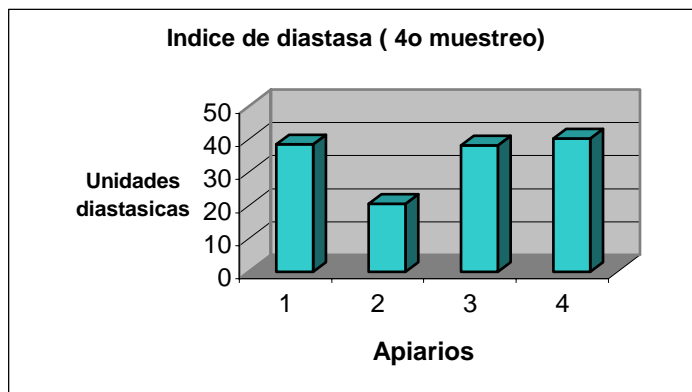
En la grafica 17 se puede observar el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el segundo muestreo, los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia ( $> 8$  UD)

Grafica 18



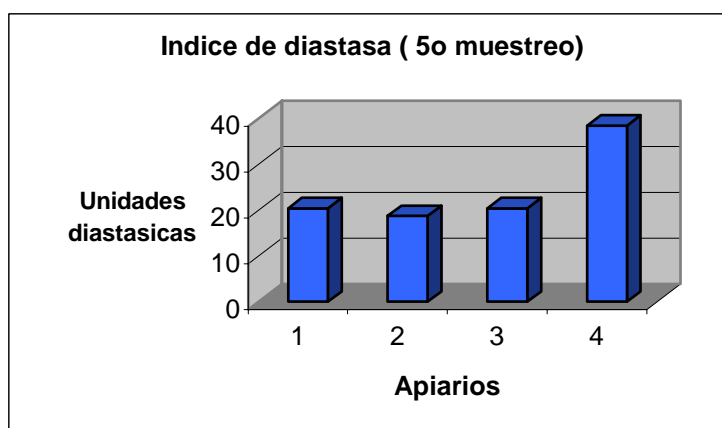
En la grafica 18 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el tercer muestreo, los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia ( $> 8$  UD)

Grafica 19



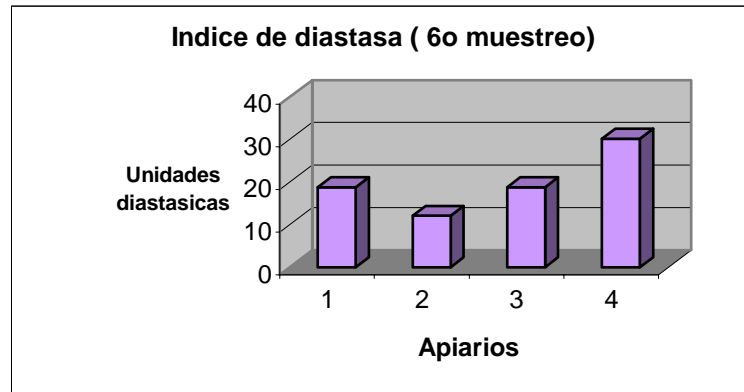
En la grafica 19 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el cuarto muestreo , los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia ( $> 8$  UD)

Grafica 20



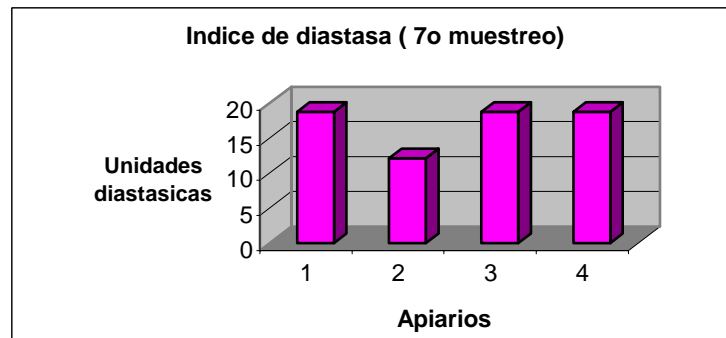
En la grafica 20 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el quinto muestreo, los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia ( $> 8$  UD)

Grafica 21



En la grafica 21 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el sexto muestreo , los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia (> 8 UD)

Grafica 22



En la grafica 22 se puede observar que el índice de diastasa, expresado en unidades diastasicas, en el séptimo y último muestreo , los 4 apiarios se mantuvieron arriba del valor de referencia (> 8 UD)

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, referidos a varios ensayos que se realizaron para determinar la calidad de la miel de abeja producida en la finca "El Guardabarranco" en Sacatepequez, se observó que 28 muestras analizadas, tomadas en intervalos de 18 a 20 días de diferencia, durante los meses de noviembre 2005 a febrero del 2006 cumplen con los parámetros establecidos por las normas internacionales para la calidad de la miel de abeja (Codex Alimentarius Commission. CAC/RS 12-1969. Norma Regional Europea para Miel. Roma: Programa Conjunto FAO/OMS; 1969).

En la tabla 1 se muestran los resultados del análisis de bacterias mesófilas por el método de recuento en placa, de acuerdo a la norma microbiológica europea para el control de miel de Abeja, los apiarios 1, 2, y 3 cumplen con la norma en todos los muestreos realizados, excepto el apiario 4 que en el cuarto muestreo presentó valores elevados respecto a lo establecido por la norma regional europea.

En la tabla 2 se muestran los resultados del análisis de mohos y levaduras, de acuerdo a la norma microbiológica europea, todos los apiarios cumplen con esta norma, en todos los muestreos realizados, excepto el apiario 1 en el primer muestreo, pudiéndose deber a algún tipo de contaminación cruzada a la hora de la toma de la muestra. El recuento de mohos y levaduras, nos indica la vida de anaquel de la miel.

En la tabla 3 se muestran los resultados del análisis de identificación de bacterias anaerobias, Este análisis es importante para descartar la presencia de bacterias anaerobias patógenas como *Clostridium spp*, microorganismo asociado a miel de abeja. Los resultados muestran una ausencia de total de bacterias anaerobias.

La tabla 4 se muestran los resultados del análisis de bacterias coliformes totales y fecales, según la norma microbiológica europea, no debe de existir presencia alguna de estos microorganismos, en los cuatro apiarios no se encontraron bacterias coliformes totales ni

fecales, Este resultado puede deberse a la alta concentración de glucosa que está presente en la miel, y que inhibe el desarrollo de estas bacterias.

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos para la determinación del índice de diastasa en las 28 muestras analizadas, según la norma propuesta por el Codex Alimentarius, el índice de diastasa no debe de ser menor de 8 unidades diastasicas ( U.D)( 1).

En la grafica No. 1 se puede observar que el apiario 1 presento valores de bacterias mesófilas dentro de los rangos establecidos por la norma CODEX STAN 12-1981, habiendo un leve incremento en el tercer y séptimo muestreo; la grafica No. 2 el apiario 2 también presenta valores de bacterias mesófilas dentro del rango establecido, pero se observa que en comparación de los demás muestreos en ese apiario, el primer muestreo tuvo mayor contaminación, pudiéndose deber a contaminación externa. En la grafica No.3 se observa que en los muestreos del apiario 3 hubo presencia de bacterias mesófilas, el cuarto muestreo tuvo una mayor cantidad de bacterias mesófilas. En la grafica No. 4 el apiario 4 en el cuarto muestreo fue el que mas presento colonias mesófilas, al igual que en el apiario 3, esto pudo deberse a que entre el apiario 3 y 4 solo existen 2 metros de distancia , lo cual hace muy posible que la contaminación sea en el proceso de producción de miel realizado por las abejas.

En la grafica No. 5 se puede observar la concentración de la enzima diastasa, expresada como índice de diastasa, en los siete muestreos de los 4 apiarios. Los 4 apiarios contienen concentraciones de diastasa aceptables por la norma CODEX STAN 12-1981, solamente el apiario 2 presenta una disminución de la concentración en comparación a los otros 3 apiarios, esto debido a que el apiario 2 se encuentra a aproximadamente 250 metros de separación con los otros 3 apiarios, lo cual hace diferente la flora presente alrededor para la obtención del néctar para elaboración de miel.

Se realizó el recuento de mohos y levaduras, coliformes totales y fecales y la determinación de la presencia de bacterias anaerobias, estos análisis no reflejaron contaminación alguna por este tipo de microorganismos en los 7 muestreo realizados de los 4 apiarios.

Es importante considerar que en los países tropicales, como Guatemala, las temperaturas medias ambientales son significativamente mayores que en los países de clima templado. La recolección, manejo y almacenamiento de la miel, puede verse afectada por estos factores climáticos de la región, en algunas ocasiones, los recipientes en los que se recoge la miel se dejan mucho tiempo expuestos al sol, pudiendo sufrir un calentamiento excesivo alterando así su calidad y frescura; En la finca El Guardabarranco, se recolecta la miel asépticamente en recipientes de vidrio y son almacenadas a temperatura ambiente por lo cual no se refleja una contaminación significativa.

En cuanto a la comercialización de la miel de abeja deben de tomarse en cuenta los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que indican las normas internacionales, así como fortalecer los procesos de producción bajo las normas de higiene propuestas por la comisión internacional de miel de abeja.

## IX. CONCLUSIONES

1. El 100% de las muestras analizadas de miel de abeja, se encuentran dentro de los límites de calidad establecidos por la norma regional europea, por lo tanto la miel producida en la finca "El Guardabarranco" cumple con la calidad requerida para su comercialización.
2. La ausencia de microorganismos indicadores como bacterias coliformes totales y fecales, indican Buenas Practicas Apícolas, en la finca " El Guardabarranco".
3. El índice de diastasa indicó el grado de frescura de la miel , y este parámetro indica que no hay adulteración en el procesamiento de la miel.

## X. RECOMENDACIONES

1. Debido a que la miel de abeja es un producto 100% natural, con propiedades nutricionales y medicinales reconocidas, es recomendable que tanto los productores como las autoridades gubernamentales, dispongan de algún sistema de control de calidad, para garantizar al consumidor, la inalterabilidad en la calidad de este producto.
2. Es necesario seguir analizando en la miel de abeja parámetros como Índice de Diastasa, Hidroximetil furfural, ya que son sustancias indicadoras que determinan si hay alteración en el proceso de elaboración.
3. Realizar la prueba de Índice de diastasa , para evaluar la calidad y frescura de la miel de abeja, en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos –LAFYM- que esta establecida en los Procedimientos Estándares de Operación en el Área de análisis físicoquímico de alimentos.



## XI. REFERENCIAS

1. Codex Alimentarius, Norma del CODEX para la Miel CODEX STAN 12-1981, Rev. (1987), Rev. 2 (Alinorm 01/25, 2001)
2. MAURIZIO, A. *From the raw material to the finished product.* Honey , Bee World. 1962; 43:66-80.
3. ERICKSON, H. *Atlas of the honey bee.*, EEUU Iowa State Univerity. 1966.
4. Norma centroamericana para la calidad de la miel. ( COGUANOR )- ICAITI 34099 h8/34097:91 1975.
5. Guía de Aplicación de Buenas Prácticas Apícolas y de Manufactura de Miel. Recomendaciones. SENASA, Argentina. Disponible en: [www.alimentosargentinos.gov.ar](http://www.alimentosargentinos.gov.ar). Fecha de consulta: 25 Octubre 2005.
6. Frias, I., y Hardisson, A. 1991; *Estudio comparativo entre mieles comerciales y artesanales de Santacruz de Tenerife.* Rev. Alimentación, Equipos y Tecnología. Noviembre. Disponible en : <http://www.monografias.com> Fecha de Consulta: 31 Octubre 2005.
7. Estupiñan, S.; Sanjuán, E., y Millán R. 1993. *Agua y actividad de agua en mieles artesanas. Determinación y significado.* Boletín informativo de la Asociación de Apicultores de Gran Canaria. Disponible en: <http://www.apicultura.com> Fecha de Consulta: 02 Noviembre 2005.
8. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Programa de Diversificación Agrícola y Comercialización. Estudio de la Factibilidad del Centro de Comercialización Apícola del Sur Occidente, Zanjon, San Lorenzo, Ayutla, San Marcos . Guatemala: Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, 1993. 97p. ( p. 47-79)

9. León MC. Evaluación de la calidad de miel de Abejas sin marca comercial, que se expende en la ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos ( tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1982. 42p.
10. Root AI. The ABC AND XYZ of the bee culture. Ohio: A.I. Root Company, 1978. 390 p. ( p. 17-30, 205-256).
11. Johnson AH, Peterson MS. Enciclopedia of food Technology. Connecticut: The Avi Publishing. Vols. 2, col.1, 1975. 879 p. (p. 100-110).
12. Paredes O., Efectos de la temperatura y tiempos en la calidad de la miel de abeja. Rev. Tecnología de Alimentos, 2 (89) 1983.
13. Bianchi, Eduardo M. Determinación de diastasa en la miel — Santiago del Estero : U.N. de Santiago del Estero, 1993 . p. 16
14. Revista MAGA-ACTUAL 2003.  
[http://www.maga.gob.gt/maga\\_content/magactual/2005septoct/miel.html](http://www.maga.gob.gt/maga_content/magactual/2005septoct/miel.html)  
Fecha de Consulta: 20 Marzo 2006.
15. Ramírez M.A. González E. "Efecto del tratamiento térmico temporal de la miel sobre la variación de su calidad durante el almacenamiento" *Instituto Tecnológico de Mérida, División de Estudios de Postgrado e Investigación. México.2006. Disponible en :[essauri@labna.itmerida.mx](mailto:essauri@labna.itmerida.mx)*  
Fecha de Consulta Julio 2006.
16. Codex Alimentarius Commission. CAC/RS 12-1969. Norma Regional Europea para Miel. Roma: Programa Conjunto FAO/OMS; 1969.

Br. Ana Lucia Mazariegos Molina

Tesista

Vo.Bo. Licda. Ana E. Rodas de García

Asesora

Vo.Bo. Lic. Martin Gil

Revisor

Vo.Bo. Licda. Alba Marina Valdes de García

Revisora

Vo.Bo. MSc. Vivian Matta

Directora Escuela de Química Biológica

Vo.Bo. Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Decano